

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المركز الجامعي عبد الحق بن حمودة - جيجل -
معهد علوم الطبيعة

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement et de la recherche scientifique
Centre universitaire de Jijel
Institut des sciences de la nature

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme
d'études supérieures en biologie moléculaire et cellulaire

Option : Microbiologie

THÈME

L'antibiorésistance des
bactéries isolées des diarrhées
infantiles dans la région de
Jijel

Jury composé de :

- HAMAMES Nouredine : Président
- BAHRI Fethia : Encadreur
- LAHOUEL Mesbah : Examineur

Présenté par

- BAOUTA Fatima
- ROUBAH Soraya
- TIBOUCHE Nassima

Promotion 2001

Remerciements

On remercie toute personne qui a contribué de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions :

- A notre encadreur M^{me} Fathia BAHRI pour son aide et ses encouragements.
- A tous les personnels du laboratoire d'hygiène de la ville de Jijel surtout M^r Zabayou Kamel et M^{me} Houda pour leur assistance pendant la durée de notre travail.
- Au D^r Boualem Ykhelfoune pour son aide et ses conseils efficaces.
- Au membre de jury.
- A tous les enseignants de la Biologie.
- A M^r Richane Sofiane pour son aide et ses encouragements durant la réalisation de ce mémoire.

L'Antibiorésistance des bactéries isolées des diarrhées infantiles dans la région de Jijel

I-	Introduction.....	1
II-	Données bibliographique	
	1- Diarrhée infantiles	
	1.1- Définition des diarrhées infantiles.....	2
	1.2- Principaux agents pathogènes des diarrhées infantiles.....	3
	1.2.1- Bactéries.....	3
	1.2.1.1- Escherichia Coli.....	3
	1.2.1.2- Salmonella.....	4
	1.2.1.3- Shigella.....	4
	1.2.1.4- Campylobacter jejuni.....	5
	1.2.1.5- Vibrio cholerae.....	6
	1.2.2- Autres Bactéries enthéropathogènes.....	6
	1.2.2.1- Yersinia enterocolitica.....	6
	1.2.2.2- Clostridium difficile.....	7
	1.2.2.3- Staphylococcus aureus.....	7
	1.2.3- Virus.....	8
	1.2.4 Parasites.....	8
	2- L'antibiothérapie.....	10
	2.1- Définition d'un médicament antibactérien.....	10
	2.2- Traitement antibactérien des diarrhées infantiles.....	10
	2.3- Classification des antibactériens utilisés dans les diarrhées infantiles.....	11
	2.4- Mode d'action des antibactériens utilisés dans les diarrhées infantiles.....	12
	3- Résistance des bactéries aux antibiotiques.....	14
	3.1- Généralités.....	14
	3.2- Mécanismes de la résistance aux antibiotiques.....	14
	3.2.1- Mécanismes génétiques de la résistance.....	15
	3.2.2- Mécanisme biochimiques de la résistance.....	19
	3.3- Etude de la résistance des antibactériens utilisée dans le traitement des diarrhées infantiles.	19
	3.3.1- La résistance aux Aminopénicilline.....	19
	3.3.1.1- La résistance enzymatique : les β .Lactamine.....	20
	3.3.1.2- La résistance non enzymatique.....	20
	3.3.2- La résistance aux Macrolides.....	21
	3.3.3- La Résistance aux tétracyclines.....	21
	3.3.4- La résistance aux Fluoroquinolones.....	22
	3.3.5- La résistance aux Vancomycines.....	22
	3.4- Evolution de la résistance des bactéries aux antibiotiques.....	22
	3.5- Diagnostic bactériologique an cas de diarrhée infantile.....	25
	3.5.1- La coproculture.....	25
	3.5.2- Technique de la coproculture.....	25
III-	Matériel et méthodes.	
	1- matériel et méthode.....	32
	1.1- Matériel.....	32
	1.1.1- Milieu et réactif.....	32
	1.1.2- Antibiotiques testés(disques).....	33

1.2-	Méthode.....	33
1.2.1-	Isolement d'agent bactérien.....	33
1.2.2-	Identification d'espèce bactérienne.....	33
1.2.3-	Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	34
IV-	Résultats	
1-	Répartition des coprocultures selon l'origine d'infection.....	36
2-	Les différentes bactéries isolées des diarrhées infantiles.....	38
3-	Profil de résistance des souches d'E.coli aux antibiotiques.....	42
4-	Profil de résistance de citrobacter sp.....	47
5-	Profil de résistance des souches d'Enterobacter agglomérans.....	49
6-	Les autres germes.....	54
V-	Discussion.....	58
VI-	Conclusion.....	59
VII-	Bibliographie et annexe .	

Introduction

Dans beaucoup de pays, les maladies diarrhéiques sont une cause importante de morbidité et de mortalité chez les enfants [23].

En 1988, l'OMS (organisation mondiale de santé) a procédé à une analyse des données prévenant d'enquêtes et d'autres sources dont il ressort que plus de 1,3 milliards d'épisodes de diarrhée surviennent chaque année chez les enfants de moins de 5 ans en Asie(Chine non comprise), en Afrique et en Amérique latine et que 4 millions d'enfants de ce groupe d'ages meurent chaque année de diarrhée, 80% de ces décès survenant chez des moins de 2 ans[22].

En Algérie, 1027 enfants de moins de 5 ans meurent en 1998, et en 1999 le nombre est augmenté à 1374 [20].

L'Antibiothérapie a sauvé un très grand nombre de vies d'enfants atteint de diarrhée d'origine bactérienne, mais l'apparition et l'extension rapide des phénomènes de résistance aux antibiotiques a diminué le bénéfice de cette antibiothérapie ; par l'utilisation abusive et répondeuse des antibiotiques et leur emploi inadéquat ce qui cause une évolution très marquée de l'antibiorésistance. Cette situation nous amené à réaliser un simple travail qui a pour titre « L'Antibiorésistance des bactéries isolées des diarrhées infantiles dans la région de Jijel », ayant pour objectif :

- Evaluation des techniques d'études de la sensibilité aux antibiotiques.
- Estimation de taux d'antibiorésistances des bactéries isolées des diarrhées infantiles.
- Proposer quelques recommandations pour éviter l'émergence de nouvelles souches résistantes.

II

Données

bibliographiques

1-Diarrhée infantile

1.1-Définition des diarrhées infantiles

- La diarrhée est un des symptômes les plus fréquemment rencontrés en pédiatrie, on peut la définir comme l'émission des selles liquides ou aqueuses, au moins trois fois en 24 heures [1].
- La diarrhée peut être aiguë, durant quelques heures ou quelques jours, ou être persistante, durant deux semaines ou plus, parfois des mois [22].
- La diarrhée peut aussi être sanglante, c'est le cas de dysenterie [22].
- Elle peut être due :
 - À une erreur de régime.
 - À une prise de médicaments.
 - À une affection générale.
 - À une infection digestive, virale ou bactérienne ou liée à un champignon.
- En théorie, huit germes sont responsables des diarrhées bactériennes chez l'enfant, et qui sont [24]:
 - Escherichia coli.
 - Salmonella.
 - Shigella.
 - Campylobacter jejuni.
 - Vibrio cholerae.
 - Yersinia enterocolitica.
 - Clostridium difficile.
 - Staphylococcus aureus.

1.2- Principaux agents pathogènes des diarrhées infantiles

1.2.1-Bactéries

1.2.1.1- Escherichia coli : E.coli

- E.coli est un germe naturellement commensale de l'intestin qui apparaît dans les premières heures après la naissance de l'enfant [4].
- C'est une entérobactérie, qui représente les caractères suivants : (voir le tableau I)

Tableau I : Principaux caractères d'E.coli [15]

Caractère Bactérie	Indole	Utilisation de citrate	H ₂ S	Uréase	Fermentation de glucose avec gaz	Mobilité
E.coli	+	-	-	-	+	+

(+) : généralement présent

(-) : généralement absent

- Les souches d'E.coli responsable de diarrhée sont :
 - a- Les souches "Entero-Pathogenic E.coli" (E.P.E.C)**
 - Elles étaient responsables, dans les années 50, de diarrhées infantiles graves ou toxiques survenant par épidémies dans les crèches ou des maternités.
 - Ces souches encore appelées E.coli G.E.I, (de gastro-entérites-infantiles) sont plus rarement rencontrées aujourd'hui [4].
 - b- Les souches "Entero-Toxigenic E.coli" (E.T.E.C)**
 - Elles sont responsables de diarrhées très liquides survenant dans les pays en développement, Elles sont souvent épidémiques chez les enfants de ces pays [4].
 - c- Les souches "Entero-invasive E.coli" (E.I.E.C)**
 - Elles sont isolées de syndromes dysentériques tant chez l'adulte que chez l'enfant [4].
 - d- Les souches "Entero-Hemorrhagic-colitis.E.coli" (E.H.E.C)**
 - Ces souches ont été décrites en Amérique du Nord où elles ont été responsables d'épidémies de diarrhée aqueuse puis hémorragique [4].

1.2.1.2- *Salmonella*

- Dans les pays en développement, elles sont mises en cause dans 10% des diarrhées infantiles [6].
- *Salmonella* est le germe le plus important de la famille des enterobactériaceae [19].
- Et le tableau suivant représente quelques caractères de cette bactérie.

Tableau II : Principaux caractères du germe *Salmonella* [15]

Caractère Bactérie	Indole	Utilisation de citrate	H ₂ S	Uréase	Fermentation de glucose avec gaz	Mobilité
<i>Salmonella</i>	-	+	+	-	+	+

(+) : présent

(-) : absent

- Actuellement la classification du germe *Salmonella* est basée sur le Sérotype ou Sérovars (Antigène : O, H, Vi). On incrimine essentiellement : *Salmonella thyphimurium*, *Salmonella wien*, *Salmonella infantis* [4].
- Les gastro-entérites à *Salmonella* peuvent se présenter comme une diarrhée aqueuse importante avec douleurs abdominales, nausées et fièvres [4].
- Les *Salmonella* peuvent également déterminer une diarrhée glairo-sanglante et purulente souvent sévère avec fièvre et vomissements [19].

1.2.1.3- *Shigella*

- Les diarrhées à *Shigella* sont après les *Salmonella*, les plus fréquentes aux Etats Unis, elles envahissent surtout l'épithélium colique mais pénètrent rarement dans la circulation [6].
- Les serogroupes les plus fréquents sont : *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Shigella dysenterie* et *Shigella boydii*.
- Comme toute les entérobactéries, *Shigella* fermentent le glucose, mais ne produisent pas de gaz à l'exception de certaines espèces de : *Shigella flexneri* et *Shigella boydii* après une incubation de 48 à 72 heures, et le tableau suivant représente quelques caractères de *Shigella* [19].

Tableau III : Principaux caractères du germe *Shigella* [15]

Caractère Bactérie	Indole	Utilisation de citrate	H ₂ S	Uréase	Fermentation de glucose avec gaz	Mobilité
<i>Shigella</i>	d	-	-	-	-	d

(-) : absent

(d) : variation de caractère selon l'espèce

- Les enfants présentent un syndrome dysentérique avec les selles peu volumineuses mais contenant des glaires et du sang accompagné de douleurs abdominales avec ténésme, la fièvre est fréquente, dans 15 à 30% des cas on observe des convulsions, la diarrhée dans certains cas est aqueuse [18]

1.2.1.4- Campylobacter jejuni

- Les données concernant la fréquence des infections à Campylobacter sont surtout abondantes dans les pays industrialisés [19].
- En Amérique du Nord, les entérites à Campylobacter jejuni représentent une cause bactérienne de maladie diarrhéique [19].
- Campylobacter jejuni cause d'entérites qui sont plus fréquentes chez l'enfant vivant dans des conditions d'hygiène précaire.
- Les Campylobacter sont des Bacilles à Gram négatif, légèrement spiralée ou incurvée caractérisé par un flagelle polaire, microaerophile ou anaérobie, pas de spores, capsule facultative, il est toujours parasite [4].
- Et le tableau suivant présente quelques caractères de Campylobacter jejuni

Tableau IV : Principaux caractères de Campylobacter jejuni [15]

Caractère Bactérie	Glucides	Gélatine	Oxydase	Uréase	VP
<u>Campylobacter jejuni</u>	-	-	+	-	-

(+) : présent

(-) : absent

VP : Voges-Proskauer

- L'incubation de ce germe est de 1 à 3 jours ; survient une diarrhée fébrile avec parfois du sang dans les selles [4].

1.2.1.5- Vibrio cholerae

- C'est un Bacille fin et incurvé, mobile par ciliature polaire, aérobic facultatif ou préférentiel [19].
- Le tableau ci-dessous rassemble quelques caractères de ce germe.

Tableau V : Principaux caractères du Vibrio cholerae [24]

Caractère Bactérie	L'utilisation de citrate	Oxydase	Mannitol	Saccharose
<u>Vibrio cholerae</u>	+	+	+	+

(+) : présent

- Le choléra est une maladie endémo-épidémique, qui touche rarement le nourrisson ; elle se caractérise par une diarrhée aqueuse importante, très riche à des grains riziformes [4].

1.2.2- Autres bactéries entéropathogènes

1.2.2.1- Yersinia enterocolitica

- Yersinia enterocolitica c'est un germe mis en cause de plus en plus fréquemment en pathologie humaine [4].
- C'est un germe à Gram négatif et qui présente les caractères des entérobactériaceae (voir tableau VI).

Tableau VI : Principaux caractères du Yersinia enterocolitica[15]

Caractère Bactérie	saccharose	Mannitol	Uréase	Citrate	Mobilité
<u>Yersinia enterocolitica</u>	+	+	+	-	-

(+) : présent

(-) : absent

- Yersinia enterocolitica provoque des gastro-entérites graves ou sévères essentiellement chez les enfants avec 50% des cas avant deux ans [4].

1.2.2.2- Clostridium difficile

- Clostridium difficile est un Bacille à gram positif anaérobie strict [19].
- C'est l'agent étiologique des colites pseudo-membraneuses (CPM). Malgré sa présence dans la flore intestinale ; les enfants de moins de 2 ans ; ne présentent jamais de CPM [4].
- Le tableau suivant montre quelques caractères du Clostridium difficile

Tableau VII : Principaux caractères de Clostridium difficile [15]

Caractère Bactérie	saccharose	Mannitol	Indole	Uréase	Mobilité
<u>Clostridium difficile</u>	-	+	-	-	d

(+) : présent

(-) : absent

(d) : variable selon les types et les souches.

- Il est également responsable de nombreux cas de diarrhées ; sa pathologie est due à la production et à l'action de deux toxines dans le côlon : une enterotoxine (Toxine A) ; et une cytotoxine (Toxine B) [4].
- Pour des raisons inconnues, ces toxines n'ont aucun effet sur la muqueuse colique des jeunes enfants [4].

1.2.2.3- Staphylococcus aureus

- Le nouveau né est rapidement colonisé par : Staphylococcus aureus après l'accouchement et plus tard, l'enfant peut être contaminé au sein d'une collectivité[4].
- Ce germe est aérobie anaérobie facultatif.
- Le tableau ci-dessous rassemble quelques caractères de ce germe.

Tableau VIII : Principaux caractères de Staphylococcus aureus[15]

Caractère Bactérie	Uréase	Maltose	Lactose	Mannitol	Saccharose
<u>Staphylococcus aureus</u>	+	+	+	+	+

(+) : présent

- Il est surtout à l'origine des toxi-infections alimentaires ; elles sont dues à l'ingestion d'enterotoxines préformées dans les aliments résistant aux sucs digestifs et pour certaines à la chaleur, entraînant des troubles d'apparition précoce avec vomissements, diarrhée, déshydratation et absence de fièvre [4]
- Certaines bactéries plus ou moins saprophytes de l'intestin ; c'est à dire y vivant habituellement sans créer une diarrhée aiguë [4]
- Les germes les plus souvent retrouvés sont :
 - Des Gram positif : staphylocoques, entérocoques.
 - Des Gram négatif : proteus, Klebsiella, enterobacter, citrobacter [29].

1.2.3- Virus

- Les diarrhées virales sont les plus fréquentes puisque 80% des diarrhées aiguës du nourrisson sont dues à des virus [29].
- Ces virus sont très difficiles à mettre en évidence, surtout en pratique quotidienne, car il faut faire intervenir des techniques de microscopie électronique ou d'immunologie complexe et coûteuse pour un résultat tardif qui de toutes façons ne modifiera pas le traitement [29].
- On les recherche donc uniquement dans un contexte d'étude épidémiologique ou de recherche scientifique fondamentale. La moitié de ces diarrhées seraient due à des rotavirus. On trouve aussi des enterovirus, des adénoverus, des parvovirus, des corona virus [29].

1.2.4- Parasites

- Les parasites sont beaucoup plus rarement, que les bactéries ou les virus, à l'origine de diarrhée aiguë et qui sont :

- *Entamoeba histolytica* : peut entraîner une dysenterie gravissime mais la plupart des infections sont asymptomatiques dues à des souches non pathogènes [6].
- *Giardia lamblia* : la plupart des infestations sont asymptomatiques mais on peut observer des épisodes de diarrhée aiguë avec douleurs abdominales [6].
- *Cryptosporidium* : est un nouveau parasite qui a été récemment incriminé dans les diarrhées aiguës [6].

Tableau IX : Principaux agents pathogènes des diarrhées infantiles [2]

Diarrhée bactérienne	Diarrhée virale	Diarrhée parasitaire
<u>Escherichia coli</u>	Rotavirus	<u>Entamoeba histolytica</u>
<u>Shigella</u>	Coronavirus	<u>Giardia intestinalis</u>
<u>Salmonella</u>	Adénovirus	<u>Cryptosporidium</u>
<u>Campylobacter</u>		
<u>Clostridium difficile</u>		
<u>Staphylococcus aureus</u>		
<u>Vibrio cholerae</u>		
<u>Yersinia enterocolitica</u>		

2- L'antibiothérapie

2.1- Définition d'un médicament antibactérien

- Un antibiotique est une "substance chimique naturelle produite par un microorganisme qui à faible concentration a le pouvoir d'inhiber la croissance ou de détruire certaines bactéries ou d'autres microorganismes " [16].
- Cette définition implique une origine strictement naturelle des antibiotiques : la majorité des antibiotiques sont en effet produits par des moisissures (champignons inférieurs). Elle exclue donc les composés artificiels, de synthèse (Sulfamide, introfurannes) que l'on regroupe en général sous le terme d'antibactériens de synthèse (ou antibactériens ou anti-infectieux) ; néanmoins si au départ tous les antibiotiques sont des substances naturelles, de nombreux « dérivés de semi-synthèse » ont été obtenus par modification des composés initiaux (par exemple : pénicilline G [16].
- D'après cette définition, l'action antibiotique peut :
 - Soit inhiber la croissance, la multiplication des bactéries, on parle d'effet : Bactériostatique.
 - Soit détruire celles-ci (bactérie) on parle d'effet Bactéricide.

2.2- Traitement antibactérien des diarrhées infantiles

- Le traitement anti-infectieux n'est indiqué que dans certaines diarrhées infectieuses de cause bactérienne avec ou sans production de toxine [3].
- L'antibiothérapie a trois objectifs :
 - Diminuer l'intensité et la durée de la diarrhée (s'il s'agit d'une diarrhée entérotoxique cholériforme).
 - Réduire les risques de diffusion bactérienne extra-intestinale (salmonelloses, Shigelloses).
 - Limiter la contagiosité des selles (choléra, Salmonelloses, Shigelloses, infections à E.coli ou à Clostridium difficile) [3].
- L'antibiothérapie est rarement indiquée dans les infections entérales et cela pour plusieurs raisons :
 - De nombreuses diarrhées aiguës sont d'origine virale.

- Dans les diarrhées entérotoxigènes, ~~la souche~~ est rapidement éliminé et c'est la toxine qui pérennise la fuite hydroélectrolytique.
- Des études ont montré que dans les Salmonelloses mineures une antibiothérapie pouvait prolonger le portage de germe sans raccourcir la durée de la diarrhée [6].

Les principales indications d'antibactériens sont : résumés dans le tableau X.

Tableau X : Principales indications du traitement antibiotique dans les diarrhées de cause bactérienne chez l'enfant [3]

Germe causal	Antibiotique	Alternative
<u>Salmonella</u> <u>Shigella</u>	Fluoroquinolone	Aminopénicilline ou cotrimoxazole
<u>Campylobacter jejuni</u>	Macrolide	Fluoroquinolone
<u>Yersinia enterocolitica</u>	Tétracycline	Cotrimoxazole ou fluoroquinolone
<u>E.coli</u> : <u>Entérotoxigène</u> <u>entéropathogène</u> <u>entero-invasif</u>	Tétracycline	Cotrimoxazole ou fluoroquinolone ou aminopénicilline
<u>Clostridium difficile</u>	Vancomycine	Métronidazole
<u>Vibrio cholerae</u>	Tétracycline	Cotrimoxazole

2.3- Classification des antibactériens utilisés dans les diarrhées infantiles

- Les agents antibactériens peuvent être classés selon leur structure chimique, leur site et leur mode d'action sur les bactéries : (voir tableau XI).

Tableau XI : Classification des agents antibactériens utilisés dans les diarrhées infantiles selon leurs mode d'action, et leurs site sur les bactéries [24]

Famille d'antibactérien		Site d'action	Mode d'action
Macrolides	Erythromycine Lincomycine Spiramycine Pristinamycine virginiamycine	Fraction 50S	Bactériostatiques
Cyclines	Tétracycline	ARN/Ribosome	Bactériostatiques
B-lactamine	Pénicillines Pénicilline Ampicilline Amoxicilline	Paroi	Bactéricides
	Cephalosporines Oxacilline Cefalotine Cefaloridine Cefazoline cefatoxine		
Quinolones	Acide Nalidixique Rifloxacin	ADN	
Divers	Vancomycine	Paroi	

2.4- Mode d'action des antibactériens utilisés dans les diarrhées infantiles

- L'activité bactérienne des divers antibiotiques est en relation avec leur mécanisme d'action sur les bactéries [13].
- La figure (I) : présente les quatre types d'action des antibiotiques sur les bactéries qui sont :
 - **Action sur la synthèse de la paroi**
 - Les B-Lactamines (pénicillines et cephalosporines) inhibent la synthèse de la paroi (sont capables de se lier à plusieurs enzymes actifs dans la synthèse de peptidoglycane de la paroi)[13].
 - La Vancomycine bloque le transport des substrats vers leur site d'insertion dans la paroi[13].

- Action sur la synthèse des acides nucléiques

- Certaines antibiotiques (acide nalidixique) se fixant sur la molécule d'ADN à plusieurs stades de la transcription de code génétique[13].
- Les Novobiocines agissent sur la transcription du message génétique[13].

- Action sur la synthèse des protéines

- Les macrolides et les chloramphénicol agissent au niveau de la fraction 50S du ribosome et bloquent l'élongation de la chaîne protéique au cours de la synthèse[9].

- Action au niveau de la membrane cytoplasmique

- En se fixant sur la membrane de la bactérie, l'antibiotique modifie l'équilibre osmotique (se fixe entre les deux feuilletts de la membrane et permettent la fuite du contenu cellulaire). Et donc modification de la perméabilité de la membrane bactérienne[13].

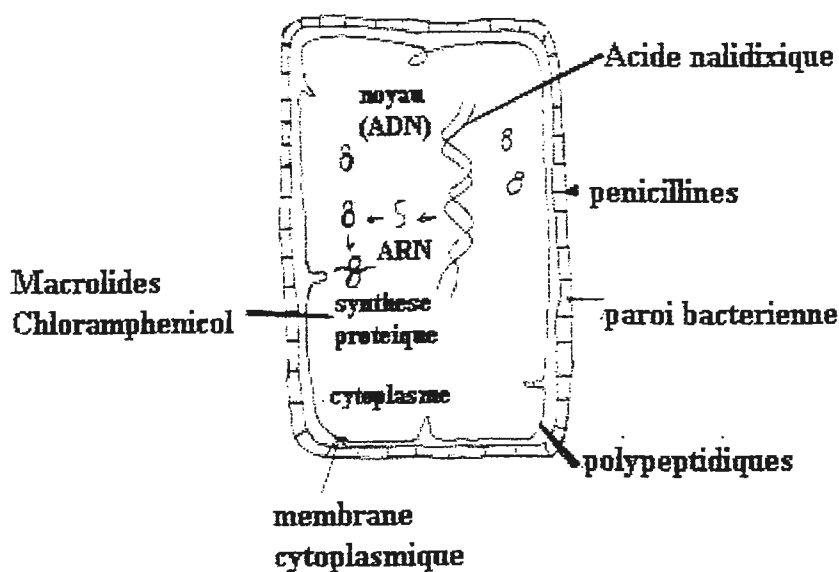


Figure I : Schéma d'une bactérie et sites d'action des antibiotiques utilisés dans les diarrhées infantiles[16].

3- La résistance des bactéries aux antibiotiques

3.1- Généralité

- L'apparition de résistance suite à l'utilisation d'une molécule antimicrobienne a été observée depuis longtemps chez les cellules eucaryotes puisque vers 1902-1904, une étude sur des souris infectées par des trypanosomes, traitées par des colorants des dérivés triphénylméthanes ou autre, a permis de montrer l'émergence de souches résistantes à ces divers agents [9].
- Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné, quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce [9].
- Il existe deux types de résistance aux antibiotiques :
 - *La résistance naturelle* : qui est une propriété intrinsèque préexistant chez le germe, c'est ce qui intervient lorsque la cible de l'antibiotique n'existe pas chez le germe [10].
 - *La résistance acquise* : elle n'affecte au départ qu'une seule souche, la modification de la souche provient :
 - D'une mutation ou d'une série de mutations chromosomiques (10% des cas) [9].
 - D'un échange de matériel génétique par des plasmides ou des transposons (90% des cas) [13].
- De façon générale, le transfert s'effectue plutôt par la conjugaison pour les bactéries à paroi Gram négatif, et plutôt par la transformation pour les bactéries à paroi Gram positif (Staphylocoques) [19].

3.2- Mécanisme de la résistance aux antibactériens isolés

dans les diarrhées infantiles :

- Les bactéries s'avèrent d'une adaptabilité et d'une débrouillardise remarquables dans leur capacité de résister à une vaste gamme d'antimicrobiens, il se peut que divers mécanismes de résistance aient été évalués selon deux mécanismes [29] :

3.2.1- Mécanisme génétique de la résistance

- D'un point de vue génétique, la résistance aux antimicrobiens est encodée génétiquement, soit de manière stable dans le chromosome bactérien, soit sur des unités chromosomiques supplémentaires et mobiles (plasmide ou transposon) capable de se déplacer d'un type de bactérie à l'autre [25].

3.2.1.1- Résistance par mutation chromosomique

- La mutation chromosomique entraîne la modification des structures cellulaires préexistantes qui rend soit la bactérie indifférente à un ou plusieurs antibiotiques par diminution de la perméabilité ou du transport, soit les cibles intracellulaires de ces antibiotiques insensibles à la présence du ou des antibiotiques [18].
- Les mutations chromosomiques sont caractérisées par :
 - 1- Un événement rare : la fréquence habituelle des bactéries résistantes dans une population bactérienne est de l'ordre de 10^{-7} à 10^{-8} [13].
 - 2- La résistance ainsi acquise est stable, transmissible héréditairement à la descendance [13].
 - 3- Spontanées : elles préexistent à l'utilisation de l'antibiotique [13].
 - 4- Spécifiques : elles n'intéressent qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques à la fois [13].
- La résistance par mutation chromosomique n'explique sans doute que 10 à 20% des souches résistantes [13].

3.2.1.2- Résistance par plasmide et transposon

- Résistance par plasmide

- Les plasmides sont des molécules d'ADN bicaténaire circulaire, extrachromosomiques, dotées de réplication autonome et qui sont transmises de façon stable au cours des générations [18].

Les plasmides les plus étudiés et les plus importants en pathologie infectieuse humaine, sont ceux qui confèrent la résistance aux antibiotiques (plasmide R ou facteur R) [18].
- Les plasmides R peuvent conférer la résistance à un ou plusieurs antibiotiques appartenant à des familles différentes [18].

- Lorsque les plasmides différents coexistent chez la même bactérie, la conjugaison de ces deux phénomènes ajoutée à la résistance intrinsèque de l'hôte peut le rendre résistant à tout les antibiotiques [18].
- Depuis leur découverte au Japon en 1959, il est bien établi que les plasmides R sont responsables de la grande majorité des résistances observées chez les bactéries pathogènes isolées en clinique [18].
- Le transfert d'un plasmide d'une bactérie donatrice à une autre bactérie réceptrice peut se faire par :
 - conjugaison.
 - Transduction.
 - Transformation.
 - **Conjugaison** : c'est un mécanisme important par lequel l'ADN peut être transféré entre une cellule donneur génétique (dite abusivement mâle) à une cellule receveur génétique (dite femelle ou cellule réceptrice) au cours d'un contact nécessaire [18].
 - **Transduction** : dans ce cas, le transfert du plasmide qu'il soit conjugatif ou non, s'effectue par l'intermédiaire d'un bactériophage, le phage incorpore alors dans sa " tête" ,à la place de son propre ADN, une quantité à peu près équivalente d'ADN plasmidique [18].
 - **Transformation** : phénomène peut être défini comme une modification génétique résultante de la pénétration d'une molécule d'ADN dans une bactérie [19].
- Le tableau suivant présente les principales différence entre la résistance chromosomique et la résistance plasmidique.

**Tableau XII : Résistance chromosomique par mutation
et résistance plasmidique : principales différences [18].**

Résistance chromosomique	Résistance plasmidique
<p>- Modification de gènes préexistants codant pour les constituants physiologiques de la bactérie. Exemple : porines ribosomes.</p> <p>- Se transmet aux cellules filles uniquement</p> <p>- En général, la résistance ne concerne qu'un antibiotique ou qu'une classe d'antibiotique (sauf effet pléiotrope lié, par exemple, à l'altération d'une porine).</p> <p>- Bactéries le plus souvent "malades", qui ne persistent que sous la pression de sélection exercée par les antibiotiques.</p>	<p>- Apport de gènes supplémentaires, codant pour des facteurs spécifiques de résistance. Exemple : enzymes inactivant les antibiotiques.</p> <p>- Se transmet aux cellules filles mais peut également se transmettre (en général par conjugaison) à d'autres bactéries de même espèce, voire d'espèces différentes.</p> <p>- En général, résistance multiple car présence de plusieurs gènes de résistance sur le même plasmide.</p> <p>- Bactéries physiologiquement normales, qui persistent longtemps après l'arrêt des antibiotiques.</p>

- Résistance par transposon

- Les éléments transposables sont des pièces mobiles de l'ADN qui peuvent se déplacer à l'intérieur d'une molécule d'ADN ou entre deux molécules d'ADN à une faible fréquence, par exemple la fréquence de transposition d'un élément génétique transposable est généralement faible, autour de 10^{-3} à 10^{-4} par génération bactérienne chez E.coli, à 37 °C [21].
- Les transposons, véhiculant des gènes de résistance aux antibiotiques, peuvent être structurellement et fonctionnellement divisés en trois catégories, qui sont :

- Les transposons appartenant à la famille Tn_3

- Les transposons appartenant à la famille Tn_3 n'ont pas des séquences d'insertion (SI) mais permettent la transposition par un mécanisme qui implique la duplication de l'élément de façon à ce qu'une copie reste sur le site original et la nouvelle copie soit insérée à un autre site [21].

- Les transposons composites

- Constitués d'une région centrale contenant les gènes supplémentaires situés entre deux copies d'un élément de séquence d'insertion, des exemples sont le Tn₁₀ qui porte les gènes de résistance aux tétracycline [21].

- Les transposons conjugatifs

- Les transposons conjugatifs sont des éléments génétiques mobiles capables de promouvoir leur transfert, de bactérie à bactérie, par un mécanisme apparenté à la conjugaison. Ces éléments ont été initialement détectés dans les genres de certaines bactéries où ils confèrent la résistance à une ou plusieurs familles d'antibiotiques. Des structures analogues existeraient chez Clostridium difficile [21].

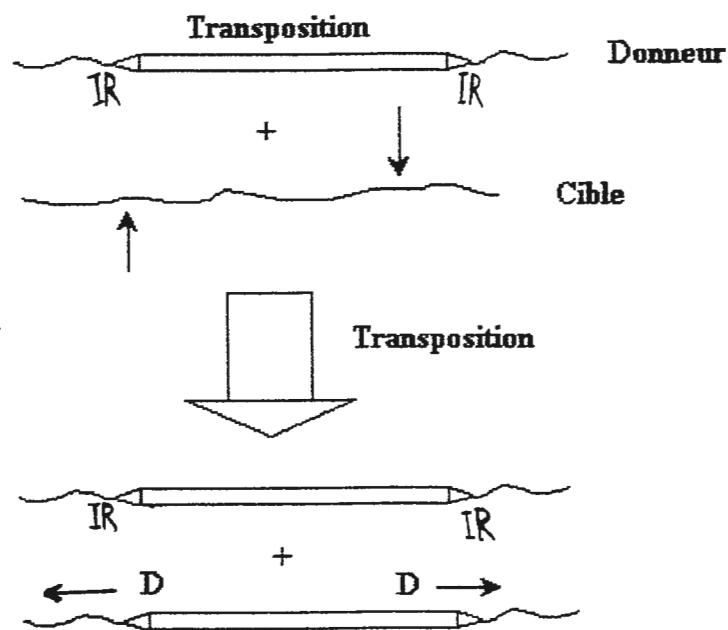


Figure 2 : Schéma de la transposition

- Les flèches verticales représentent les coupures décalées effectuées sur les deux brins de l'ADN cible.

IR : Séquence inversée répétée terminale.

D : Duplication de l'ADN cible au site d'insertion du transposon.

3.2.2- Mécanisme biochimique de la résistance

- Il existe trois mécanismes biochimiques de la résistance :

3.2.2.1- Les enzymes inactivant les antibiotiques

- Ces enzymes produites par les bactéries inactivent l'antibiotique en le modifiant ou en l'hydrolysant [25].
- Leurs substrats sont les bêtalactamines, le Chloramphénicol ou les antibiotiques de la famille des Marcolides-lincosamides-streptogramines [25].

3.2.2.2- Résistance par imperméabilité

- L'imperméabilité des bactéries, qui concerne uniquement les bactéries à Gram négatif peut être due [9]:
 - A une diminution quantitative de un ou plusieurs types de porines, cas qui est le plus fréquent.
 - A une modification de la structure d'une des porines essentielles ou du lipopolysaccharide (LPS), ces différentes altérations, sont consécutives à une mutation dans le génome bactérien, et elles affectent assez souvent le passage d'autres antibiotiques.

3.2.2.3- Résistance liée à une modification de la cible

- Il arrive aussi que la cible se soit modifiée, l'antibiotique ne peut alors plus la reconnaître et s'y fixer, par exemple, dans la résistance aux macrolides, la modification de la cible et due à une altération spécifique de ribosome bactérien, une méthylase est responsable de la diméthylation d'une adénine de l'ARN 23S de la sous unité ribosomale 50S ; chez Escherichia coli [25].
- Cette adénine est située dans une région très conservée de l'ARN ribosomal. Cette zone pourrait participer directement à la liaison avec la peptidyl-transférase [9].
- Cette altération réduit l'affinité entre les macrolides et le ribosome [9].

3.3- Etude de la résistance des bactéries aux antibiotiques utilisés dans le traitement des diarrhées infantiles

3.3.1- Résistance aux Aminopénicillines

- Les Aminopénicillines sont actives sur certaines Enterobactéries telle que : Escherichia coli, Shigella sp, Salmonella sp, cependant de nombreuses souches, d'Enterobactéries (30% des E.coli) sont devenues résistantes par [5] :

- *Résistance enzymatique : les β -lactamase : (Bêta - lactamase) .*

Ce type de résistance fait appel à un grand groupe d'enzyme, appelées β -lactamases, c'est le principal facteur de résistance bactérienne à l'égard des β -lactamines [9].

Les β -lactamases sont des enzymes qui hydrolysent le noyau β -lactame.

La réaction générale est la formation d'un intermédiaire enzymatique acylé, l'ouverture du noyau lactame induit l'inactivation de la molécule [9].

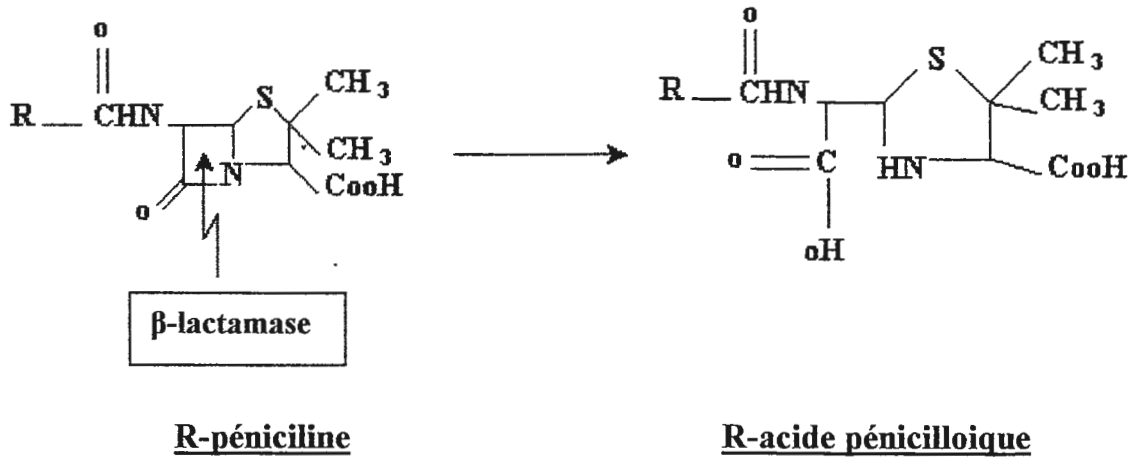


Figure 3 : Hydrolyse des pénicillines par les β -lactamases [9]

- La figure 3 ,représente l'inactivation d'une pénicilline avec formation d'un acide pénicilloïque qui n'a aucune activité antibactérienne [9].
- Les bactéries Gram négatif produisent de nombreux types de bêtalactamases qui restent localisées dans l'espace périplasmique [9].
- Elles sont codées soit sur le chromosome soit sur des plasmides [9].
- Il existe 22 types actuellement connus de bêtalactamases codés par des plasmides, et des centaines de types codés par le chromosome [9].

- *Résistance non enzymatique*

- *Modification de la perméabilité*

- Ce mode de résistance n'affecte que les bactéries à Gram négatif.
- Chez ces bactéries, la membrane externe constitue une barrière de diffusion extrêmement efficace.

- L'antibiotique ne peut traverser cette barrière qu'en empruntant des structures particulières, les porines. C'est la configuration des porines qui explique que les β -lactamines n'ont pas les mêmes propriétés de diffusion à travers cette membrane [18].
- Leur diffusion à travers les porines est d'autant plus facile qu'elles sont de petite taille, chargées de manière neutre et très hydrophiles [18].
- Toute modification des porines rend le passage des molécules non hydrophobes telles que les β -lactamines plus difficile [18].
- L'absence de passage ou l'augmentation du temps de passage des β -lactamines protège la bactérie et la rend résistante [9].
- De plus, la modification des porines peut induire des résistances communes avec des antibiotiques empruntant le même passage à travers la membrane externe [9].

3.3.2- Résistance aux Macrolides

- Le spectre d'activité des Macrolides ne comprend pas les Bacilles à Gram négatif sauf : Campylobacter sp [19].
- La grande majorité des bactéries Gram négatif ont une résistance naturelle aux Macrolides [9].
- La résistance de bactérie telles que les Entérobactéries ; s'explique par la relative imperméabilité des enveloppes à ces antibiotiques hydrophobes[7].
- Le mécanisme de la résistance acquise des bactéries à ces antibiotiques est dû surtout à une modification de la cible, consistant en une méthylation de l'ARN ribosomal 23S, celle-ci est responsable d'une réduction de l'affinité des antibiotiques pour le ribosome [14].

3.3.3- Résistance aux Tétracyclines

- La résistance naturelle est limitée à Proteus mirabilis au sein des Entérobactéries. La résistance acquise a été observée dès l'utilisation des Tétracyclines, au Japon en 1950 [18].
- L'apparition de la résistance plasmidique a été observée chez de nombreuses espèces bactériennes, aussi bien à Gram positif qu'à Gram négatif : Entérobactéries (Yersinia enterocolitica), Staphylococcus aureus, Vibrio cholerae, Campylobacter.

- Le principal mécanisme de résistance ne repose pas sur l'inactivation enzymatique (habituelle dans la résistance plasmidique aux β -lactamines) mais sur l'insuffisance de concentration intracellulaire d'antibiotique [9].
- Le système actif de transport et en balance avec un système excréteur responsable de la résistance (Protéine TET). La résistance est surtout liée à une excrétion excessive d'antibiotique à travers la membrane cytoplasmique [9].

3.3.4- Résistance aux quinolones

- Les Quinolones, et notamment les Fluoroquinolones, sont rapidement bactéricides sur les souches sensibles [9].
- La résistance des bactéries aux Fluoroquinolones est due, dans la grande majorité des cas, à une modification de l'ADN gyrase [19].
- Plus rarement, elle résulte d'une diminution de la perméabilité de la membrane externe et dans cette éventualité, la pénétration d'antibiotiques appartenant à d'autres familles est également perturbée [19].
- Ces deux mécanismes de résistance sont la conséquence de mutation de gènes chromosomiques [19].

3.3.5- Résistance aux Vancomycine (glycopeptides)

- Les bactéries à Gram négatif sont naturellement résistantes aux glycopeptides [9].
- Par ailleurs, il existe quelques résistances naturelles non élucidées chez des bactéries à Gram positif [9].
- Les résistances acquises sont très rares et le sont par mutation, leur mécanisme reste mal connu [9].

3.4- Evolution de la résistance des bactéries aux antibiotiques

- L'évolution des résistances bactériennes aux antibiotiques est envisagée successivement selon trois groupes de bactéries [19] :
 - Les Entérobactéries.
 - Staphylococcus aureus.
 - Autres bactéries.

- Les Enterobactéries

- Les Entérobactéries résistent aux nombreux antibiotiques de façon naturelle, à certaines pénicillines (pénicilline G), aux macrolides, et à la vancomycine [19].
- La plupart de ces bactéries ont été capable de développer très vite une résistance acquise, le plus souvent de nature plasmidique, vis à vis des antibiotiques dits à large spectre [19].
- L'évolution de la résistance pour l'ensemble de cette famille est tracée par la figure3.
- Elle montre une grande stabilité de la résistance à la plupart des antibiotiques à l'exception de quelques poussées passagères pour certains d'entre eux [19].
- Ainsi, la résistance à la Carbenicilline se situe, depuis de nombreuses années, aux alentours de 40%, et la résistance à la Gentamicine entre 10% et 30% depuis le 1971 [19].
- Ainsi que la résistance d'Ampicilline et la Tétracyclines est entre 40% et 60% durant plusieurs années [19].

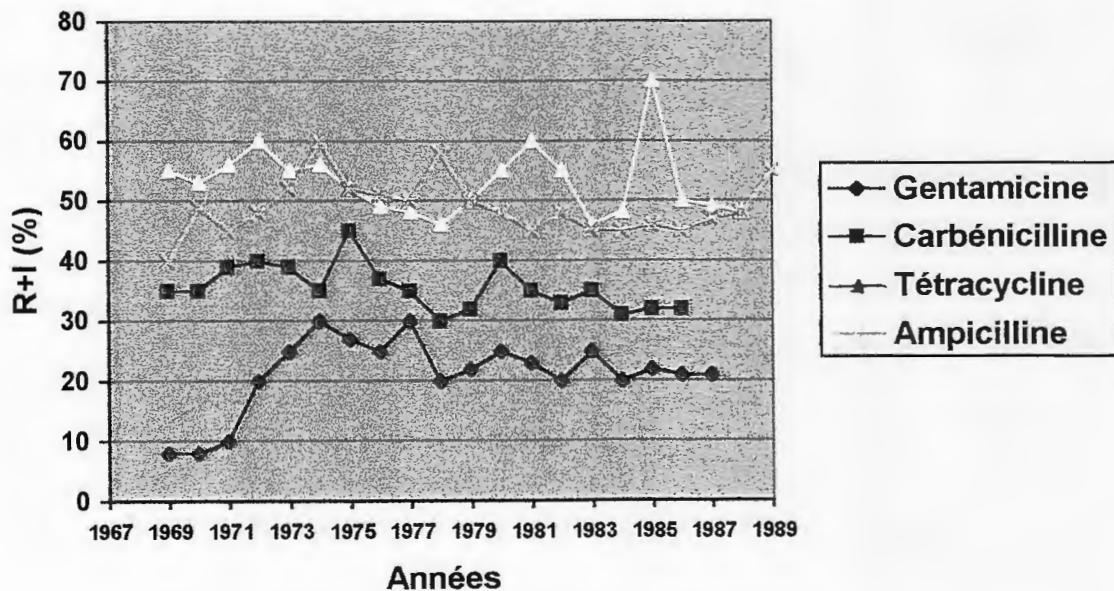


Figure 4 : Evolution de la résistance des enterobactéries [19]

(R+I : résistantes + intermédiaires)

- Staphylococcus aureus

- Dans les années 1950, Staphylococcus aureus est devenu le principal agent de l'infection notamment hospitalière [14].
- Alors que pendant les deux premières années d'utilisation de la Pénicilline G, les souches résistantes étaient rarement isolées, dès que l'usage de cet antibiotique s'est généralisé on a vu se multiplier les souches résistantes [14].
- Actuellement 80% des souches hospitalières sont productrices de pénicillinase [19].
- En outre, 30% résistent aux Pénicillines M (non détruites par la pénicillinase) [19].
- Vers les années 1960, la fréquence de Staphylococcus aureus semble avoir diminué au bénéfice des bacilles à Gram négatif et surtout de Pseudomonas aeruginosa [19].
- La figure représente deux faits [19] :
 - D'une part, la pente de leur portion ascendante est très différente d'un antibiotique à l'autre, elle est très marquée pour la Pénicilline G pour laquelle la progression des souches résistantes s'est fait rapidement, de même pour la Tétracycline, elle est beaucoup plus faible pour le Chloramphénicol.
 - D'autre part, les plateaux de stabilisation se situent à des niveaux très différents selon le milieu (hospitalier ou extrahospitalier), mais aussi selon les antibiotiques.

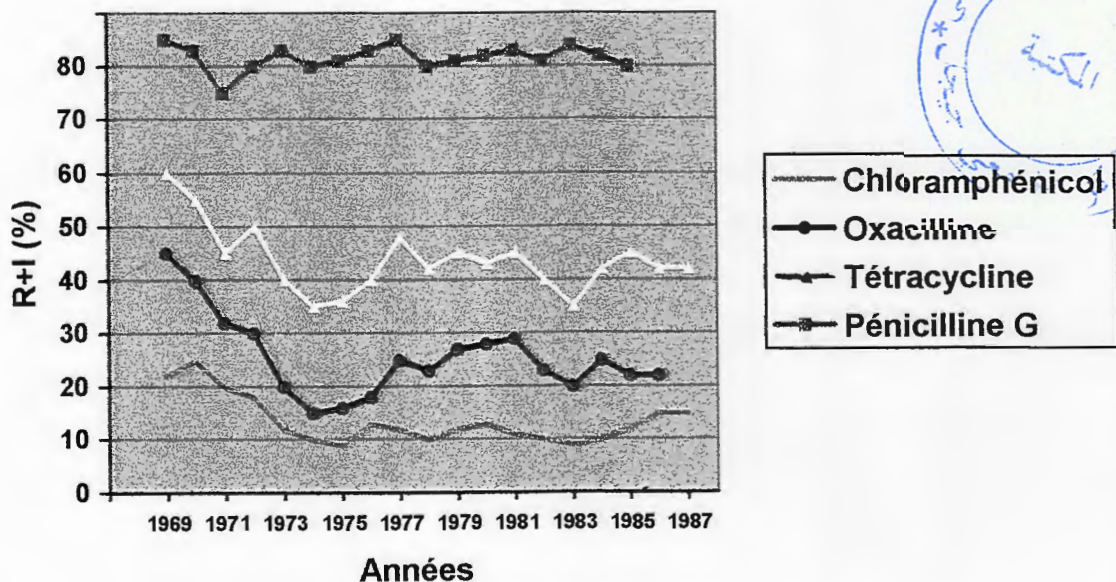


Figure 5 : Evolution de la résistance de Staphylococcus aureus aux antibiotique [19]

- Autres bactéries

- A l'exception des bactéries aérobies, les bactéries anaérobies ont peu évolué et restent sensibles à la plupart des antibiotiques, hormis les Aminosides et les Quinolones classiques vis à vis des quels elles sont naturellement résistantes, il a été cependant signalé quelques résistances acquises par exemple : Clostridium dont la résistance est peu répandue aux Tétracyclines et au Chloramphénicol [18].

3.5-Diagnostic bactériologique lors d'une diarrhée infantile

3.5.1- La coproculture

- L'examen bactériologique d'une selle a pour but de mettre en évidence des germes qui ont un rôle pathogène chez un malade ou qui sont présents chez un porteur sain. En effet, certains germes sont pathogènes par eux-mêmes, par contre d'autre sont des commensaux qui peuvent par leur importance relative créer un déséquilibre fonctionnel [11].

3.5.2- Technique de coproculture

- prélèvement

- Le prélèvement a pour but de recueillir un échantillon des selles (d'aspect diarrhéique), il suffit de peu de selles[8].
- Les flacons choisis doivent être bien hermétiques (fermeture a vis) et munis d'une cuillère ou d'une spatule permettant un prélèvement et un ensemencement plus pratiques [8].
- A partir de matières fécales émises dans un récipient propre, la valeur de quelques grammes de selles est prélevée à l'aide d'une spatule ou du flacon[8].
- Un écouvillonnage et parfois indiqué notamment chez le nourrisson et l'enfant[11].
- Dans les diarrhées très liquides, le recueil sur papier filtre a été proposé [11].
- Le prélèvement doit être immédiatement acheminé au laboratoire ou conservé à +4°C [11].

- L'examen préliminaire des selles

- l'examen macroscopique

L'aspect des selles va orienter, plus ou moins, le diagnostic:

- Selles diarrhéiques ou liquides, sans glaires, du nourrisson : gastro-entérite à E.coli entéropathogènes.

- Selles diarrhéiques, glaireuses, présence ou pas de sang : gastro-entérite à Shigella.
- Selles diarrhéiques ou non, absence de glaires : gastro-entérite à Salmonella.
- Selles liquides, aqueuses, riziformes : choléra (Vibron cholérique) [12].

- Examen microscopique

- Examen microscopique à l'état frais

- Permet de déceler la présence de leucocytes et d'hématies dans les selles (éventuellement de parasites) [12].

- Examen microscopique après coloration de bleu de méthylène

- La recherche des leucocytes dans les selles diarrhéiques consiste à [12]:
 - Déposer sur une lame une petite goutte de mucus fécal ou de selle liquide.
 - Ajouter un égal volume de bleu de méthylène.
 - Mélanger avec une baguette de bois (allumette).
 - Recouvrir d'une lamelle, laisser la coloration se faire pendant 2 à 3 minutes.
 - Examiner à l'objectif à sec (40 ou 60).

- L'examen après coloration de Gram [12]

- Permet d'observer l'équilibre de la flore :

Normale : $\frac{1}{3}$ à Gram positif ; $\frac{2}{3}$ à Gram négatif.

- La flore d'une gastro-entérite à E.coli entéropathogène est colonisée par le colibacille.
- La flore des diarrhées à Shigella ou Salmonella est plus ou moins déséquilibrée. Il y a prédominance des bacilles à Gram négatif.
- La flore d'un cholérique est monopolisée par le Vibron cholérique (bacille en virgule Gram négatif).

- Phase d'isolement

- L'aspect macroscopique des selles et la fiche de renseignement permettront d'orienter les recherches et le choix des milieux à utiliser [12].

A partir de l'homogénéisation des selles ; on effectuera un isolement sur :

- BCP(gélose lactosée aux bromocrésol pourpre) pour E.coli gastro_entérite infantile (GEI) pour les malades de moins de 18 mois [12].
- Milieu chapman pour la recherche et la dénombrement de staphylocoques entéropathogènes dans les entéro-colites aiguës [12].

- Milieu SS pour Salmonelles et Shigelles [12].

Incuber les boites 18 à 24 heures à 37°C [12].

- *Identification*

Après les caractères biochimiques et enzymatiques de chaque germe on peut faire l'identification du germe.

Exemple :

E.coli : gaz (+) ; Indole (-) ; H₂S (-) ; uréase (-).

(+) :présent , (-) :absent .

- *L'antibiogramme*

- L'antibiogramme c'est une technique de laboratoire qui détermine la sensibilité d'une bactérie à l'égard des antibiotiques; ou encore la méthode analytique qui permet de déterminer invitro l'action de l'antibiotique le plus actif sur un germe.
- Il existe deux méthodes pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques : la méthode de dilution en milieu liquide ou solide et la méthode de diffusion en gélose.

- **Méthode par dilution** [7]

- C'est la méthode de référence, qui peut être pratiquée en milieu liquide ou solide.
- Lorsque la mesure de la concentration minimale inhibitrice est effectuée selon une technique en milieu liquide ; on distribue dans un premier temps ; dans une série de tubes à hémolyse stériles (ou dans les cupules d'une plaque) ; sous un même volume, des concentrations décroissantes d'antibiotique.
- Puis on ajoute dans chacun des tubes, sous un même volume, une culture de bactéries en phase exponentielle de croissance ; diluée de façon à obtenir une concentration finale d'environ 10⁶ bactéries/ml (inoculum microbien optiquement invisible).
- La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'antibiotique sur la souche étudiée est définie comme la plus faible concentration inhibant ; après 18 à 24 heures de contact à 37 °C ; toute croissance bactérienne visible à l'œil (Figure 6)

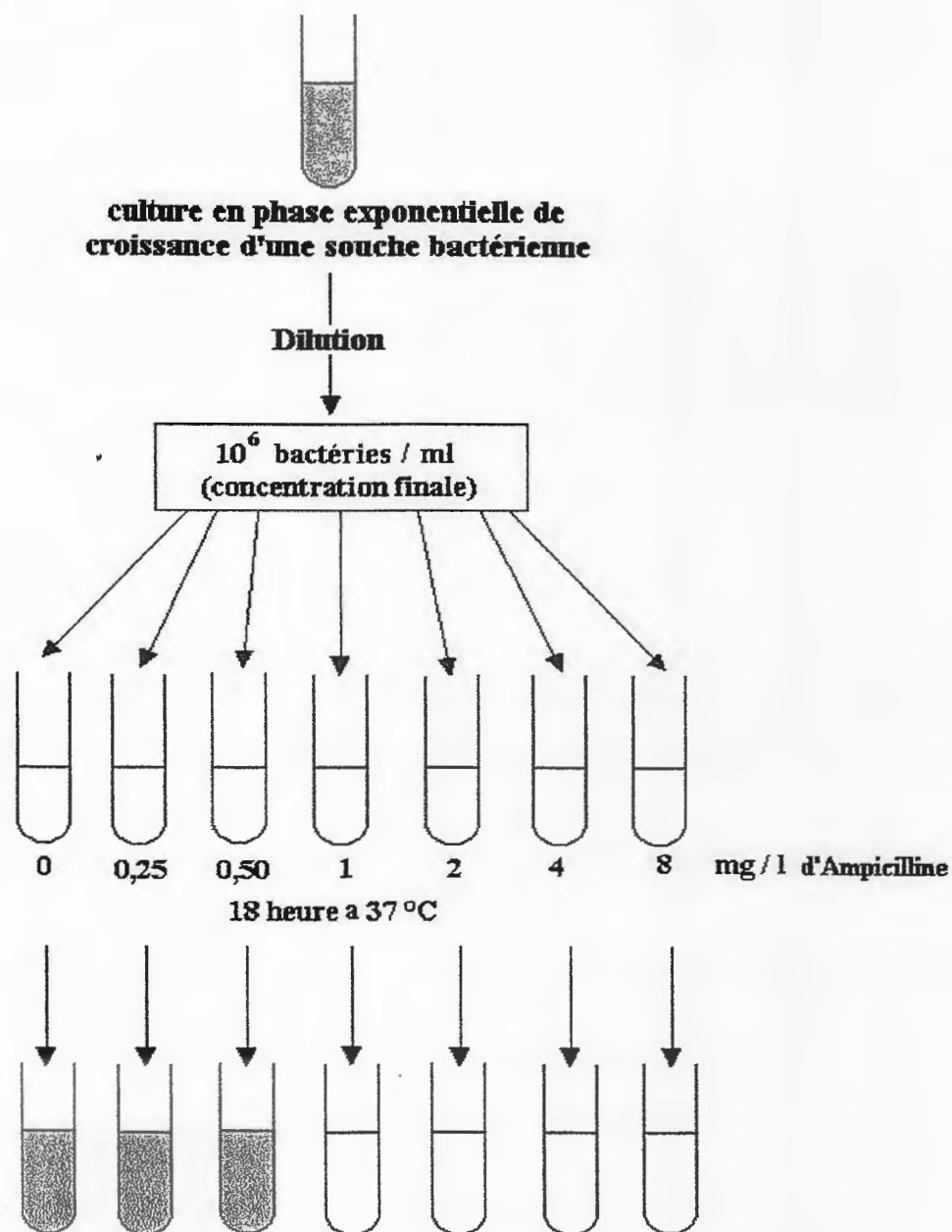


Figure 6 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice

(CMI) d'un antibiotique par la méthode de dilution en milieu liquide [7]

dans cet exemple, 2 mg/l d'Ampicilline inhibent la croissance de la souche bactérienne étudiée. Cette concentration est la CMI de l'Ampicilline sur cette souche

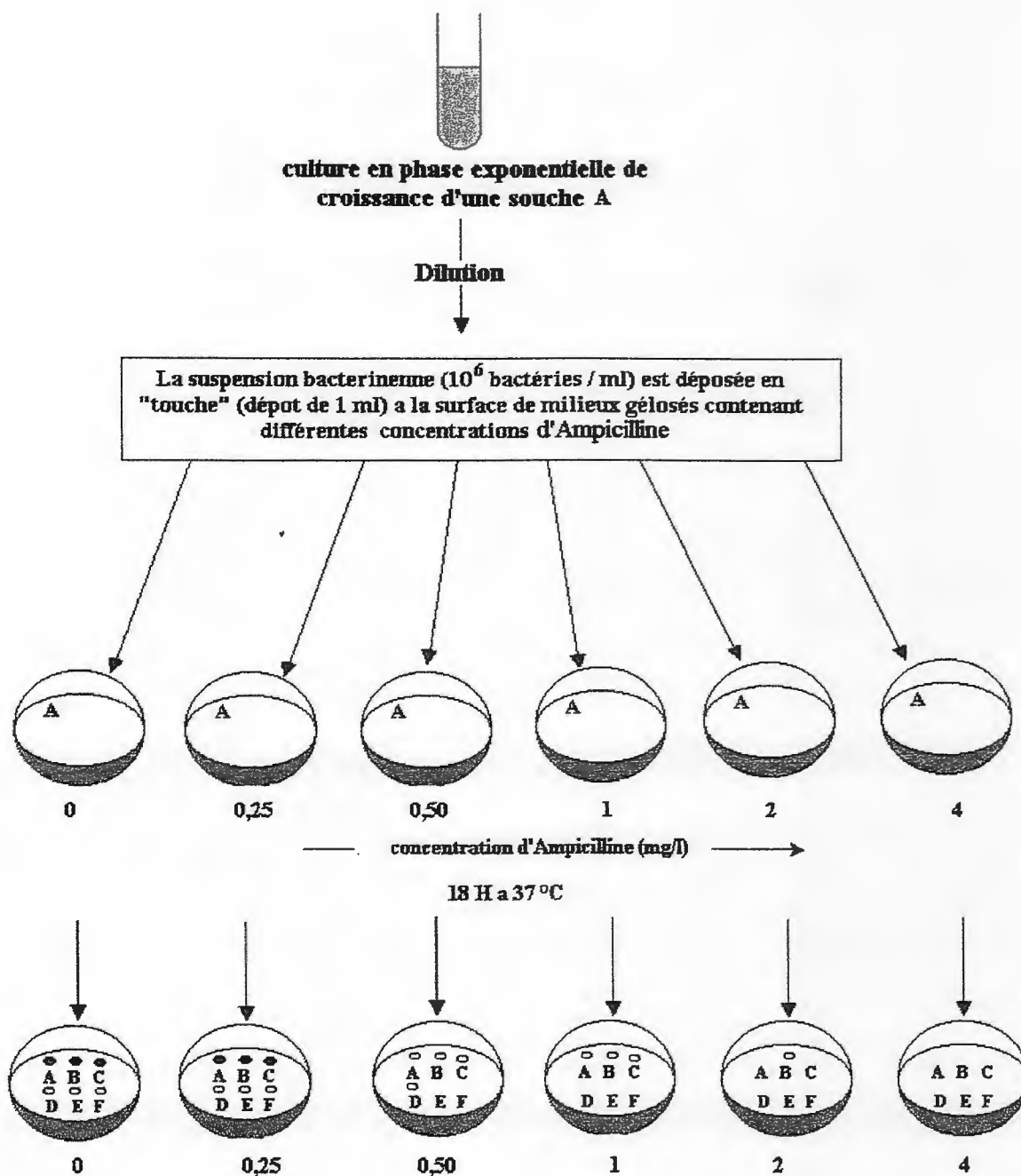


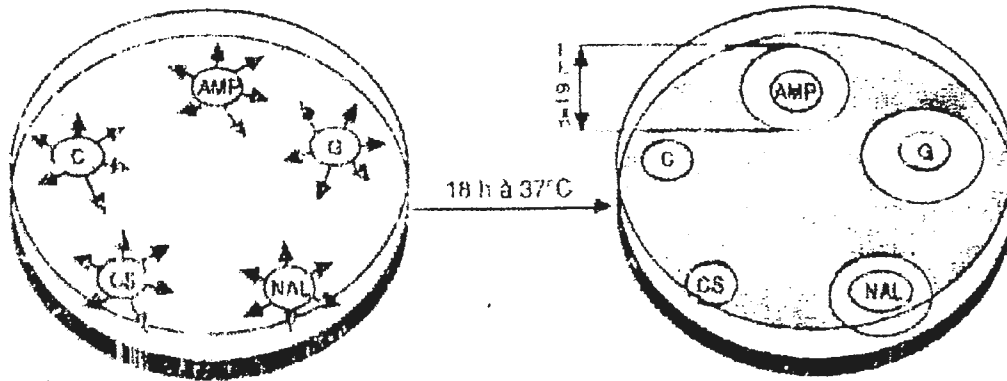
Figure 7 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice

(CMI) d'un antibiotique par la méthode de dilution en milieu solide [7]

dans cet exemple, les CMI de l'Ampicilline sur les six souches bactériennes (A, B, C, D, E, F) sont égales à 2 mg/l (souche A), 4 mg/l (souche B), 2 mg/l (souche C), 1mg/l (souche D), 0,5 mg/l (souche E), 0,5 mg/l (souche F).

- Méthode par diffusion (méthode des disques) [7]

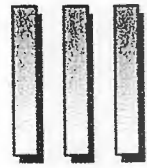
- Des disques de papier buvard imprégnés d'une quantité définie d'antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu gélose de Mueller-Hinton préalablement ensemencé avec une suspension de bactéries (10^6 /ml) en phase exponentielle de croissance.
- A partir du disque l'antibiotique diffuse dans la Gélose, sa concentration étant d'autant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration).
- Après incubation du milieu de culture (18 heures à 37 °C), on constate que chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne : la multiplication des micro-organismes s'arrête là où existe dans la gélose une concentration d'antibiotique supérieure ou égale à la CMI (Figure 8).
- Pour chaque antibiotique, on mesure le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne et on en déduit la valeur de la CMI de l'agent antimicrobien vis à vis de la souche étudiée.
- En effet, pour un antibiotique donné, une relation existe entre la valeur du diamètre d'inhibition de croissance et celle de la CMI, celle-ci étant établie par des études comparatives préalables portant sur un grand nombre de souches appartenant à des espèces bactériennes différentes.
- Le principe de la technique en milieu solide est identique, l'antibiotique étant ici incorporé dans un milieu de culture rendu solide par la présence de gélose.
- L'intérêt de cette technique, en milieu solide, réside dans la possibilité d'étudier un grand nombre de souches bactériennes (figure 8).
- Toutefois, ces deux techniques sont très laborieuses et ne sont pas habituellement appliquées à la détermination en "routine", de l'activité d'un grand nombre d'antibiotiques sur une souche bactérienne.



Des disques de papier buvard imprégné d'une charge définie d'antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu de Mueller Hinton préalablement ensemencé par inondation avec une substance bactérienne (10^6 /ml) de la souche A
 AMC : ampicilline, CS : colistine, C : chloramphénicol, G : gentamicine, NA : acide nalidixique

Après 18 heures d'incubation du milieu à 37°C , chaque disque d'antibiotique est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne dont le diamètre est plus ou moins grand selon l'antibiotique considéré. La taille du diamètre est proportionnelle à la CMI

Figure 8 : Représentation de la CMI par la méthode des disques [7]



**Matériel
et
méthodes**

1-Matériel et méthode

- L'étude pratique a été réalisée au laboratoire d'hygiène de la ville de JJEL, durant la période de 23 juin au 31 août.

Nous nous sommes intéressées aux bactéries, isolées des diarrhées infantiles, dans un but d'évaluer statistiquement leur sensibilité vis à vis de certains antibiotiques et de mettre le point sur les techniques d'étude, de sensibilité, pratiquées afin de mieux déterminer le traitement adéquat autrement que par une approximation générale et ainsi contribuer au contrôle et la surveillance des diarrhées infantiles.

1.1-Matériel

- Boîtes de Pétri stériles.
- Anse de platine.
- Pipette pasteur.
- Boîtes en plastiques de prélèvement.
- Bec bunsen.
- Lames.
- Lamelles.
- Etuve.
- Tubes stériles à essai.
- Microscope photonique.
- Pince.
- Registres.
- Distributeur d'antibiotiques.
- Ecouvillons.

1.1.1- Milieu et réactif

- Gélose nutritive.
- Milieu SS (Salmonelles, Shigelles).
- Milieu Mueller Hinton.
- Milieu d'enrichissement : bouillon au Sélénite d'acide de Sodium.
- Milieu Hektoen.
- TSI.(triple-suger iron agar)
- Mannitol mobilité.

- Citrate de Simmons.
- Milieu et réactifs : urée-indole.

1.1.2- Antibiotiques testés (disques)

- Pénicilline, Ampicilline, Amoxicilline, Tétracycline, céfalotine, Doxycycline, Sulfamide, Céfalogine, Triméthoprine, Céfotaxime, acide Nalidixique, Colistine, Gentamicine, Furanes, Chloramphénicol, Oxytétacycline, Kanamycine, Céfaloridine, triméthoprine + Sulfamide, Amoxicilline + acide Clavulanique.

1.2- Méthode

1.2.1- Isolement d'agent bactérien

- A partir des matières fécales émises dans des boîtes de plastiques propres :
 - On prélève à l'aide d'une anse de platine un échantillon de selle.

- *Au premier jour*

- L'enrichissement est fait dans des tubes contenant le milieu de Sélénite d'acide de sodium. Après l'incubation des tubes se fait dans l'étuve pendant 24 heures à 37°C.

- *Au deuxième jour*

- Avec des pipettes Pasteur, onensemense à partir du milieu d'enrichissement.
- Après on incube dans l'étuve pendant 24heures à 37°C

- *Au troisième jour*

- S'il y'a présence des colonies dans les milieux précédents, donc il y'a présence de germe.

1.2.2- Identification d'espèce bactérienne :

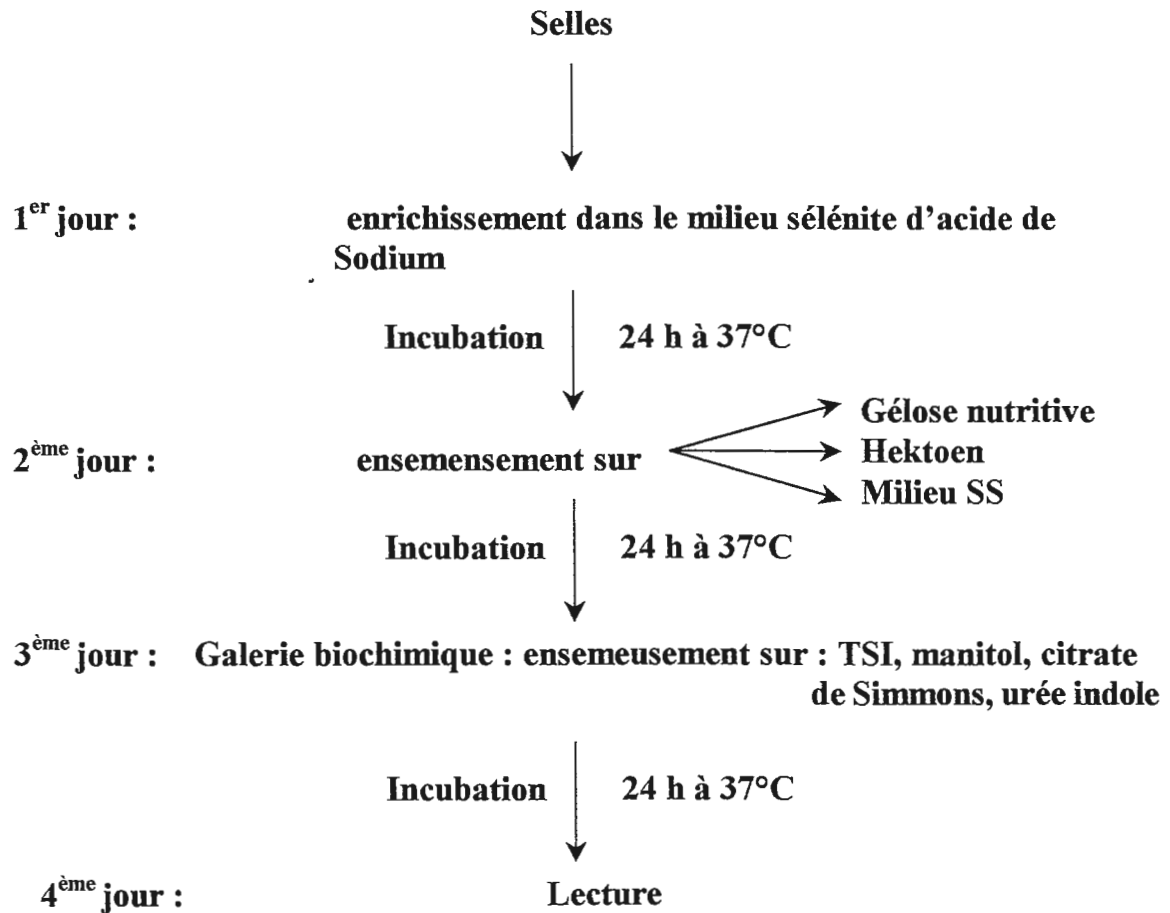
se fait par la galerie biochimique :

- On dilue 1 à 2 colonies par pipette Pasteur dans l'eau distillée.
- Après la dilution, onensemense sur les milieux suivants :
 - TSI : ce milieu permet la recherche de cinq caractères : glucose, lactose, saccharose, H₂S, les gaz.
 - Mannitol mobilité : permet la recherche de deux caractères : utilisation ou non du mannitol, la mobilité du germe.
 - Citrate de Simmons : permet la recherche du citrate.
 - Milieu urée-indole : permet de détecter la présence ou l'absence de l'uréase, ainsi que l'indole est un produit de dégradation du Tryptophane (acide aminé dans la plupart des protéines).

- On incube ces milieux dans l'étuve pendant 24h à 37°C.

- Au quatrième jour

- On fait la lecture par la comparaison des résultats des tubes avec le tableau des caractères biochimiques des Entérobactéries.
- Les étapes précédentes sont résumées dans le schéma N° :



Isolement et identification des agents bactériens responsable des diarrhées infantiles

1.2.3- Etude de la sensibilité aux antibiotiques

- L'antibiogramme

- On utilise la méthode de diffusion en Gélose :
 - On réalise une suspension peu dense à partir de culture pure (1 à 2 colonies dans de l'eau distillée).
 - On ensemence le milieu Mueller Hinton par des stries transversales, à l'aide d'un écouvillon de coton sur toute la surface de Gélose.

- On répète, cette opération 2 à 3 fois, on tournant chaque fois la boîte de 60° de façon à assurer un ensemencement uniforme de la Gélose.
- On dépose les disques des antibiotiques à l'aide d'un distributeur de six cartouches et la 7^{ième} cartouche on la dépose à l'aide d'une pince.
- On incube les boîtes à 37°C à l'étuve.
- Après 16 à 18 heures d'incubation, les boîtes sont examinées.
- On mesure avec précision les diamètres d'inhibition à l'aide d'une règle.
- On compare les résultats aux valeurs critiques, figurant dans le tableau de lecture (voir annexe).
- On classe les bactéries dans l'une des catégories : sensible-intermédiaire ou résistante selon le diamètre d'inhibition.

IV

Résultats

IV- Résultats

1- Répartition des coprocultures selon l'origine d'infection

- Nous avons calculé le pourcentage des diarrhées d'origine bactériennes et parasitaires diagnostiquées dans le laboratoire d'hygiène de la ville de JIJEL en 1999, 2000 et 2001.

1.1- Dans l'année 1999

Tableau (XIII) : comparaison entre les diarrhées d'origine bactérienne et parasitaire en 1999 dans le laboratoire d'hygiène de la ville de JIJEL

	Diarrhées d'origine bactérienne	Diarrhées d'origine parasitaire	total
Nombre	40	49	89
Pourcentage	45%	55%	100%

- D'après le tableau on note que les cas diarrhéiques d'origine parasitaire est 55%, et celle des cas diarrhéiques d'origine bactérienne est de 45% (voir la figure 9).

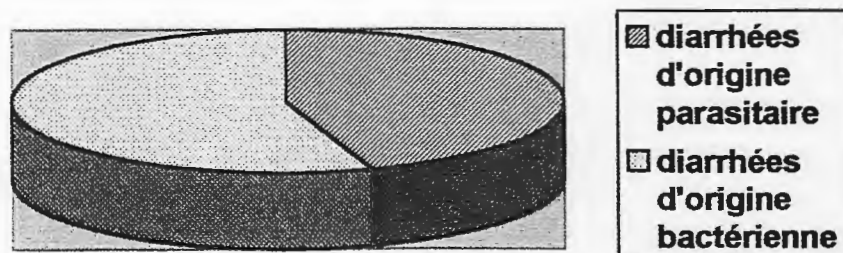


Figure 9 : Comparaison entre les diarrhées bactériennes et parasitaires en 1999

1.2- Dans l'année 2000

Tableau (XIV) : comparaison entre les diarrhées d'origine bactérienne et parasitaire en 2000 dans le laboratoire d'hygiène de la ville de JIJEL :

	Diarrhées d'origine bactérienne	Diarrhées d'origine parasitaire	total
Nombre	64	76	140
Pourcentage	46%	54%	100%

- On note à partir du tableau (XIV) que le nombre des diarrhées d'origine bactérienne est presque égale aux nombres des diarrhées d'origine parasitaire (voir la figure 10).

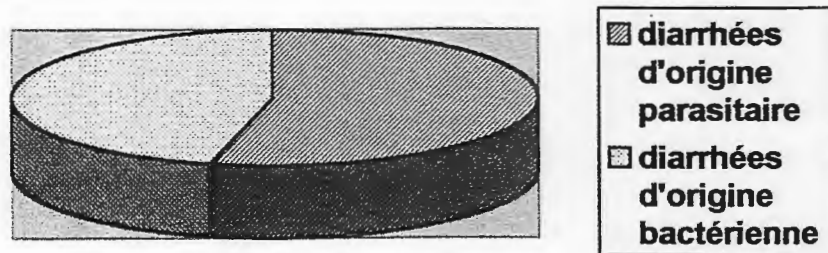


Figure 10 : Comparaison entre les diarrhées bactériennes et parasitaires en 2000

1.3- Dans l'année 2001

Tableau (XV) : comparaison entre les diarrhées d'origine bactérienne et parasitaire en 2001 dans le laboratoire d'hygiène de la ville de JIJEL

	Diarrhées d'origine bactérienne	Diarrhées d'origine parasitaire	total
Nombre	65	80	145
Pourcentage	45%	55%	100%

On note que les diarrhées d'origine parasitaire sont légèrement supérieure a celle des diarrhées d'origine bactérienne (voir la figure 11).

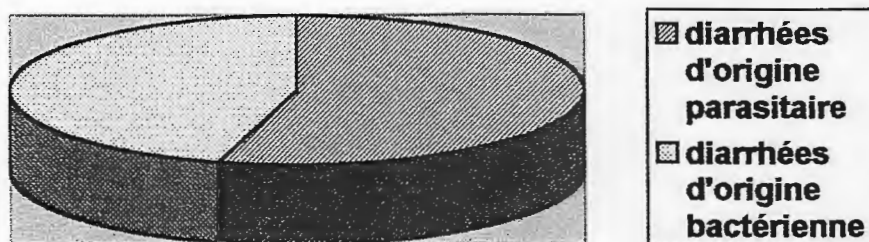


Figure 11 : Comparaison entre les diarrhées bactériennes et parasitaires en 2001

2- Les différentes bactéries isolées des diarrhées infantiles :

- Nous avons calculé le pourcentage des bactéries isolées des diarrhées infantiles durant les années 1999, 2000, 2001 dans le laboratoire d'hygiène de la ville de JIJEL.

2.1- Dans l'année 1999

Tableau (XVI) : pourcentage des bactéries isolées des diarrhées infantiles dans le laboratoire d'hygiène de la ville de JIJEL en 1999.

	E.coli	Citrobacter	Enterobacter	Klebsiella	Pseudomonas	proteus	total
Nombre	23	12	2	1	1	1	40
pourcentage	57,5%	30%	5%	2,5%	2,5%	2,5%	100%

- A partir du tableau (XVI) on note que les pourcentages des bactéries isolées des diarrhées infantiles sont différents selon les genres, E.coli est le germe le plus fréquemment isolé (57,5%).
 - Citrobacter (30%).
 - Enterobacter (5%).
 - Klebsiella (2,5%).
 - Pseudomonas (2,5%).
 - Proteus (2,5%). (voir figure 12)

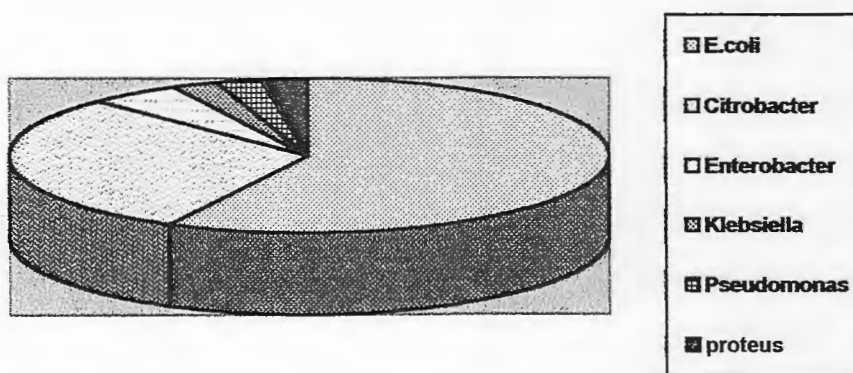


Figure 12 : Pourcentage des bactéries isolées des diarrhées infantiles en 1999

2.2- Dans l'année 2000

Tableau (XVII) : pourcentage des bactéries isolées des diarrhées infantiles dans le laboratoire d'hygiène de la ville de JIJEL en 2000

	<u>E.coli</u>	<u>Enterobacter agglomerans</u>	<u>Citrobacter diversens</u>	<u>Klebsiella</u>	<u>Proteus</u>	total
Nombre	37	14	7	4	2	64
pourcentage	58%	22%	11%	6%	3%	100%

- A partir du tableau (XVII) on note que, E.coli est le germe le plus fréquent dans les diarrhées infantiles, après il y'a :
 - Enterobacter agglomerans (22%).
 - Citrobacter diversens (11%).
 - Klebsiella (6%).
 - Proteus (3%). (voir figure 13)

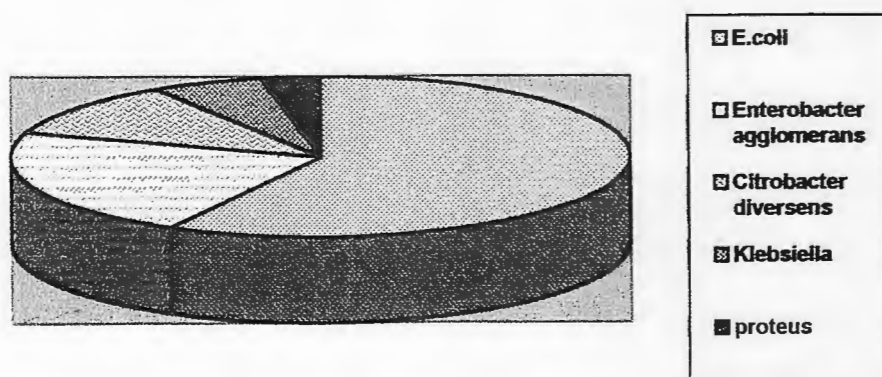


Figure 13 : Pourcentage des bactéries isolées des diarrhées infantiles en 2000

2.3- Dans l'année 2001

Tableau (XVIII) : pourcentage des bactéries isolées des diarrhées infantiles dans le laboratoire d'hygiène de la ville de JIJEL en 2001

	E.coli	Enterobacter	Proteus sp	Citrobacter sp	Pseudomonas	Klebsiella	total
Nombre	28	23	6	6	1	1	64
pourcentage	43%	35%	9%	9%	2%	2%	100%

- On note à partir du tableau (XVIII) que :
 - E.coli est le germe le plus fréquent dans les cas des diarrhées infantiles (43%).
 Pour les autres germes on a :
 - Enterobacter (35%).
 - Citrobacter (9%).
 - Proteus (9%).
 - Pseudomonas (2%).
 - Klebsiella (2%). (voir figure 14)

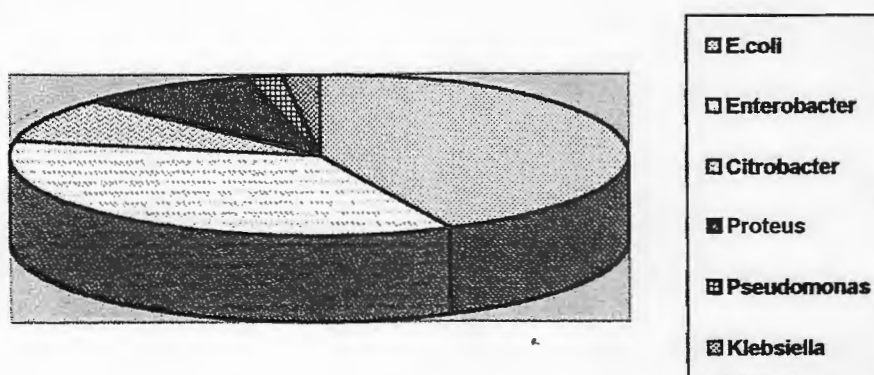


Figure 14 : Pourcentage des bactéries isolées des diarrhées infantiles en 2001

3- Profil de résistance des souches d'E.coli aux antibiotiques

Nous avons calculer le pourcentage de résistance des souches d'E.coli aux antibiotiques qui ont été testées dans le laboratoire d'hygiène de la ville de Jijel en 1999, 2000, 2001.

3.1-Dans l'année 1999

Tableau (XIX): Résistance des souches d'E.coli aux antibiotiques réalisés dans le laboratoire d'hygiène en 1999 :

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de souches résistantes	%
Amoxicilline (AMX)	16	15	94%
Ampicilline (AMP)	18	16	89%
Tétracycline (TE)	14	10	71%
Doxycycline (DO)	12	8	57%
Triméthoprim (TMP)	11	5	45%
Sulfamides (SSS)	21	9	43%
Acide nalidixique (NA)	20	3	15%
Gentamicine (GM)	22	3	14%
Colistine(CS)	21	3	14%
Furanes (FT)	20	2	10%

Sur 23 souches d'E.coli testées on note :

Un taux de résistance très élevé avec :

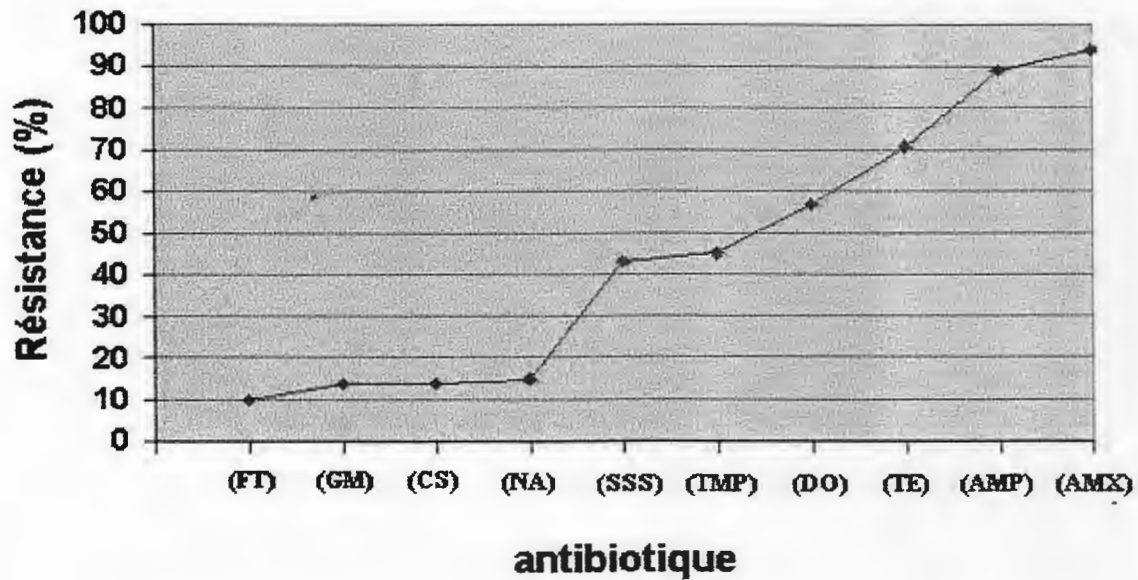
- L'Amoxicilline (94%) .
- Ampicilline (89%).
- Tétracycline (71%) .

On note une résistance presque moyenne pour :

- Doxycycline (57%).
- Triméthoprime (45%).
- Sulfamides (43%).

On note résistance plus ou moins faible pour :

- La Gentamicine (14%).
- Furanes (10%).



- Furanes (FT).
- Gentamicine (GM).
- Colistine (CS).
- Acide Nalidixique (NA).
- Sulfamides (SSS).
- Doxycycline (DO).
- Triméthoprime (TMP)
- Tétracycline (TE).
- Ampicilline (AMP).
- Amoxicilline (AMX).

Figure 15 :Représentation graphique de la résistance d'E.coil aux antibiotiques en 1999

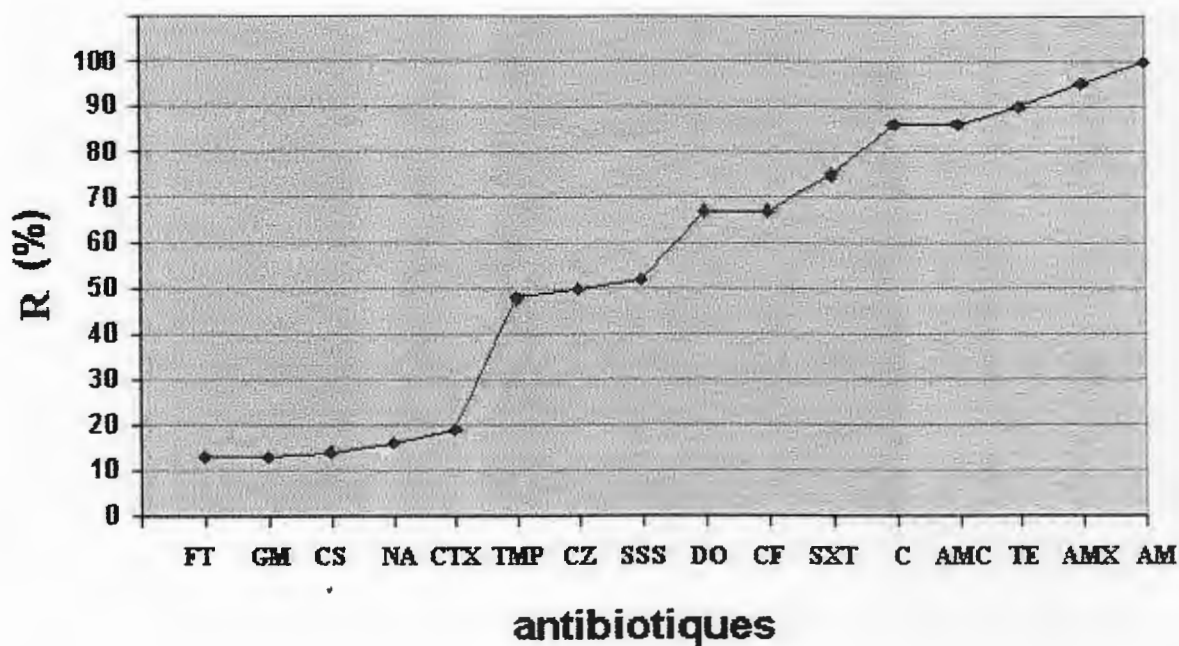
3.2-Dans l'année 2000

**Tableau (XX): Résistance des souches d'E.coli aux antibiotiques réalisés
aux laboratoire d'hygiène de la ville de Jijel en 2000**

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de souches résistantes	%
Ampicilline (AMP)	6	6	100%
Amoxicilline (AMX)	20	19	95%
Tétracycline (TE)	21	19	90%
Amoxicilline+Ac.Clavulanique (AMC)	28	25	89%
Chloramphénicol(C)	7	6	86%
Triméthopriime+ sulfamides (SXT)	4	3	75%
Céfaloine (CF)	3	2	67%
Doxycycline (DO)	12	8	67%
Sulfamides (SSS)	31	16	52%
Céfazoline (CZ)	6	3	50%
Triméthopriime (TMP)	23	11	48%
Céfotaxime (CTX)	16	3	19%
Acide nalidixique (NA)	31	5	16%
Colistine (CS)	7	1	14%
Gentamicine (GM)	31	4	13%
Furanes (FT)	15	20	13%

A partir du tableau (XX) on note que sur 37 souches d'E.coli testés, l'étude de la résistance montre :

- Une résistance totale pour l'Ampicilline
- Une résistance élevée avec l'Amoxicilline (95%) et Tétracycline (90%)
- Une résistance plus ou moins faible pour l'Acide Nalidixique (16%), colistine (14%), gentamicine (13%) et furanes (13%). Voir figure (16).



R : Résistance

Furanes (FT).

Gentamicine (GM)..

Colistine (CS).

Acide nalidixique (NA).

Céfotaxime (CTX).

Triméthoprime (TMP).

Céfazoline (CZ).

Sulfamides (SSS).

Doxycycline (DO).

Céfalotine (CF) .

Triméthoprime + Sulfamides (SXT).

Chloramphenicol (C).

Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC).

Tétracycline (TE).

Amoxicilline (AM X).

Ampicilline (AM).

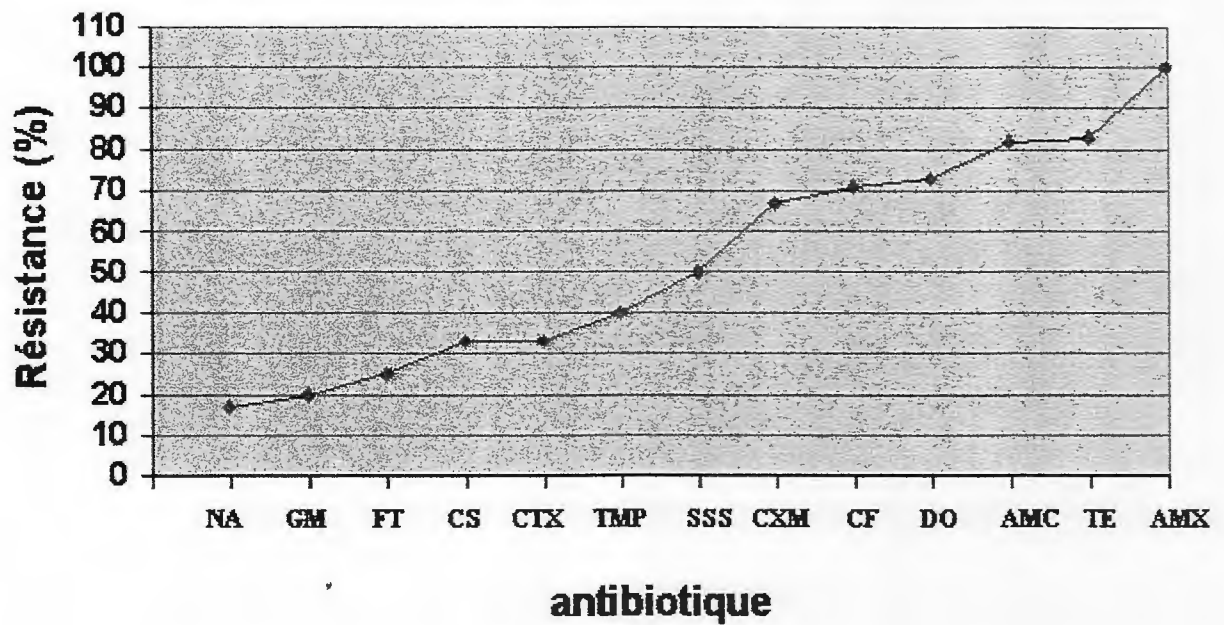
Figure 16 : Représentation graphique de la résistance d'E.coli aux antibiotiques en 2000

Tableau (XXI) : Résistance des souches d'E.coli aux antibiotiques réalisés au laboratoire d'hygiène de la ville de Jijel en 2001

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de souches résistantes	%
Amoxicilline (AMX)	11	11	100%
Tétracycline (TE)	15	14	93%
Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC)	11	9	82%
Doxycycline (DO)	11	8	73%
Céfalotine(CF)	7	5	71%
Céfuroxime (CXM)	6	4	67%
Sulfamides (SSS)	26	13	50%
Trimethoprime (TMP)	25	10	40%
Céfotaxime (CTX)	6	2	33%
Colistine (CS)	12	4	33%
Furanes (FT)	8	2	25%
Gentamicine (GM)	25	5	20%
Acide Nalidixique (NA)	23	4	17%

Sur 28 souches d'E.coli ont été testées, les résultats de l'antibiogramme montre :

- Une résistance totale pour l'Amoxicilline.
- Une forte résistance avec : Tétracycline (93%), Amoxicilline + Acide Clavulanique (82%) et Doxycycline (73%).
- Mais pour : Gentamicine (20%) la résistance est plus ou moins faible ainsi pour l'Acide nalidixique (17%). (Voir la figure 17)



- Acide nalidixique (NA).
- Furanes (FT).
- Gentamicine (GM).
- Sulfamides (SSS).
- Colistine (CS).
- Céfuroxime(CXM).
- Céfotaxime (CTX).
- Céfalotine (CF).
- Triméthoprine (TMP).
- Doxycycline (DO).
- Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC).
- Tétracycline (TE).
- Amoxicilline (AM X).

Figure (17): Représentation graphique de résistance d'E.coli aux antibiotiques en 2001

4- Profil de résistance des souches de citrobacter sp

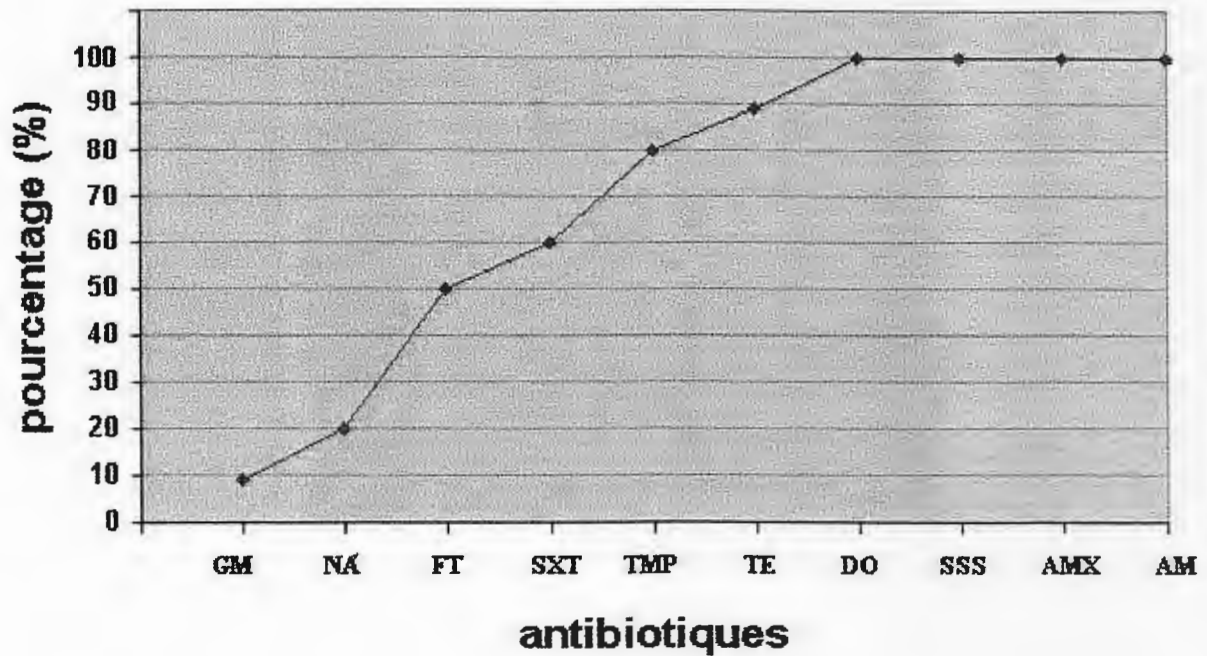
- Nous avons calculer le pourcentage de résistance des souches de *citrobacter* aux antibiotiques, qui ont été testées dans le laboratoire d'hygiène de la ville de Jijel en 1999,2000, 2001. :

Tableau (XXII) : Résistance des souches de Citrobacter aux antibiotiques testées dans le laboratoire d'hygiène en 1999.

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de souches résistantes	%
Ampicilline (AM)	6	6	100%
Amoxicilline (AMX)	4	4	100%
Sulfamides (SSS)	9	9	100%
Doxycycline (DO)	4	4	100%
Tétracycline (TE)	9	8	89%
Triméthoprim (TMP)	10	8	80%
Triméthoprim + Sulfamides (SXT)	5	3	60%
Furanes (FT)	4	2	50%
Acide nalidixique (NA)	10	2	20%
Gentamicine (GM)	11	1	9%

Sur 12 souches de *Citrobacter* testées on note:

- Une résistance totale (100%) à l'Ampicilline, l'Amoxicilline, Sulfamides et Doxycycline.
- Une résistance plus ou moins faible à l'Acide nalidixique (20%) et la Gentamicine (9%). (Voir figure 18)



Gentamicine (GM).
 Acide Nalidixique (AN).
 Furanes (FT).
 Trimethoprim + Sulfamides (SXT).
 Trimethoprim (TMP).
 Tétracycline (TE).
 Doxycycline (DO).
 Sulfamides (SSS).
 Amoxicilline (AMX).
 Ampicilline (AM).

Figure 18 : Représentation graphique de la résistance de Citrobacter aux antibiotiques en 1999.

4.1-Dans l'année 2000

On ne trouve pas des germes de Citrobacter isolées des diarrhées infantiles.

4.2-Dans l'année 2001

Le nombre des souches de Citrobacter est limitées(7 souches).

5- Profil de résistance des souches d'Enterobacter agglomérans

Nous avons calculer le pourcentage de résistance des souches d'Enterobacter agglomérans aux antibiotiques qui sont utilisés dans le laboratoire d'hygiène de la ville de Jijel en 1999, 2000, 20001.

5.1-Dans l'année 1999

On trouve pas des souches d'Enterobacter agglomérans isolées des diarrhées infantiles.

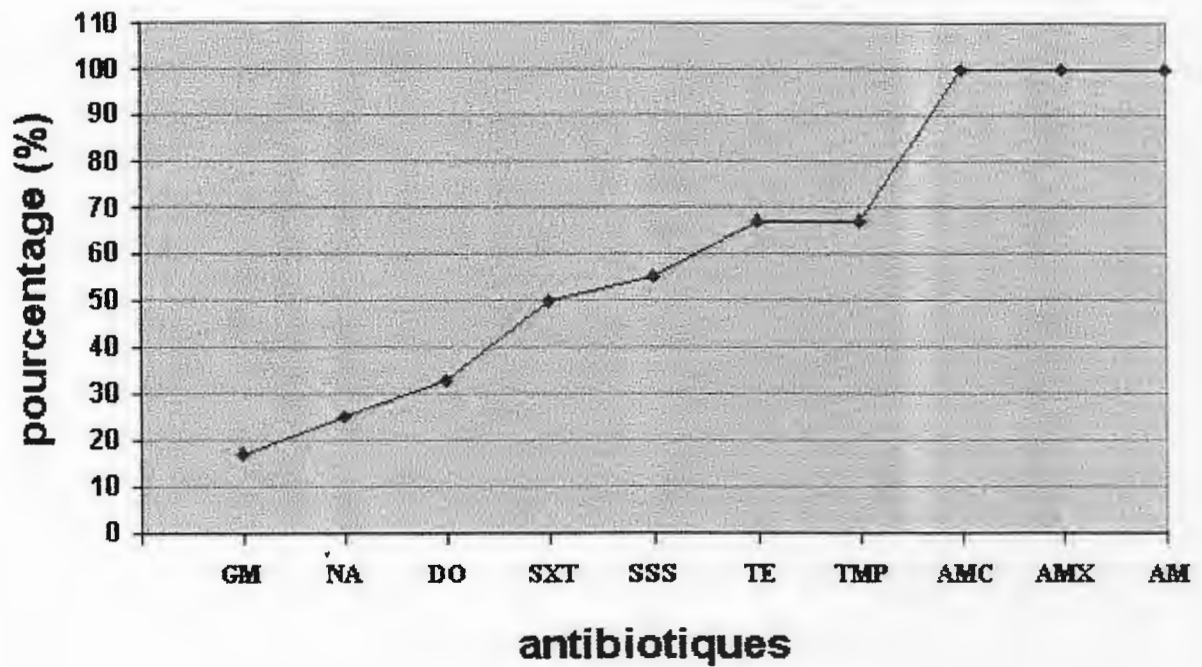
5.2-Dans l'année 2000

Tableau (XXIII) : Pourcentage de résistance des souches d'Enterobacter agglomérans faite dans le laboratoire d'hygiène de la ville de Jijel 2000

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de souches résistantes	%
Ampicilline (AM)	5	5	100%
Amoxicilline (AMX)	11	11	100%
Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC)	9	9	100%
Triméthoprim (TMP)	12	8	67%
Tétracycline (TE)	3	2	67%
Sulfamides (SSS)	11	6	55%
Triméthoprim + Sulfamides (SXT)	4	2	50%
Doxycycline (DO)	3	1	33%
Acide nalidixique (NA)	11	3	27%
Gentamicine (GM)	12	2	17%

Sur 14 souches d'Enterobacter agglomérans ont été testées :

- 100% des souches sont résistantes à l'Ampicilline, l'Amoxicilline, Amoxicilline + Acide clavulanique.
- Une résistance plus ou moins faible pour l'Acide nalidixique (27%) et la Gentamicine (17%), (Voir figure 19)



- Gentamicine (GM).
- Acide nalidixique (NA).
- Doxycycline (DO).
- Triméthoprim + Sulfamides (SXT).
- Sulfamides (SSS).
- Tétracycline (TE).
- Triméthoprim (TMP).
- Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC).
- Amoxicilline (AMX).
- Ampicilline (AM).

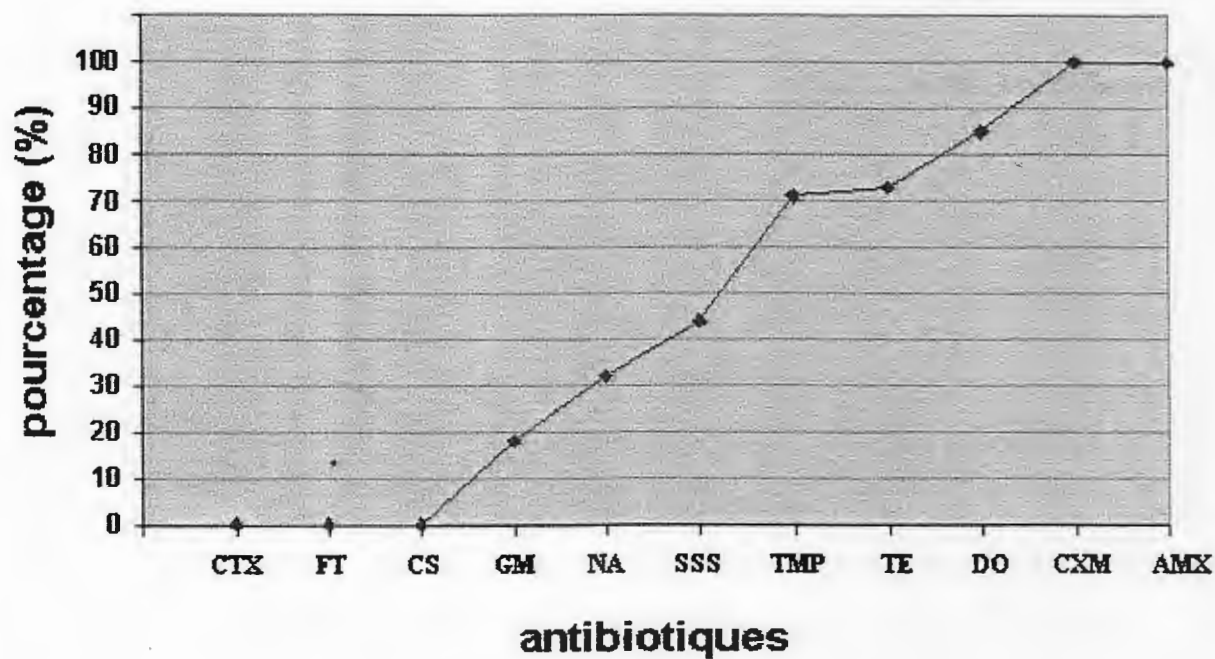
Figure 19 : Représentation graphique de la résistance d'Enterobacter agglomérans aux antibiotiques en 2000

**Tableau (XXIV) : Résistance des souches d'Enterobacter agglomérans
aux antibiotiques réalisés dans le laboratoire
d'hygiène de la ville de Jijel.**

Antibiotiques	Nombre de souches testées	Nombre de souches résistantes	%
Amoxicilline (AMX)	12	12	100%
Céfuroxime (CXM)	6	6	100
Doxycycline (DO)	13	11	85%
Tétracycline (TE)	15	11	73%
Triméthoprim (TMP)	21	15	71%
Sulfamides (SSS)	18	8	44%
Acide nalidixique (NA)	19	6	32%
Gentamicine (GM)	22	4	18%
Colistine (CS)	5	00	00%
Furanes (FT)	4	00	00%
Céfotaxime (CTX)	5	00	00%

Sur 23 souches d'Enterobacter agglomérans ont été testées :

- 100% des souches sont résistantes à l'Amoxicilline, Céfuroxime .
- Une résistance élevée avec Doxycycline (85%), Tétracycline (73%), Triméthoprim (71%).
- Aucune résistance avec Colistine, Furanes , Céfotaxime (Voir figure 20) .



- Céfotaxime (CTX).
- Furanes (FT).
- Colistine (CS).
- Gentamicine (GM).
- Acide nalidixique (NA).
- Sulfamides (SSS).
- Triméthoprime (TMP).
- Tétracycline (TE).
- Doxycycline (DO).
- Céfuroxime (CXM).
- Amoxicilline (AMX).

Figure 20 : Représentation graphique de la résistance d'Enterobacter agglomerans aux antibiotiques en 2001.

6- Les autres germes

6.1-Dans l'année 1999

Pour les autres germes, le nombre des souches isolées est très limitées, ils sont représentées comme suit :

- Deux (2) souches d'*Enterobacter* résistantes aux Céfotaxime (CTX), Tétracycline (TE), Triméthoprim (TMP), Triméthoprim + Sulfamides (SXT), Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC).
- Une souche de *Klebsiella*, résistantes aux Gentamicines (GM), Sulfamides (SSS), Tétracycline (TE), Ampicilline (AM).
- Une souche de *pseudomonas*, résistantes aux Amoxicilline (AMX), sulfamides (SSS), Tétracycline (TE), Acide nalidixique (NA).
- Une souche de *Proteus* résistante aux Ampicillines (AMC), Sulfamides (SSS), Tétracycline (TE), Colistine (CS).

6.2-Dans l'année 2000

Les autres germes sont représentées comme suit :

- Sept (7) souches de *Citrobacter agglomérans* sont résistantes aux Tétracycline, Amoxicilline, Sulfamides, Ampicilline, Gentamicine.
- Quatre (4) souches de *Klebsiella* résistantes aux tétracyclines, Amoxicilline, Ampicilline, Sulfamides, Gentamicine, Acide nalidixique.
- Deux (2) souches de *Proteus* résistantes aux Amoxicilline, Tétracycline, Sulfamides, Acide nalidixique.

6.3-Dans l'année 2001

Ils sont représentées comme suit :

Six (6) souches de *Proteus* :

- Quatre (4) souches sont résistantes à la Gentamicine.
- Trois(3) souches sont résistantes à la Sulfamides, Tétracycline.
- Deux (2) souches sont résistantes à l'Acide nalidixique, Doxycycline.

On a trouvé aussi :

Six (6) souches de *Citrobacter* :

- Quatre(4) souches sont résistantes à l'Amoxicilline.
- Trois(3) souches sont résistantes aux Tétracyclines, Sulfamides.
- Une souche résistante aux Doxycycline, Acide nalidixique.

Une souche de *Klebsiella* résistantes à l'Amoxicilline.

Une souche de *pseudomonas* résistantes aux Doxycycline, Amoxicilline + Acide clavulanique, Chloramphénicol.



Tableau (XXV) : Comparaison de la résistance d'E. coli aux antibiotiques en 1999, 2000, 2001

Antibiotiques	Souches résistantes en 1999	Souches résistantes en 2000	Souches résistantes en 2001
Amoxicilline (AMX)	94%	95%	100%
Tétracycline (TE)	71%	90%	93%
Doxycycline (DO)	57%	67%	73%
Trimethoprim (TMP)	45%	48%	40%
Sulfamides (SSS)	43%	52%	50%
Acide nalidixique (NA)	15%	16%	17%
Gentamicine (GM)	14%	13%	20%
Furanes (FT)	10%	13%	25%

Entre 1999, 200, 2001, on note une résistance importante avec :

- L'Amoxicilline (100% en 2001, 95% en 2000, 94% en 1999).
- Les Tétracyclines (93% en 2001, 90% en 2000, 71% en 1999).

Une augmentation légère de la résistance pour :

- La trimethoprim (48% en 2000 contre 45% en 1999).
- L'Acide nalidixique (17% en 2001 contre 16% en 2000 et 15% en 1999)
- Une augmentation importante de la résistance pour :
 - Doxycycline (57% en 1999 contre 67% en 2000 et 73% en 2001), (voir figure 21)

Remarque

Ces huit antibiotiques ont été testés en 1999, 2000, 2001, alors que les antibiotiques non-cités ont été testés une seule fois.

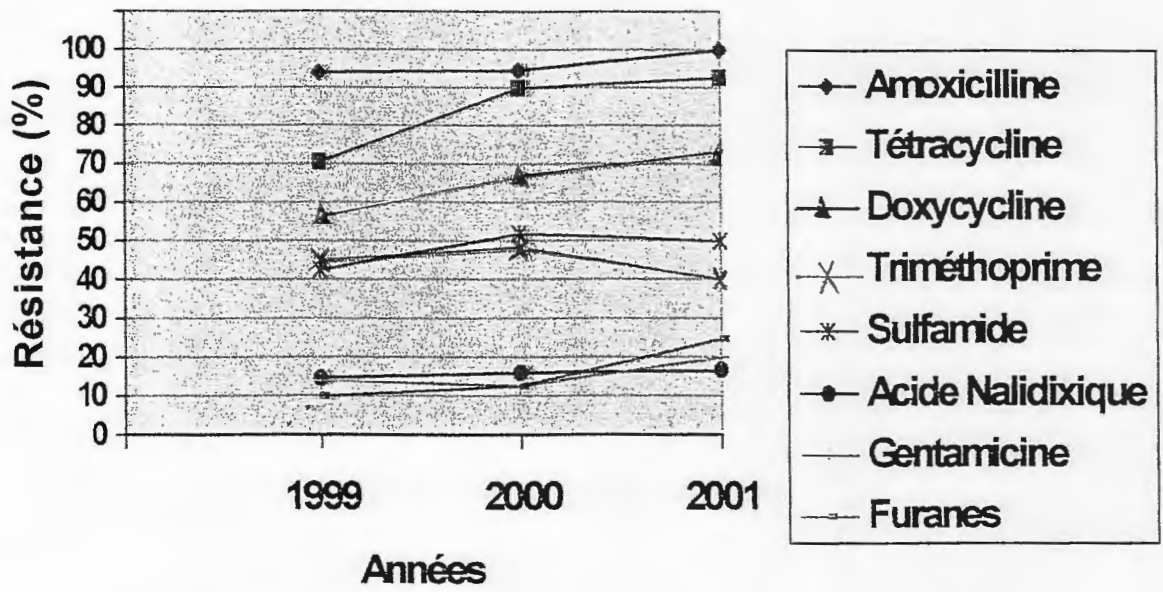


Figure 21 : Evolution de la résistance d'*E. coli* aux antibiotiques durant les années 1999 , 2000, 2001.

V

Discussion

Discussion

La résistance des bactéries aux antibiotiques continue à évoluer dès leur apparition jusqu'à présent.

Les taux les plus élevés de l'antibiorésistance sont en générale observés dans les pays développés [25]. Cette évolution, rapide de la résistance, est, actuellement, observées même dans les pays en voie de développement, vis à vis de certains antibiotiques.

Dans notre étude, Escherichia coli présente un taux très élevé d'antibiorésistance vis à vis de l'Amoxicilline(95%), l'Ampicilline(100%) et les Tétracyclines(90%) et ceci durant l'année 2000. Á Tunis, les données publiées par l'institut Pasteur montre des taux d'antibiorésistance moins, élevé d'E. coli que ceux retrouvés dans notre étude avec un pourcentage de (68,9%) à l'Amoxicilline, (68.9%) à l'Ampicilline et (55%) pour les Tétracyclines.

On n'a pas pu, malheureusement, comparer nos résultats avec d'autres Wilayas Algériennes parce que les données d'antibiorésistances publiées, par l'institut Pasteur d'Alger, concernent uniquement les bactéries isolées des infections urinaires.

Notre étude montre également, une évolution de la résistance des Enterobactéries durant les trois années étudiées, 1999, 2000 et 2001(jusqu'à 30 août).

Mis à part, leur résistance naturelle à certaines, Pénicillines(Pénicilline G), aux macrolides et les quinolones [25], la plupart des Enterobactéries ont été capables de développer très vite une résistance acquise, le plus souvent de nature plasmidique , vis à vis de certains antibiotiques tel que l'Amoxicilline, l'Ampicilline et Tétracyclines.

Les taux élevés d'antibiorésistance retrouvé dans notre simple travail, sont alarmant et il convient á nos praticien, à Jijel ou ailleurs, de changer de comportement en faveur d'une utilisation rationnelle et judicieuse d'un antimicrobien ; geste simple et facile qui permet de sauver la vie d'un enfant.

VI

Conclusion

Conclusion

Le traitement des maladies infectieuses causées par des bactéries résistantes à de multiples antimicrobiens se dégage comme l'un des plus gros défis des cliniciens, et pour que cette résistance aux antibiotiques peut se diminuer, il faut prescrire le bon médicament pour une infection bactérienne.

En Algérie commé dans le monde, pour limiter la propagation de la résistance antimicrobienne parmi les pathogènes qui infectent les enfants, il convient d'adopter certaines stratégies ou de les favoriser davantage, comme suit :

- Limiter le traitement antimicrobien aux situations où les indications sont claires et l'administrer pendant la durée efficace la plus courte.
- Traiter les infections documentées selon la posologie et la durée convenable et à l'aide de l'antimicrobien recommandé au spectre le plus réduit possible.
- Promouvoir avec vigueur la vaccination universelle des nouveau-nés et des enfants afin de prévenir les infections bactériennes au potentiel de résistance antimicrobienne élevé.
- Imposer des précautions antibiorésistantes strictes et des mesures de préventions des infections en milieu hospitalier, afin de limiter la propagation de pathogène à résistance antimicrobienne, comme Staphylococcus aureus méthicillinorésistant.

VII

Bibliographie

et

annexe

BIBLIOGRAPHIE

- (1) AICARDI J ; ANDRE M ; ANTAKI AJ ; BAKOURI S.-Précis de pédiatrie. Doin éditeur, 1989, 3 : 15 – 216.
- (2) ARMENGAUD P .-pédiatrie en 44 questions. Dépôt légal, 1999, 58,59.
- (3) Association des professeurs de pathologie infectieuse et tropicale. -Le Popi guide de traitement des maladies infectieuses, 1993, 3 : 69 – 70
- (4) AVRIL JL ; DABERNAT H; BENIS F; MONTEIL H.- Bactériologie clinique. Copyright, 1992, 2 : 149 – 385.
- (5) BAUMGARTNER J.D ; BILLE J.- Pharmacologie des agents antimicrobiens in pharmacologie. Office des publications universitaire, 1992 , 2 : 666 – 748.
- (6) BENSENOUCI A ; MAZONI M.-Elément de pédiatrie. Dépôt légal, 2000, 2 : 597 – 603.
- (7) BERCHE P ; GAILLARD J.L ; SIMONET M ; Bactériologie bactérie des infections humaines. Dépôt légal, 1989, 579 – 600.
- (8) Biomérieux
Produit et réactif de laboratoire.2000, 3 – 75.
- (9) EBERLIN T.-Les antibiotiques. Eric périlleux, 1999, 2 – 23.
- (10) EBERLIN T.-Les infections microbiennes. Eric périlleux, 1994, 2 : 66 – 69.
- (11) EL-HAMZAOUI A ; CHANI M ; AZOUADELLY E ; MBOUMBA I.C ; HAZOUME N.-Analyse bactériologiques des selles in Maghreb médical. V20 n°345, 2000, 108 – 112.
- (12) Faculté de médecine et de pharmacie d'Alger.-Travaux pratique de bactériologie 4^{ème} années de pharmacie. 2000, 200, 201.
- (13) FERON A.-Bactériologie à l'usage des étudiants en médecine. Crouan et Rooues, 1972, 5 : 113 – 120.
- (14) FERON A.-Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. Crouan et Rooues, 1984, 5 : 347 – 515.
- (15) JOFFIN J.N ; LEYRAL G.-Microbiologie techniques. Daniel Gilly, 1998, 2 : 142 – 227.
- (16) KECK G ; MEISSONNIER E.-Choix et posologie des médicaments antimicrobiennes in le point vétérinaire. 14, n° 69, 1982, 32 – 38.

- (17) LAHOUEL M ; BOULATIKA S.-Guide de méthodologie de la recherche. EL-wafa.1996.
- (18) LECLERE H; GAILLARD J.L; SIMONET M.-Microbiologie générale. Doin éditeur, 1995, 405 – 438.
- (19) LE MINOR L ; VERON M.-Bactériologie médicale. Dépôt légale, 1990, 2 : 579 – 600.
- (20) Ministère de la santé et de la population.
Évolution nationale de la morbidité- mortalité hospitalière
LMB/IRA chez les enfants de 0 à 5 années 1995 – 1999.
- (21) NICKLIN J ; GRAEME- COOK K ; PAGET T ; KILLINGTON R.-Essentielle en microbiologie. Berti édition, 2000, 121 – 135.
- (22) OMS
Traitement de la diarrhée. 1990, 1.
- (23) OMS
Traitement des diarrhée aiguës. 1984, 3.
- (24) PRESCOTT ; HARLEY ; KLIN.-Microbiologie. Communauté française de Belgique. 1995, 426 – 440.

Site Internet

- (25) BERCHE P ; COURVALAIN P ; NASSIF X.- La résistance aux antibiotiques. 2000.
- (26) BOUHADIOUI B ; BEN AISSA R et BOUDABOUS.- caractéristiques des souches d'Escherichia coli isolées chez l'homme. Manuscrit n° 1922 « bactériologie », accepté en juin 2000
- (27) Communauté des maladies infectieuses et d'immunisation, société Canadienne de pédiatrie (SCP). 1996, n° : ID 96 – 02.
- (28) DUCHMEL JF ; LAURANS M ; DUGERS ; ARION S; SCHREVEL G.- Traitement médicamenteux des diarrhées aiguës de l'enfant. CHU.2000.
- (29) [http:// www.doctissimo.fr/htm/santé/encyclopédie/sa-12R -diarrhéeaigue-enfant2.htm](http://www.doctissimo.fr/htm/santé/encyclopédie/sa-12R-diarrhéeaigue-enfant2.htm).

ANNEXE

1- Composition du milieu TSI (Triple Sugar Iron agar) en (gramme/litre)

- Extrait de viande	3,0g.
- Extrait de levure	3,0g..
- Peptone de caseine	15,0g.
- Peptone de viande	5,0g.
- Lactose	10,0g
- Saccharose	10,0g
- D(+) glucose: (additif aux milieux nutritifs et corps rationnel pour la « serie colorée »	1,0g
- Citrate ferrique et d'ammonium	0,50g.
- Sodium Chlorure	5,0g.
- Thiosulfate de sodium	0,30g.
- Rouge de phénol	0,024g.
- Agar-agar	12,0g.

2- Composition du milieu SS (Agar pour Salmomelles et shigelles) en (gramme/litre)

- Extrait de viande	5,0g.
- Peptone de viande	5,0g.
- Lactose	10,0g.
- Bile de bœuf desséchée	8,5g.
- Citrate de sodium	10,0g.
- Thiosulfate de sodium	8,5g.
- Citrate ferrique	1.0g.
- Vert brillant	0,0003g.
- Rouge neutre	0,025g.
- Agar-Agar	12,0g.

3- Composition du milieu Muller Hinton en (gramme/litre)

- Infusat de viande	5,0g.
- Hydrolysate de caseine	17, 5g.
- Amidon	1,5g.
- Agar- Agar	12,5g.

4- INTERPRÉTATION DES ZONES D'INHIBITION

Dénomination commune	Synonymes	Code	Charge en µg	Germe	Diamètre de la zone en mm		
					résistant	intermed.	sensible
β LACTAMINES							
Pénicillines G Pénicilline	Spécilline Phénéticilline Propicilline Clométhacilline Benzathine-pénicilline	P	10 u	Staphylocoques pénicillino sensibles	≤ 20	21-28	≥ 29
				Autres germes	≤ 11	12-21	≥ 22
Pénicillines A Ampicilline	Pénicline Penbritine Totapen	AM	10	Staphylocoques et autres germes pénicillino sensibles	≤ 20	21-28	≥ 29
Métampicilline	Suvipen Magnipen	ZAM	10	Autres germes	≤ 11	12-13	≥ 14
Epicilline Amoxicilline	Déxacilline Clamoxyl Hiconcil	EP AMX	10 25		≤ 11	12-19	≥ 20
Pénicillines M Méthacilline	Diméthoxyphenyl-pénicilline Flabelline Pénistaph	DP	5		≤ 9	10-13	≥ 14
Cloxacilline	Orbénine Cloxyphen	CX	1				
Oxacilline	Bristopen	OX	1				
Carbénicilline	Pyopen	CB	100	Proteus et E. coli Pseudomonas	≤ 17 ≤ 13	18-22 14-16	≥ 23 ≥ 17
Céphalosporines Cephalotine	Kéflin	CF	30				
Céphaloridine	Céporine Kéflodin	CD	30				
Céphalexine	Céporixine Keforal	CN	30		≤ 14	15-17	≥ 18
Céfazoline	Kéfzol Céfacidal	CZ	30				
AMINOSIDES							
Néomycine Paromomycine	Humatin	N PAR	30 30		≤ 12	13-16	≥ 17
Kanamycine	Kanacyne Kamycin	K	30		≤ 13	14-17	≥ 18
Streptomycine		S	10		≤ 11	12-14	≥ 15
Lividomycine		LV	60		≤ 8	9-13	≥ 14
Gentamycine	Gentalline	GM	10		≤ 12	13-14	≥ 15
Tobramycine	Nebcine	NN	10		≤ 11	12-13	≥ 14
TÉTRACYCLINES							
Auréomycine Déméthylchlorotétracycline Doxycycline Méthacycline	Chlortétracycline Déclomycine Vibramycine Rondomycine Mégamycine Oxytétracycline	A DM D MC	30 30 30 30				
Terramycine Tétracycline	Hexacilline Tétracyne Sandomycine	T TE	30 30		≤ 14	15-18	≥ 19
Minocycline	Minocine	MI	30				

Dénomination commune	Synonymes	Code	Charge en µg	GermeS	Diametre de la zone en mm		
					resistant	intermed.	sensible
MACROLIDES							
Erythromycine		E	15		≤ 13	14-17	≥ 18
Oléandomycine		OL	15		≤ 11	12-16	≥ 17
Spiramycine	Rovamycine	SP	100		≤ 15	16-21	≥ 22
Pristinamycine	Pyostacine	PR	15		≤ 19		≥ 20
Virginiamycine	Staphylomycine	SA	15		≤ 19		≥ 20
LINCOSANIDES							
Lincomycine	Lincoïne	L	2		≤ 16	17-20	≥ 21
Clindamycine	Dalacine	CC	2		≤ 14	15-16	≥ 17
Novobiocine	Cathomycine	NB	30		≤ 17	18-21	≥ 22
Fucidine	Acide Fusidique	FA	10		≤ 14	15-22	≥ 23
Vancomycine	Vancocine	VA	30		≤ 9	10-11	≥ 12
Chloramphénicol	Chloromycétine Tifomycine Solnicol	C	30		≤ 12	13-17	≥ 18
Thiophénicol		TP	30				
Rifamycine Rifampicine	Rifocine Rifadine Rimactan	RF RA	30 30		≤ 11	12-18	≥ 19
POLYPEPTIDES							
Polymyxine	Arémixine	PB	300 u		≤ 8	9-11	≥ 12
Colistine	Colimycine	CL	10		≤ 8	9-10	≥ 11
Bacitracine		B	10 u		≤ 8	9-12	≥ 13
ANTIBIOMIMÉTIQUES							
Nitrofuranes							
Furadoïne	Furadantin Nitrofuradoïne Furfuryl	FM	300		≤ 14	15-16	≥ 17
Furoxane	Furoxane Furazolidone	FM	300				
Quinolones							
Acide Nalidixique	Négram	NA	30		≤ 13	14-18	≥ 19
Acide Pipémidique	Pipram	PI	20		≤ 13	14-18	≥ 19
Acide Oxolinique	Urotrate	OA	2		≤ 10		≥ 11
Nibiol	Nitroxoline	NI	45				≤ 25
Sulfamides							
Sulfadiazine Sulfafurozol Sulfaméthizol Sulfaméthoxypindazine Sulfathiazol		SD G SZ SX ST	1.0 2.0 1.0 1.0 1.0				≤ 25
Triméthoprime Sulfaméthoxazole	Bactrim Eusaprim	SXT	1.25 + 23.75		≤ 10	11-15	≥ 16

5 - FEUILLE DE RÉSULTATS ANTIBIOGRAMME

SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR

Interprétation : S : sensible - I : intermédiaire - R : résistant

code 50252/02/93

ANTIBIOTIQUES	CHARGE DU DISQUE	SIGLE	RÉSULTATS				CONCENTRATIONS CRITIQUES	
			S	I	R	CMI	mg/l	mg/l
PÉNICILLINES								
Benzylpénicilline, Phénoxyéthylpénicilline	8 µg (10 UI)	P					0,25-10	
AMPHICILLINES								
Ampicilline et dérivés	10 µg	AM					4-10	
Amoxicilline	25 µg	AMX					4-10	
Amoxicilline + Ac. clavulanique*	20 µg + 10 µg	AMC					4-10	
ACIDES TICARCLINICIENNES								
Ticaracilline (en IV) Pseudomonas Entérobactéries	75 µg	TIC					04 10-04	
Ticaracilline + Ac. clavulanique Pseudomonas Entérobactéries	75 µg + 10 µg	TCC					10-04	
ACIDES MEZLOCLINICIENNES								
Mezlocilline Pseudomonas Entérobactéries	75 µg	MZ					0-32 10-04	
ACIDES PIPÉRACILLINIENNES								
Pipéracilline (en IV) Pseudomonas Entérobactéries	75 µg	PIP					0-04 10-04	
Pipéracilline + Tazobactam Pseudomonas Entérobactéries	75 µg + 10 µg	TZP					10-04	
B-LACTAMES								
Oxacilline	5 µg	OX					2	
Métilcilline, cloxacilline, dicloxacilline								
Métilicilline (antibiotique et sur milieu de Meade-Hinton)	10 µg	MEC					2-8	
B-LACTAMES								
Imipénème	10 µg	IPM					4-8	
CEPHALOSPORINES								
Céfazoline		CF						
Céfatoridone		CD						
Céfazolin		CAC						
Céfaprine	30 µg	CP					0-32	
Céfalexine		CN						
Céfadrone		CED						
Céfadroxy		CFR						
Céfazoline		CZ						
Céfator	30 µg	CEC					2-8	
Céfamandole		MA						
Céfprozime	30 µg	CMX					0-32	
Céfotaxime		FOX						
B-LACTAMES								
Céfotiam		CTF						
Céfotétan	30 µg	CTT					4-32	
Céfotaxime		CTX						
Cefépime		CEP						
Ceftiozime	30 µg	CZK					4-32	
Ceftiozime		CN						
Ceftiozime		CRO						
Ceftiozime		CAZ						
Ceftiozime		CFP						
Céfuroxime (Pseudomonas)	30 µg	CFB					0-32	
Lafamoxone	30 µg	MOX					4-32	
Céfexime		CFM						
Cefepime	10 µg	CPD					1-2	
MONOBACTAME								

NOM ET PRÉNOM
 ADRESSE
 RÉFÉRENCE
 EXAMEN DEMANDÉ PAR
 ORIGINE DU PRÉLÈVEMENT
 GERME ISOLÉ

DATE
 CACHET DU LABORATOIRE

ANTIBIOTIQUES	CHARGE DU DISQUE	SIGLE	RÉSULTATS				CONCENTRATIONS CRITIQUES	
			S	I	R	CMI	mg/l	mg/l
AMINOSIDES								
Streptomycine (Streptocoques)*	10 UI 500 µg	S STR					0-10	
Spectinomycine (Streptocoques)	100 µg	SPT					04	
Kanamycine (Streptocoques)*	30 UI 1000 µg	K KAN					0-10	
Néomycine Framycétine Paromomycine	30 UI	N FY P					0-10	
Tobramycine	10 µg	TM					4-0	
Dibécacine	10 µg	DKB					4-0	
Amikacine	30 µg	AN					0-10	
Gentamicine (Streptocoques)*	10 UI (15 µg) 500 µg	GM GEN					4-8	
Sisomicine	10 µg	SIS					4-0	
Nétilmicine	30 µg	NET					4-8	
PHENICOLES								
Chloramphénicol Thiamphénicol	30 µg	C					0-10	
TÉTRACYCLINES								
Tétracycline Oxytétracycline	30 UI	TE OT					4-8	
Doxycycline	30 UI	DO					4-8	
Mincycline	30 UI	MNO					4-8	
MACROLIDES								
Erythromycine Oléandomycine	10 UI	E OL					1-4	
Spiramycine	100 µg (333 UI)	SP					2-8	
Josamycine Médécamycine								
Lincocycline	10 µg	L					2-0	
Clindamycine (Anaérobies)	2 UI 10 UI	CM CLI					2	
Dalacinamycine Clindamycine	10 µg	PT VO					2	

ANTIBIOTIQUES	CHARGE DU DISQUE	SIGLE	RÉSULTATS				CONCENTRATIONS CRITIQUES	
			S	I	R	CMI	mg/l	mg/l
POLYPEPTIDES								
Bacitracine	10 UI (130 µg)	B					2	
Polymyxine B	300 UI (50 µg)	PB						
Colistine	300 UI (50 µg)	CS					2	
SULFAMIDES ET ASSOCIATIONS								
Sulfamides	200 µg	SSS					100-350	
Triméthoprime	5 µg	TMP					4-8	
Triméthoprime + Sulfamides	1,25 µg + 23,75 µg	BXT					1 : 2-8 SU : 30-152	
NITROFURANES								
Furanes	300 µg	FT					25-100	
QUINOLONES								
Acide nalidixique	30 µg	NA					0-10	
Acide oxolinique	10 µg	OA					2-4	
Fluméquine	30 µg	UB					4-8	
Acide pipémidique	20 µg	PI					0-10	
Péfloxacin Ofloxacin	5 µg	PEF OFX					1-4	
Norfloxacin	5 µg	NOR					1-8	
Ciprofloxacine	5 µg	CIP					1-2	
DIVERS								
Rifampicine	30 µg	RA					4-10	
Acide fusidique	10 µg	FA					2-10	
Métrondazole Ornidazole Tinidazole	4 µg	MTR					4	
Nitrofurantoin	20 µg	NI					1-32	
Fosfomycine (en IV)	50 µg	FOS					32	
Vancocycline Tatocycline	30 µg	VA TEC					4-10	

Résumé

L'utilisation et l'emploi abusif des antibiotiques a causé l'apparition et l'extension rapide du phénomène de résistance des bactéries aux antibiotiques.

Notre étude épidémiologique de l'antibiorésistance des bactéries isolées dans la ville de Jijel a montré un taux de la résistance d'Escherichia coli vis à vis de l'Ampicilline, l'acide Nalidixique et l'Amoxicilline.

L'étude a montrée également une évolution de la résistance des Entérobactéries durant les trois années étudiées.

Cette augmentation de l'antibio-résistance s'explique par une utilisation anarchique d'antimicrobiens soutenue par le phénomène de résistance extra - chromosonique.

La résistance des bactéries aux antibiotiques n'est pas un phénomène stable avec le temps, et pour espérer renverser la tendance, il devient urgent de soutenir la recherche de nouveaux modes d'actions pour les antibiotiques et de changer certains de nos comportements.

Mot clefs

Antibiotiques, Résistance, Bactéries, Antibio-résistance, Antimicrobiens.

SUMMARY

The spilled utilization and the abusive use of antibiotics to caused the apparition and the fast extension of the phenomenon of bacterium resistance to antibiotics.

Our survey epidemiologique of the bacterium antibioresistance isolated in the city of Jijel showed a rate of the Escherichia coli resistance to screw of Ampicilline, the acidic Nalidixique and a Amoxicilline.

The survey also showed an evolution of the Enterobacteries resistance lasting the three studie years.

This increase of anibio-resistance explains himself an anarchical utilization of antimicrobiens sustained by the phenomenon of resistance estra-chromosonique.

The resistance of bacteria to antibiotics is not a steady phenomenon with the time, and to hope reserve the tendency, it becomes urgent to sustain the research of new fashions of actions for antibiotics and to chage some of our behaviors.

ملخص

الاستعمال المتكرر و المفرط للمضادات الحيوية سبب ظهور و انتشار سريع لظاهرة المقاومة البكتيرية
مضادات الحيوية.

في دراستنا الإحصائية لمقاومة المضادات الحيوية من طرف بكتيريا معزولة في مدينة جيجل، وجدنا أنه
باك معدل لمقاومة اشيريشيا كولي للامبيسلين، حمض ناليديكسيك و الأمكسيسلين .

دراستنا أيضا بينت أنه هناك تطور لمقاومة الأنتيروبيكتيريا خلال السنوات المدروسة.
هذه الزيادة لمقاومة المضادات الحيوية راجعة إلى الاستعمال العشوائي للمضادات الميكروبية التي تعتمد على

اهرة المقاومة خارج الكروموزوم.

مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية هي ظاهرة غير مستقرة مع الزمن، و كامل لقلب هذا الميل، أصبح من
ستعجل الاعتماد على بحث طرق جديدة لفعل المضادات الحيوية و على تغيير سلوكنا.