

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قلمة
Université 8 Mai 1945 Guelma



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

Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Département : Ecologie et Génie de l'Environnement

Évaluation de la résistance aux céphalosporines de troisième génération chez les Entérobactéries isolées de *Blattella germanica* en milieu hospitalier

Présenté par :

SOUDANI Sofia

Devant le jury :

| | | | |
|-----------------|-----------------------|--------------|--------------------------------|
| Président : | BARA Mouslim | (Pr) | Université 8 Mai 1945 Guelma |
| Examinatrice : | BOUSSADIA Meriem Imen | (MCA) | Université 8 Mai 1945 Guelma |
| Encadrant : | HOUHAMDI Moussa | (Pr) | Université 8 Mai 1945 Guelma |
| Co-encadrante : | KIRAT Hassina | (Doctorante) | Université 20 Août 1955 Skikda |

Juin 2025



Je dédie ce modeste travail :

À moi-même. Merci de ne pas avoir abandonné malgré les épreuves, les doutes et la fatigue. Tu as été forte, patiente et persévérante. Grâce à ton courage et ta détermination, tu es arrivée jusqu'ici. Cette réussite est le fruit de ton engagement.

*À mes chers parents, Djahid et **BENAJCHÉ** Blida, Je ne trouve pas vraiment les mots pour vous dire tout ce que je ressens. Vous avez toujours été là, dans le silence et la patience, à me soutenir, à croire en moi, même quand moi je doutais. Votre amour m'a portée. Vos prières m'ont protégée. Votre force m'a inspirée. Maman, ta foi m'a donné du courage. Papa, ta présence m'a toujours rassurée. Je mesure aujourd'hui tout ce que vous avez fait pour moi, et je sais que je ne pourrai jamais vous remercier assez. Mais, Inch'Allah, je vous noierai sous mes succès répétés, jusqu'à ce qu'il ne vous reste que des larmes de joie et de fierté. Qu'Allah vous garde à mes côtés, longtemps. Je vous aime plus que tout.*

À mes chers frères Sofiane et Abdou, ainsi qu'à leurs épouses adorées Zineb et Amina, merci pour votre présence constante et vos cœurs purs et à leurs enfants : Saphir, Célia (3mimti), Inaya, Dania, Nahyl et Mohamed Sajed, vous êtes la joie et le joyeux désordre qui illuminent ma vie.

À mon cher grand-père Bouazza, je prie Allah de vous accorder un prompt rétablissement et de bénir votre vie.

À mes chères tantes, qu'Allah vous protège, et une pensée particulière à ma cousine Samouna.

À ma chère tante Fouzia, à son époux respecté Jonton Saidi Zine, et à leurs filles Jata et Hadia, je vous aime profondément.

À Jonton Hassan Douakha, merci pour votre appui et vos conseils.

À Jata Sofia, merci pour ton soutien tout au long de mes années d'études.

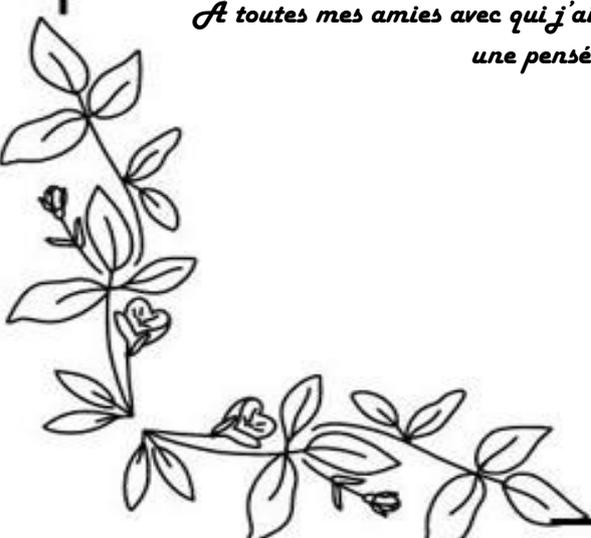
À Linou, merci pour ta joie contagieuse.

À Jata Djamilia et Jata Habiba, Je prie Dieu de vous accorder une santé parfaite et de longues années pleines de bonheur.

À mes chères Minoucha et Ines, merci du fond du cœur pour vos encouragements précieux.

À toutes mes amies avec qui j'ai partagé de si belles années remplies de souvenirs précieux, avec une pensée toute spéciale pour Khaoula Mehalleg.

La Sofy





Remerciements



Je remercie Allah, le Grand, le Tout-Puissant, le Tout Miséricordieux, de m'avoir guidée, donné la force, la patience et le courage pour surmonter chaque épreuve et mener à bien ce modeste travail.

*C'est un véritable honneur d'avoir Monsieur le Professeur **BARA Mouslim**, président du jury, à la tête de cette évaluation. Son expertise reconnue et son parcours académique exemplaire apportent une grande légitimité à ce travail.*

*Je souhaite également exprimer toute ma gratitude à Madame **BOUSSADJA Meriem Umen**, examinatrice de ce travail, pour sa présence au sein de ce jury. Sa participation enrichit considérablement l'évaluation de ce travail, et c'est un privilège de pouvoir bénéficier de son regard éclairé et de son expérience.*

*J'ai eu l'honneur de réaliser ce travail sous la direction de Mr le Professeur **HOUHAMDI Moussa**. Je lui adresse mes remerciements les plus respectueux pour la spontanéité de ses échanges et la pertinence de ses orientations scientifiques. Ses conseils ont grandement contribué à la structuration et à l'enrichissement de ce mémoire. J'espère avoir été à la hauteur de la confiance qu'il m'a témoignée.*

*Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à Mme **KJRAJ Hassina**, co-encadrante, qui, avant d'être responsable de ce mémoire, a été pour moi une amie précieuse. Son soutien inébranlable, son écoute et ses conseils bienveillants m'ont permis d'avancer avec confiance tout au long de ce travail. Sa capacité à allier amitié et professionnalisme a été déterminante dans l'accomplissement de ce mémoire.*

*Ma profonde gratitude va à Mr **ROUABHJA Kamal**, Mr **MERZOUG Abdelghani** et Mme **BENHALIJA Lamia**.*

*À mon chef de service, Mr **DJERADI Abderrahmane**, responsable du laboratoire d'hygiène de la DSP de Guelma, je ne trouve pas les mots pour exprimer toute ma gratitude pour ton aide, tes conseils et ton soutien inconditionnel. Grâce à toi, j'ai compris que la science n'est pas seulement un apprentissage, mais un véritable engagement vers l'excellence. Merci d'avoir été un guide précieux tout au long de ce parcours.*

*À mes collègues **Radja Boumaza** et **Djahida Aboud**, merci pour votre présence précieuse tout au long de mon parcours universitaire. Vous m'avez accompagnée, soutenue et encouragée depuis le début, et votre amitié a compté plus que vous ne l'imaginez.*

*À Mme **MOUMENI Houda**, je témoigne toute ma gratitude pour son accompagnement attentif, ses encouragements constants et sa présence rassurante tout au long de ce parcours.*

*Je remercie Mme **GHERIB Noura**, Mme **ADJIL Amina** et Mme **SJARI Hayet** pour leur gentillesse.*

Enfin, merci à toutes celles et ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Table des matières

Résumé
Abstract
ملخص
Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations
Introduction 1

Chapitre 01 : *Blattella germanica* et les Entérobactéries.

I. *Blattella germanica* 4
1. Origine et répartition géographique de *Blattella germanica* 4
2. Identification et taxonomie de *Blattella germanica* 5
2.1. Identification de *Blattella germanica* 5
2.2. Taxonomie de *Blattella germanica* 6
3. Cycle biologique 7
4. Impact sanitaire des blattes en tant que vecteurs de pathogènes 8
II. Les Entérobactéries 8
1. Caractéristiques générales des Entérobactéries 8
2. Classification taxonomique des Entérobactéries 10
3. Habitat et distribution des Entérobactéries 11
4. Pouvoir pathogène des Entérobactéries 12
5. Facteurs de virulence 12
6. Les infections nosocomiales 13

Chapitre 02 : Les Antibiotiques et l'Antibiorésistance.

I. Les Antibiotiques 14
1. Classification des antibiotiques 14
1.1. Les Bêta-Lactamines (Classe Principale) 14
1.1.1. Classification des Bêta-Lactamines 14
1.1.2. Mécanisme d'action des Bêta-Lactamines 16
1.2. Autres classes d'antibiotiques 16
1.2.1. Mécanisme d'action des antibiotiques 17

| | | |
|--------|--|----|
| II. | L'antibiorésistance | 19 |
| 1. | Types de résistance bactérienne | 19 |
| 2. | Mécanismes de résistance aux antibiotiques | 20 |
| 2.1. | Inactivation enzymatique : Les Bêta-Lactamases | 20 |
| 2.1.1. | Classification | 21 |
| 2.2. | Autres mécanismes de résistance | 22 |

Chapitre 03 : Matériel Et Méthodes.

| | | |
|--------|--|----|
| 1. | Cadre d'étude | 24 |
| 2. | Zone d'échantillonnage et période d'étude | 24 |
| 3. | Collecte des blattes | 24 |
| 4. | Transport des blattes | 25 |
| 5. | Mise en culture | 25 |
| 5.1. | Enrichissement | 25 |
| 5.2. | Isolement des Entérobactéries résistantes aux C3G (Criblage) | 26 |
| 5.2.1. | Préparation de la solution stock d'antibiotique céfotaxime | 27 |
| 5.2.2. | Préparation de la gélose Mac Conkey supplémentée en céfotaxime | 28 |
| 5.3. | Isolement | 28 |
| 6. | Identification | 29 |
| 6.1. | Identification morphologique | 29 |
| 6.1.1. | L'identification macroscopique | 29 |
| 6.1.2. | L'identification microscopique | 30 |
| 6.2. | Identification présomptive (CHROMagar) | 30 |
| 6.3. | Identification biochimique | 31 |
| 6.3.1. | Test oxydase | 31 |
| 6.3.2. | Système API 20E | 32 |
| 7. | Évaluation de la sensibilité aux antibiotiques | 33 |
| 7.1. | Standardisation de l'inoculum | 33 |
| 7.2. | Procédure d'ensemencement et d'application des disques | 33 |
| 8. | Analyses phénotypiques des mécanismes de résistance | 35 |
| 8.1. | Détection phénotypique des BLSE chez les Entérobactéries | 35 |
| 8.1.1. | Test de synergie par double disque (DDST) | 35 |
| 8.1.2. | Test de disque combiné (CDT) | 36 |

Chapitre 04 : Résultats et Discussion.

| | |
|--|----|
| I. Résultats..... | 38 |
| 1. Identification morphologique | 38 |
| 1.1. Identification macroscopique et microscopique..... | 38 |
| 2. Identification présomptive (CHROMagar)..... | 39 |
| 3. Identification biochimique..... | 40 |
| 3.1. Test oxydase..... | 40 |
| 3.2. Résultat de la Galeries API 20E..... | 40 |
| 4. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques | 41 |
| 4.1. Antibiogramme par diffusion de disques sur un milieu gélosé..... | 41 |
| 4.2. Répartition des entérobactéries résistantes aux C3G chez les blattes par service hospitalier | 45 |
| 5. Détection phénotypique des BLSE chez les Entérobactéries | 45 |
| 5.1. Test de synergie par double disque (DDST)..... | 46 |
| 5.2. Test de disque combiné (CDT) | 47 |
| II. Discussion..... | 49 |
| Conclusion..... | 51 |
| Perspectives | 52 |
| Références bibliographiques | |

Résumé

Blattella germanica, espèce de blatte fréquemment retrouvée dans les milieux hospitaliers, peut jouer un rôle important dans la transmission passive des agents pathogènes, notamment les Entérobactéries multirésistantes. Cette étude a été menée dans le but d'isoler et d'identifier les Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) présentes chez ces insectes et d'évaluer leur profil de résistance aux antibiotiques. Un total de 57 blattes a été collecté dans six services hospitaliers (cuisine, sanitaires, urgences, médecine, chirurgie, ORL), dont 68,42 % se sont révélées porteuses de bactéries. 21 souches entérobactériennes ont été isolées et identifiées. Elles appartiennent principalement à *Escherichia coli* (52,38 %), *Enterobacter cloacae* (23,81 %), *Klebsiella pneumoniae* (14,29 %) et *Serratia liquefaciens* (9,52 %). L'antibiogramme réalisé sur 10 antibiotiques a révélé une résistance élevée, en particulier à la cefotaxime (CTX) et à la ceftazidime (CAZ). Ces résultats confirment que *B. germanica* représente un réservoir bactérien significatif et un vecteur mécanique potentiel de résistance aux antibiotiques dans l'environnement hospitalier, appelant à une prise en charge intégrée dans les stratégies de lutte contre les infections nosocomiales.

Les mots clés : *Blattella germanica*, milieu hospitalier, Entérobactéries, céphalosporines de troisième génération, BLSE, résistance aux antibiotiques.

Abstract

Blattella germanica, a cockroach species frequently found in hospital environments, can play an important role in the passive transmission of pathogenic agents, particularly multidrug-resistant Enterobacteria. This study aimed to isolate and identify enterobacteria resistant to third-generation cephalosporins (3GC) present in these insects, and assess their antibiotic resistance profile. A total of 57 cockroaches were collected from six hospital departments (kitchen, restrooms, emergency, medicine, surgery and ENT department), of which 68.42% were found to carry bacteria. 21 enterobacterial strains were isolated and identified, mainly belonging to *Escherichia coli* (52.38%), *Enterobacter cloacae* (23.81%), *Klebsiella pneumoniae* (14.29%), and *Serratia liquefaciens* (9.52%). Antibiotic susceptibility testing on 10 antibiotics revealed high resistance, particularly to cefotaxime (CTX) and ceftazidime (CAZ). These results confirm that *B. germanica* represents a significant bacterial reservoir and a potential mechanical vector of antibiotic resistance in the hospital environment, calling for an integrated approach in strategies to combat nosocomial infections.

Key words : *Blattella germanica*, hospital environment, Enterobacteria, third-generation Cephalosporins, ESBL, antibiotic resistance.

يُعد الصرصور الألماني (*Blattella germanica*) من الأنواع الشائعة في البيئة الاستشفائية، وقد يساهم بشكل كبير في النقل غير المباشر للعوامل الممرضة، لا سيما البكتيريا المعوية متعددة المقاومة. تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتحديد البكتيريا المعوية المقاومة للجيل الثالث من السيفالوسبورينات (C3G) الموجودة لدى هذه الحشرات، بالإضافة إلى تقييم نمط مقاومتها للمضادات الحيوية. تم جمع 57 صرصورًا من ستة أقسام استشفائية مختلفة (المطبخ، المراحيض، الاستعجال، الطب العام، الجراحة وطب الأنف، الأذن والحنجرة)، حيث تبين أن 68.42% منها حاملة لبكتيريا. تم عزل وتحديد 21 سلالة بكتيرية معوية، كانت في معظمها تابعة لـ (*Escherichia coli* (52.38%) ، *Enterobacter cloacae* (23.81%)، *Klebsiella pneumoniae* (14.29%) و (*Serratia liquefaciens* (9.52%) أظهر اختبار التحسس الحيوي باستخدام 10 مضادات حيوية، مستويات مرتفعة من المقاومة، خصوصًا تجاه السيفوتاكسيم (CTX) والسيفتازيديم (CAZ) تؤكد هذه النتائج أن *Blattella germanica* تُعد خزانًا بكتيريًا مهمًا وناقلًا ميكانيكيًا محتملاً لمقاومة المضادات الحيوية في الوسط الاستشفائي، ما يستدعي إدراجها ضمن استراتيجيات الوقاية ومكافحة العدوى المكتسبة في المستشفيات.

الكلمات المفتاحية : *Blattella germanica*، البيئة الاستشفائية، البكتيريا المعوية، السيفالوسبورينات من الجيل الثالث، BLSE، مقاومة المضادات الحيوية.

Liste des figures

| N° | Titre | Page |
|----|---|------|
| 1 | Carte des premières apparitions signalées de <i>Blattella germanica</i> dans le monde. | 4 |
| 2 | Vue dorsale et ventrale d'un adulte mâle de <i>B. germanica</i> | 5 |
| 3 | Représentation pyramidale de la classification de <i>B. germanica</i> , de l'embranchement à l'espèce | 6 |
| 4 | Cycle de vie de <i>B. germanica</i> | 7 |
| 5 | Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae | 10 |
| 6 | Classification taxonomique des Entérobactéries | 11 |
| 7 | Mécanismes de résistance | 20 |
| 8 | <i>B. germanica</i> prélevée et collectée dans un flacon stérile | 25 |
| 9 | Flacons de suspensions enrichies en bouillon nutritif contenant des broyats de <i>B. germanica</i> après incubation | 26 |
| 10 | Préparation de la solution stock d'antibiotique céfotaxime | 27 |
| 11 | Préparation d'un milieu de culture supplémenté en céfotaxime | 28 |
| 12 | Étapes de la technique de la coloration de Gram | 30 |
| 13 | Milieu CHROMagar | 31 |
| 14 | Détection enzymatique par le test oxydase | 31 |
| 15 | La galerie API 20E | 32 |
| 16 | Logiciel utilisé pour l'identification | 32 |
| 17 | Dépôt des antibiotiques sur le milieu Mueller-Hinton (MH) | 34 |
| 18 | Photo explicative du dépôt des disques d'antibiotiques | 37 |
| 19 | Aspect des souches sur milieu CHROMagar | 39 |
| 20 | Les résultats sur milieu CHROMagar | 39 |
| 21 | Résultat du test oxydase | 40 |
| 22 | Sensibilité et résistance de <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques | 43 |

Liste des figures

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 23 | Sensibilité et résistance de <i>Serratia liquefaciens</i> aux antibiotiques | 43 |
| 24 | Sensibilité et résistance de <i>Enterobacter cloacae</i> aux antibiotiques | 44 |
| 25 | Sensibilité et résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques | 44 |
| 26 | Résultats de l'antibiogramme | 45 |
| 27 | Image de synergie entre CTX et l'AMC de <i>Escherichia coli</i> | 47 |
| 28 | Détection positive de BLSE par le test CDT | 48 |

Liste des tableaux

| N° | Titre | Page |
|----|---|------|
| 1 | Caractéristiques de <i>B. germanica</i> | 6 |
| 2 | Caractéristiques générales des Entérobactéries | 9 |
| 3 | Mécanismes d'action des antibiotiques | 18 |
| 4 | Répartition du nombre de blattes collectées dans différents services d'un établissement hospitalier | 24 |
| 5 | Liste des antibiotiques testée pour les Entérobactéries | 35 |
| 6 | Aspect macroscopique sur milieu Mac Conkey et après coloration de Gram | 38 |
| 7 | Résultats de l'identification par l'API 20E | 41 |
| 8 | Antibiogramme par diffusion de disques sur un milieu gélosé des Entérobactéries | 42 |
| 9 | Fréquence des souches résistantes par service | 45 |
| 10 | Détection des BLSE chez les Entérobactéries par le test DDST et CDT | 46 |
| 11 | Caractérisation des BLSE par CDT, fréquence et distribution par espèce. | 47 |

Liste des abréviations

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

CGN : Bacilles à Gram négatif.

CGP: Bacilles à Gram positif.

BLSE : Des β -lactamases à spectre étendu.

LPS: Lipopolysaccharide.

Urg : Service des urgences.

Mdc : Service de médecine.

ORL : Service d'oto-rhino-laryngologie.

C : La cuisine.

Sntr : Les sanitaires.

Chr : Service de chirurgie.

CAZ : Ceftazidime.

AMC : Amoxiciline + Acide clavulanique.

CIP : Ciprofloxacine.

ATM : Aztréonam.

FOX : Céfoxitine.

SXT : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole.

FEP : Céfipime.

CTX : Céfotaxime.

CN : Gentamycine.

ETP : Ertapénème.

DDST : Test de synergie double disque.

CDT : Test de disque combiné.

Introduction

Introduction

Les cafards constituent une catégorie d'insectes omniprésents, regroupant environ 6000 espèces identifiées à travers le monde. Ces insectes se distinguent par une grande variabilité morphologique, tant au niveau de leur forme que de leur couleur et de leur taille (Beccaloni, 2014). Ils figurent parmi les nuisibles non piqueurs les plus courants et les plus redoutés, en particulier dans les habitations, les structures de soins de santé, ainsi que dans les hôtels et les auberges (Bala, 2012). De plus, ces organismes nocturnes et omnivores (Salehzadeh et al., 2017), comprennent plusieurs espèces domestiques telles que *Periplaneta americana*, *Blatta orientalis*, *Supella longipalpa* et *Blattella germanica* (Grandcolas, 1998).

En particulier, *Blattella germanica* est reconnue pour être un vecteur de nombreux micro-organismes pathogènes (Cornwell, 1968 ; Roth et Willis, 1957). Ces derniers regroupent divers virus, champignons, parasites, ainsi qu'une vaste gamme de bactéries, dont certaines possèdent une importance médicale significative. En effet, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella* et *Staphylococcus* figurent parmi les bactéries fréquemment isolées. À celles-ci s'ajoutent plusieurs espèces de *Pseudomonas* (Mullen et Duren, 2009), *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis* et *Yersinia pestis* (Tatfeng et al., 2005).

Ainsi, la présence des blattes représente une problématique majeure en matière d'hygiène et de santé publique (Rivault et al., 1993 ; Grandcolas, 1998). Ces insectes peuvent en effet être impliqués dans l'apparition de pathologies telles que l'asthme (Sheehan et al., 2010) ou diverses allergies (Oseroff et al., 2012). De surcroît, ils sont susceptibles de véhiculer des maladies infectieuses graves telles que l'hépatite, le choléra et la tuberculose (Gordon, 1996 ; Tokouda et al., 2008). Leur remarquable capacité d'adaptation, leur sensibilité à la lumière (Rivault et al., 1994) et leur aptitude à se reproduire rapidement renforcent leur potentiel nuisible (Grandcolas, 1998).

D'autre part, la présence de blattes dans les établissements hospitaliers constitue un enjeu sanitaire majeur, notamment dans les unités de soins et les services de réanimation (Mehainaoui et al., 2021). Il a été suggéré que ces insectes pourraient jouer un rôle dans la transmission des infections nosocomiales en raison de leur capacité à transporter des bactéries multirésistantes aux antimicrobiens (Naher et al., 2018 ; Nazari et al., 2020). Les infections nosocomiales, définies comme des infections acquises au sein d'un établissement de soins après l'admission du patient, sont particulièrement préoccupantes.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), ces infections concernent aussi bien les cas survenant après la sortie du patient que celles contractées par le personnel soignant durant l'exercice de leur métier (Monnet, 2011).

La caractérisation de ces infections dépend de la population affectée, du statut clinique des patients et de la typologie de l'établissement de santé, en raison de l'implication possible d'une vaste gamme d'agents pathogènes (Koumedjina, 2019). Les bactéries les plus fréquemment impliquées incluent principalement les bacilles à Gram négatif (BGN), notamment les Enterobacteriaceae, ainsi que *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*. Par ailleurs, *Staphylococcus aureus*, appartenant aux cocci à Gram positif (CGP), représente également un agent pathogène majeur (Oliveira et al., 2010).

Cependant, la résistance bactérienne aux antibiotiques constitue aujourd'hui un enjeu de santé publique particulièrement préoccupant en milieu hospitalier. Certaines Entérobactéries sont impliquées dans des infections causées par des souches multirésistantes, dont l'évolution est façonnée par la pression de sélection induite par l'usage intensif des antibiotiques et la dissémination des souches résistantes à l'échelle épidémique (Lobel et Soussy, 2007).

Ces dernières années, on observe une progression marquée de la résistance des Entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération (C3G), principalement due à l'émergence des β -lactamases à spectre étendu (BLSE), un problème de santé publique mondial (Coque et al., 2008). Décrites pour la première fois en 1940 par Abraham et Chain, ces enzymes catalysent l'hydrolyse de la liaison amide du noyau β -lactame, entraînant ainsi l'inactivation de l'antibiotique. Ce mécanisme constitue la principale stratégie de résistance chez les bactéries à Gram négatif (Poole, 2005).

Afin d'appréhender cette problématique avec précision, il est essentiel d'examiner les mécanismes de résistance bactérienne, la multirésistance et les modes d'action des antibiotiques. Ce mémoire s'articule donc en deux grandes parties. La première partie, de nature bibliographique, traite des généralités sur *B.germanica*, l'environnement hospitalier, les antibiotiques et les principaux mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Quant à la seconde partie, elle repose sur une approche expérimentale visant à :

Introduction

- Isoler et identifier les souches des Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération, portées par *B. germanica* dans l'environnement hospitalier.
- Réaliser une recherche phénotypique de la production des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) chez les souches isolées.
- Mettre en évidence le rôle épidémiologique potentiel de *B. germanica* dans la dissémination des Entérobactéries multirésistantes en milieu hospitalier.

Chapitre 01 :

Blattella germanica et

les Entérobactéries

I. *Blattella germanica*

1. Origine et répartition géographique de *Blattella germanica*

Les blattes, dont les premiers fossiles remontent au Carbonifère, constituent l'un des ordres d'insectes les plus anciens ayant colonisé la biosphère terrestre, il y a environ 355 millions d'années (Boné et al., 2020).

L'espèce *B. germanica*, communément appelée blatte germanique, aurait été initialement signalée en Europe au cours de la guerre de Sept Ans (1756–1763) (Rehn, 1945). En 1767, Linnaeus a décrit et nommé cette espèce en se basant sur l'origine géographique des spécimens collectés.

Les blattoptères présentent une distribution majoritairement cosmopolite (Roth et al., 1957). L'aire d'origine de *B. germanica* est située en Afrique du Nord-Est, s'étendant de la région des Grands Lacs à l'Éthiopie et au Soudan. Depuis cette zone, l'espèce a progressivement colonisé l'Europe de l'Est il y a plus de deux siècles, ainsi que l'Asie Mineure et le sud de la Russie (Tokro et al., 2014). L'expansion mondiale de *B. germanica* a été largement favorisée par les échanges commerciaux internationaux (Martin et al., 2015) (Figure 1). En particulier, le transport maritime a joué un rôle clé dans l'infestation des grandes zones portuaires et des agglomérations avoisinantes, favorisant ainsi la dispersion de l'espèce à l'échelle mondiale (Arruda et al., 2001).

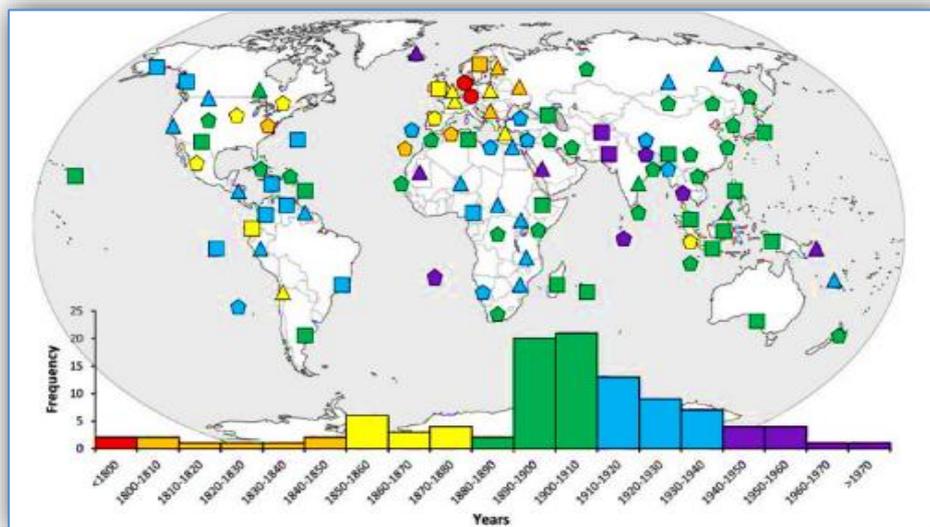


Figure 1. Carte des premières apparitions signalées de *Blattella germanica* dans le monde. (Tang et al., 2019).

2. Identification et taxonomie de *Blattella germanica*

2.1. Identification de *Blattella germanica*

B. germanica est un insecte nuisible ubiquiste, largement associé aux environnements anthropiques. Initialement originaire d'Asie, cette espèce de petite taille s'est désormais dispersée à l'échelle mondiale (Smith et al., 2023).

Les blattoptères représentent un groupe d'insectes ancien et évolutivement performant. Leur diversification remonte au premier grand rayonnement des insectes, avec des formes primitives datant d'environ 350 millions d'années, dès le début du Carbonifère. Leur morphologie et leurs adaptations semblent avoir atteint un état optimisé précocement dans leur histoire évolutive (Cochran, 2009).

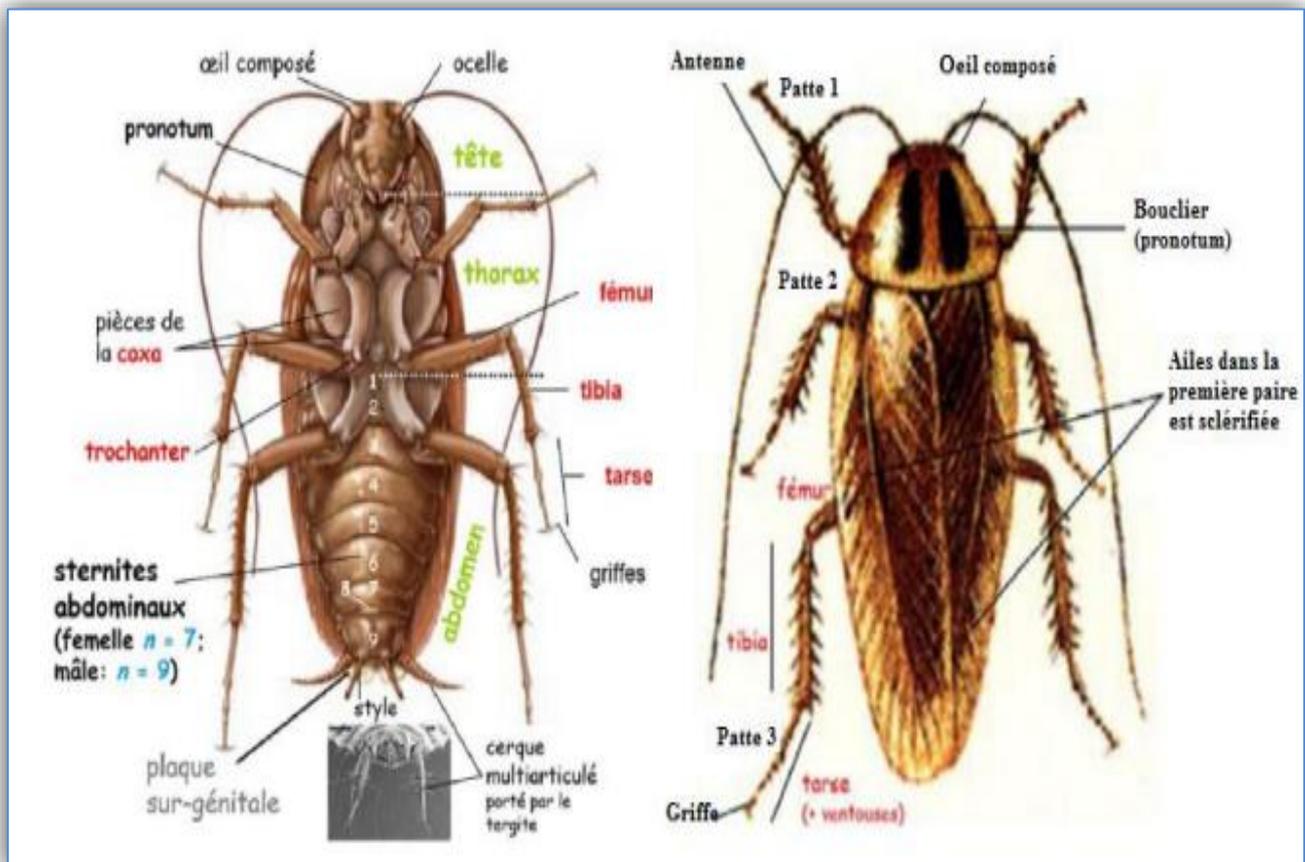


Figure 2. Vue dorsale et ventrale d'un adulte mâle de *B. germanica* (Agnès mourier.,2014).

Tableau 1. Caractéristiques de *Blattella germanica* (Cochran, 2009).

| Caractéristiques morphologiques | Caractéristiques biologiques | Habitat |
|---|---|--|
| <p>✦ Taille : Moins de 1,5 cm.</p> <p>✦ Couleur : Brun clair à jaunâtre, deux bandes noires sur le pronotum.</p> <p>✦ Corps : Ovale, aplati, brillant.</p> <p>✦ Antennes : Longues, fines, multi-segmentées (très sensibles).</p> <p>✦ Pattes : Épineuses, adhérentes, favorisant l'agilité.</p> | <p>✦ Oothèque : Capsule Transportée par la femelle, contenant jusqu'à 40 œufs.</p> <p>✦ Activité : Nocturne, rapide.</p> <p>✦ Reproduction : Fréquente en milieux chauds et humides.</p> | <p>✦ Milieux : Chauds, sombres, humides.</p> <p>✦ Présence : Cuisines, salles de bains, fissures murales.</p> <p>✦ Adaptation : Très grande tolérance aux environnements humains.</p> |

2.2. Taxonomie de *Blattella germanica*

Les *Blattodea* (du grec blatt, signifiant nuire) (Roger, 2010) sont couramment appelées cafards ou cancrelats (Rust et al., 1995 ; Maiza et al., 2011), ainsi que « Grelous » ou « Bakhouches » en dialecte local (Habbachi, 2013). Elles portent également les noms de coquerelles au Canada et de ravets aux Antilles. Ces insectes ptérygotes, appartenant à l'infra-classe des Néoptères, se distinguent par une évolution différenciée de leurs ailes antérieures et postérieures à l'âge adulte (Bell et al., 2007).

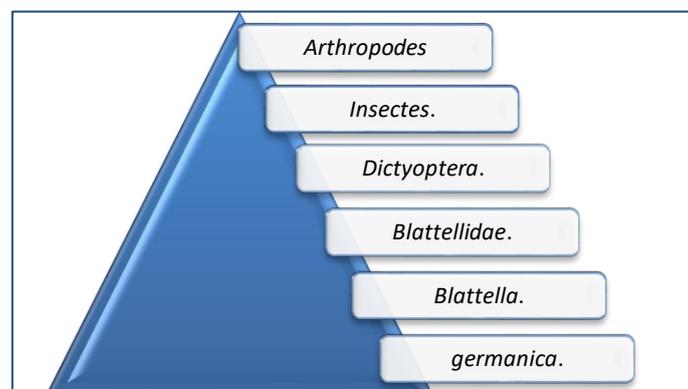


Figure 3. Représentation pyramidale de la classification de *B. germanica* de l'embranchement à l'espèce (Cornwell, 1968).

3. Cycle biologique

B. germanica suit une métamorphose incomplète (**Gordon, 1996**). Les mâles peuvent se reproduire plusieurs fois, tandis que les femelles s'accouplent en général une seule fois (**Cochran, 1979**). Chaque femelle génère jusqu'à huit oothèques, contenant chacune jusqu'à 48 embryons (**Gordon, 1996**). Après une incubation de 17 à 22 jours, l'éclosion libère des juvéniles dépourvus d'ailes, qui traversent six transformations successives avant d'atteindre leur maturité (**Wattiez et Beys, 1999**). La phase finale du développement larvaire dure environ 40 jours chez les mâles et 41 jours chez les femelles, avant la dernière mue menant à l'état adulte. La durée de vie des adultes est estimée à 128 jours pour les mâles et 153 jours pour les femelles (**Cornwell, 1968**).

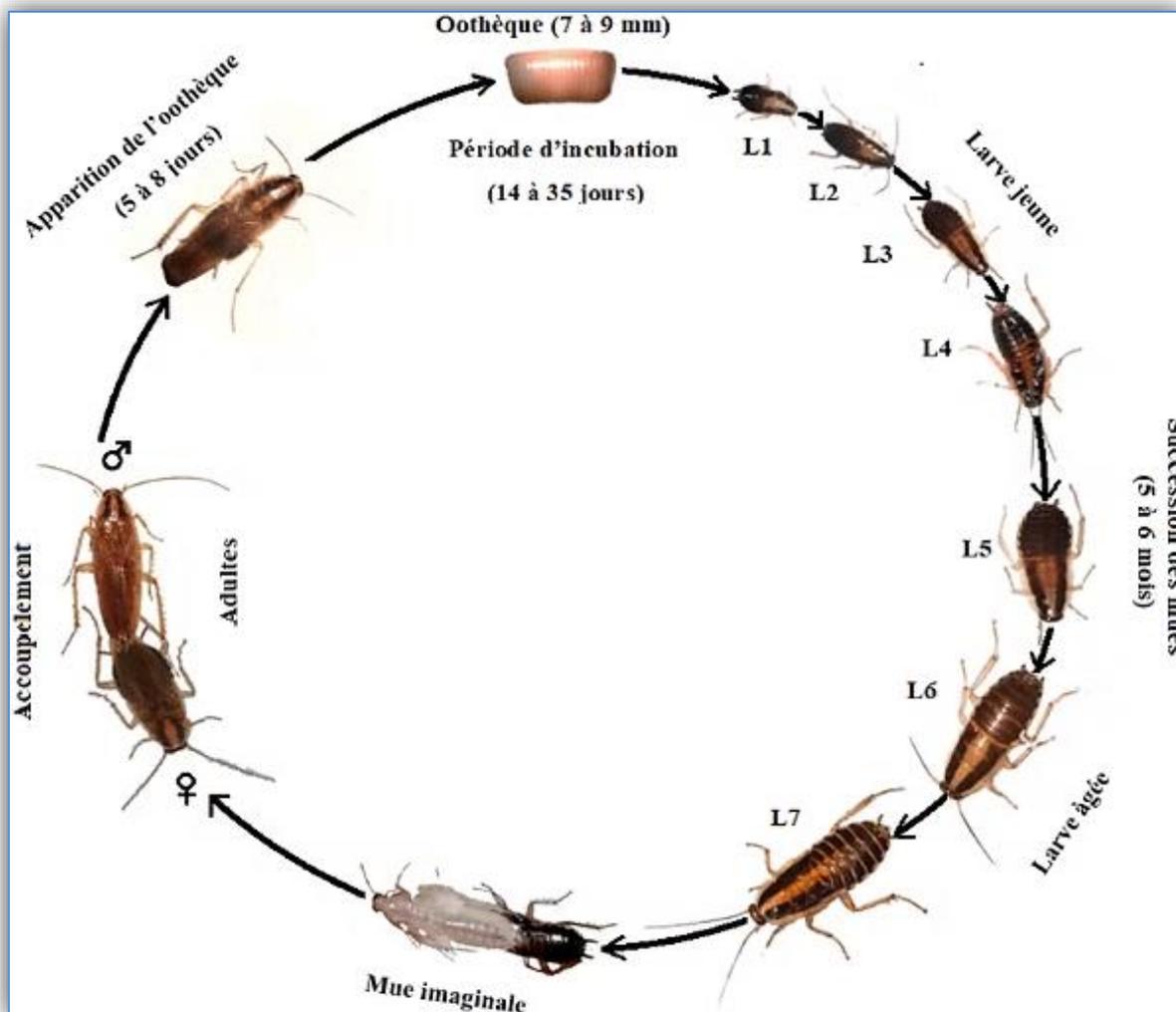


Figure 4 : Cycle de vie de *B. germanica* (**Cornwell, 1968**).

4. Impact sanitaire des blattes en tant que vecteurs de pathogènes

Les blattes constituent un réservoir important de pathogènes en raison de la texture de leur cuticule, idéale pour la fixation des germes, ainsi que de la présence de ces derniers dans leur intestin. En se déplaçant sur le sol à la recherche de nourriture ou de chaleur, elles contaminent les surfaces et les aliments soit directement, soit par leurs excréments, favorisant ainsi la transmission de divers agents pathogènes. La consommation de ces aliments infectés peut entraîner des infections gastro-intestinales telles que des gastroentérites et des diarrhées (Mullen et Duren, 2009). Parmi les micro-organismes transmis, on retrouve des virus, des champignons, des parasites ainsi que plusieurs bactéries d'importance médicale comme *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Staphylococcus* (Mullen et Duren, 2009 ; Malik et al., 2013), *Pseudomonas* spp. (Mullen et Duren, 2009), *Streptococcus* spp, *Shigella* spp. (Malik et al., 2013), *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis* et *Yersinia pestis* (Tatfeng et al., 2005). De plus, leurs excréments, mues et salives peuvent provoquer des réactions allergiques, de l'eczéma et de l'asthme, parfois sévères et nécessitant une prise en charge médicale (Donald et Cochran, 2009). Seules quelques espèces de blattes sont considérées comme nuisibles à l'échelle mondiale, mais elles jouent un rôle clé dans la transmission de pathogènes infectieux.

II. Les Entérobactéries

Les Entérobactéries, ou famille des Enterobacteriaceae, représentent un groupe bactérien complexe et diversifié. Cette famille taxonomique englobe une quarantaine de genres distincts et plusieurs dizaines d'espèces bactériennes. Leur dénomination tire son origine du terme "entérocytes", les cellules qui tapissent la paroi intestinale, ce qui reflète leur habitat naturel préférentiel. En effet, ces bactéries sont principalement connues pour leur présence dans le système digestif, où elles peuvent adopter deux rôles principaux : Celui d'habitants inoffensifs (commensaux) ou de potentiels agents pathogènes susceptibles de provoquer des infections (pilly, 2013).

1. Caractéristiques générales des Entérobactéries

Les Entérobactéries partagent un ensemble de caractéristiques morphologiques et biochimiques distinctives :

Tableau 2. Caractéristiques générales des Entérobactéries (Le Minor et Veron, 1989 ; Joly et Reynaud, 2002 ; Avril *et al.*, 2000 ; Ndiaye, 2005 ; Kassama et Hamadi, 2013 *El Bouamri*, 2017).

| Catégorie | Détails |
|-------------------|---|
| 1. Morphologiques | <ul style="list-style-type: none"> • Bacilles Gram négatif de 2–3 µm de long × 0,6 µm de large. • Les <i>Proteus</i> présentent un polymorphisme marqué: formes longues, filamenteuses ou courts bacilles droits. • Mobilité par ciliature péritriche pour la majorité. • Espèces immobiles: <i>Klebsiella</i>, <i>Shigella</i>, <i>Yersinia pestis</i>. • <i>Klebsiella</i>: Présence de capsule. • Espèces pathogènes humaines: Fimbriae/pili (adhésion). |
| 2. Cultureux | <ul style="list-style-type: none"> • Croissance sur milieu minimal, sans facteur de croissance supplémentaire. • Température optimale: 35–37 °C. • Plage tolérée: 20–40 °C. • Temps de division: 20–40 min. • Croissance max en < 24 h. • Sur gélose: Colonies lisses et régulières, taille ≈ 2 mm (sauf <i>Yersinia</i>). • <i>Proteus</i>: Envahit la gélose, tapis uniforme. • <i>Klebsiella</i>: Colonies souvent muqueuses. • En bouillon: Trouble homogène + ondes moirées à l'agitation. |
| 3. Antigéniques | <ul style="list-style-type: none"> • Antigène O: Dans les LPS; stable à 100 °C, alcool, acides; agglutination lente, granuleuse. • Antigène H: Flagellaire, thermolabile, agglutination rapide, floconneuse. • Antigène K: Capsulaire, polysaccharidique; types L, A, B (<i>E. coli</i>), Vi (<i>Salmonella</i>, <i>Citrobacter</i>); rend les souches inagglutinables; détruit par 2 h d'ébullition; comprend aussi les adhésines pili (ex. K88, K99). • Antigène Kunin: Antigène commun aux Entérobactéries, marqueur moléculaire spécifique. |
| 4. Biochimiques | <ul style="list-style-type: none"> • Métabolisme protéique production d'indole, dégradation du |

| | |
|--|---|
| | <p>tryptophane.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Présence ou absence d'uréase. • Fermentation des sucres: Glucose, lactose, saccharose. • Utilisation du citrate comme seule source de carbone. • Enzymes spécifiques: Décarboxylases, désaminases. • Production d'H₂S et de gaz. |
|--|---|

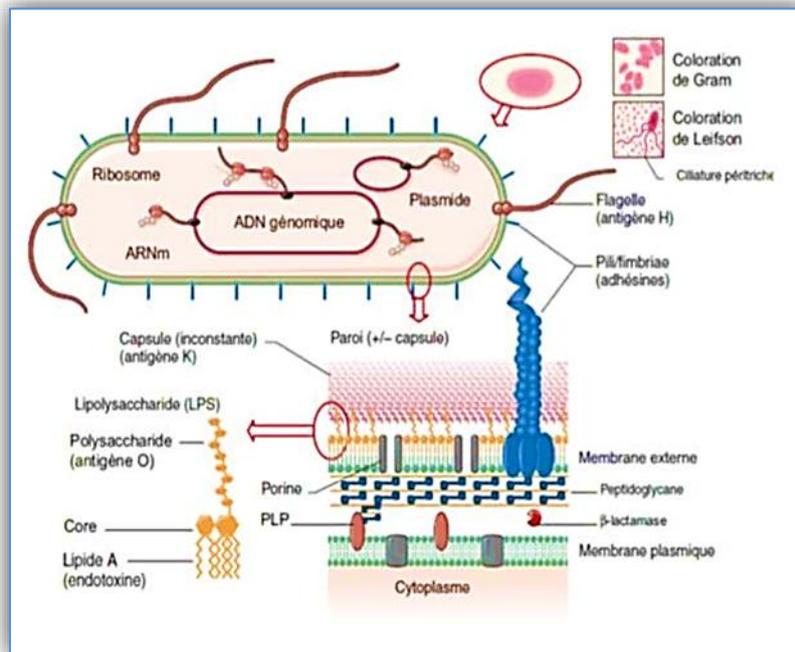


Figure 5. Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae (Denis et al., 2007).

2. Classification taxonomique des Entérobactéries

Les Entérobactéries appartiennent au domaine des *Eubacteria* et sont classées dans l'embranchement des *Proteobacteria*, au sein de la classe des *Gammaproteobacteria*. Elles relèvent de l'ordre des *Enterobacterales* et plus précisément de la famille des Enterobacteriaceae, qui regroupe une grande diversité bactérienne, avec plus de 40 genres et environ 1700 espèces recensées (Denis, 2007).

Leur classification repose sur une approche combinée fondée sur :

- ✓ Des caractères phénotypiques, incluant :
 - La capacité de fermentation des sucres.
 - La production de sulfures.
 - La présence ou l'absence d'enzymes métaboliques spécifiques.

✓ Des caractères génotypiques, basés sur :

- Le ribotypage.
- L'hybridation ADN/ADN (Denis, 2007).

Sur le plan clinique, 12 genres sont particulièrement importants, parmi lesquels : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia*. Ces genres incluent de nombreuses espèces pathogènes pour l'humain et font l'objet d'un suivi microbiologique constant en milieu hospitalier (Pilet et al., 1979).

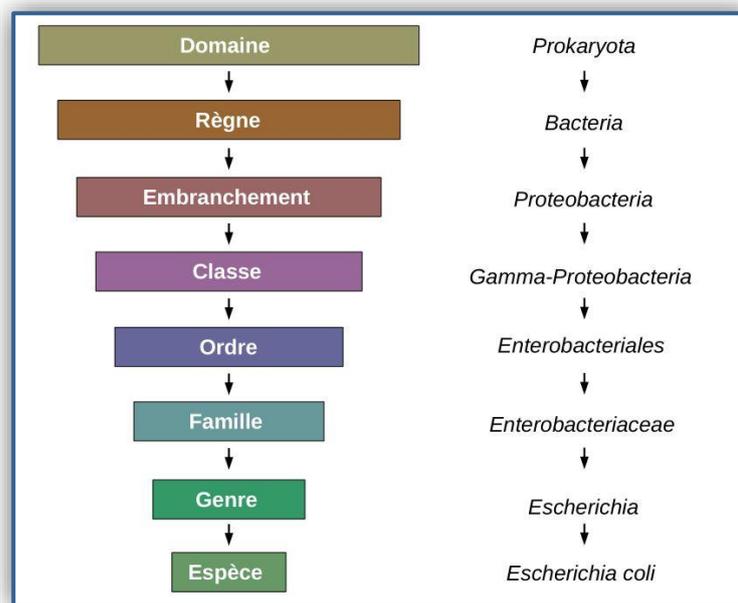


Figure 6. Classification taxonomique des Entérobactéries (Denis, 2007).

3. Habitat et distribution des Entérobactéries

Les Entérobactéries se distinguent par leur extraordinaire capacité de colonisation, présentant un habitat d'une diversité remarquable. Ces bactéries ubiquitaires prolifèrent aussi les environnements naturels tels que : le sol, les écosystèmes aquatiques et certaines denrées alimentaires que dans les milieux biologiques complexes. On les retrouve notamment dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux. Au sein du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux (Moussa et Moussaoui, 2016). Dans le segment terminal de l'intestin, les Entérobactéries constituent une composante significative du microbiote, totalisant plus de 10% de la population bactérienne globale (Guiraud, 2012).

4. Pouvoir pathogène des Entérobactéries

On peut classer les Entérobactéries pathogènes en deux groupes distincts :

➤ **Les pathogènes spécifiques** : Comprenant *Salmonella typhi*, *Shigella* spp et *Yersinia pestis*, qui sont respectivement responsables de la fièvre typhoïde, la dysenterie et la peste noire. Ces microorganismes se caractérisent par leur capacité à produire une variété de facteurs de virulence hautement efficaces.

➤ **Les pathogènes opportunistes** : Dont les représentants les plus fréquents sont *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp et *Enterobacter* spp. Ces bactéries peuvent provoquer des infections cliniquement significatives, particulièrement lorsque les défenses de l'hôte sont compromises (Betty et al., 2007).

5. Facteurs de virulence

Les Entérobactéries possèdent une diversité de facteurs de virulence, dont certains sont présents dans l'ensemble des genres tandis que d'autres se limitent à des souches pathogènes spécifiques. Parmi les mécanismes de pathogénicité communs à la famille des Entérobactéries, on retrouve notamment (Murray et al., 2015) :

- **Endotoxine** : L'endotoxine constitue un facteur de virulence que l'on retrouve communément chez les bactéries à Gram négatif aérobies ainsi que chez certaines bactéries anaérobies. Son activité toxique est attribuable au lipide A, composant du lipopolysaccharide (LPS), qui est libéré dans l'environnement lors de la destruction de la cellule bactérienne (Murray et al., 2015).
- **Capsule** : Les entérobactéries qui possèdent une capsule bénéficient d'une protection contre la phagocytose grâce à leurs antigènes capsulaires de nature hydrophile. Ces structures repoussent la surface hydrophobe des cellules phagocytaires, permettant ainsi aux bactéries d'échapper à ce mécanisme de défense immunitaire de l'hôte (Murray et al., 2015).
- **Variation des phases antigéniques** : Les Entérobactéries contrôlent génétiquement l'expression de leurs différents antigènes, notamment l'antigène O (somatique), l'antigène K (capsulaire) et l'antigène H (flagellaire). Ces microorganismes peuvent moduler alternativement l'expression de ces structures antigéniques, phénomène connu sous le nom de variation de phase. Ce mécanisme constitue une stratégie de défense importante qui permet aux bactéries d'échapper à la reconnaissance par le système

immunitaire de l'hôte, les protégeant ainsi contre la destruction cellulaire (Murray et al., 2015).

- **Système de sécrétion de type III** : De nombreuses Entérobactéries partagent un mécanisme effecteur appelé système de sécrétion de type III, qui fonctionne comme une véritable seringue moléculaire. Ce complexe, constitué d'environ vingt protéines différentes, permet l'injection directe de facteurs de virulence dans les cellules eucaryotes de l'hôte lors du contact entre la bactérie et ces cellules. L'absence de ce système entraîne une diminution significative de la virulence bactérienne, soulignant son rôle crucial dans le processus infectieux (Murray et al., 2015).
- **Résistance aux antimicrobiens** : Avec l'introduction progressive de nouveaux antibiotiques, les Entérobactéries ont développé des mécanismes de résistance à ces agents thérapeutiques. Cette résistance est généralement encodée par des plasmides transmissibles qui peuvent être échangés entre différentes espèces, genres et même familles de bactéries. Ces dernières années, l'accumulation de gènes de résistance a conduit à l'émergence des entérobactéries multirésistantes, particulièrement dans le genre *Klebsiella*, certaines souches étant désormais capables de résister à pratiquement toutes les classes d'antibiotiques disponibles (Murray et al., 2015).

6. Les infections nosocomiales

Une infection est dite nosocomiale lorsqu'elle apparaît chez un patient au cours de son hospitalisation ou après celle-ci, dans le cadre d'une prise en charge médicale, qu'elle soit diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou encore éducative. Cette infection ne doit pas être présente, ni en phase d'incubation, au moment où débute la prise en charge du patient. En d'autres termes, l'état infectieux doit être nouveau et acquis dans le contexte des soins reçus.

Toutefois, dans les situations où il est difficile de déterminer avec exactitude si l'infection était déjà présente au moment de l'admission, un critère temporel est souvent utilisé pour distinguer une infection nosocomiale : Si celle-ci se manifeste après un délai minimum de 48 heures suivant l'admission, ou après une période excédant la durée d'incubation usuelle de l'agent pathogène concerné, elle est alors considérée comme d'origine nosocomiale. Ce cadre de définition permet ainsi de mieux cerner la part des infections acquises en milieu de soins (Bouguenoun, 2017).

Chapitre 02 :

Les Antibiotiques et

l'Antibiorésistance

I. Les Antibiotiques

Les antibiotiques sont des agents ayant une toxicité sélective grâce à leur mode d'action spécifique. À faible dose, ils peuvent inhiber la croissance des micro-organismes ou les détruire complètement (**Mangin, 2016**). Bien que, techniquement, le terme « antibiotique » désigne uniquement les substances produites naturellement par des micro-organismes tels que les champignons et les bactéries, il englobe aussi les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques (**Pebret, 2003**).

Les antibiotiques antibactériens, en particulier, agissent en ciblant sélectivement certaines voies métaboliques spécifiques aux bactéries, sans provoquer de toxicité notable chez les organismes supérieurs (**Nauciel et Vildé, 2005**). En fonction de leur mode d'action, ils peuvent être classés comme bactéricides, lorsqu'ils détruisent les bactéries, ou bactériostatiques, lorsqu'ils inhibent simplement leur croissance (**Pebret, 2003**).

1. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques se classent selon plusieurs critères, incluant leur origine, leur structure chimique, leur mécanisme d'action et leur spectre d'activité. Cette classification permet de mieux comprendre leur mode d'action spécifique et leur efficacité contre différents types de micro-organismes (**Yala et al., 2001**).

1.1. Les Bêta-Lactamines (Classe Principale)

Les bêta-lactamines représentent la famille d'antibiotiques la plus importante et la plus utilisée à travers le monde, en raison de leur large spectre antibactérien, de leur faible toxicité et de leur efficacité élevée contre une grande variété d'infections bactériennes. Ces antibiotiques agissent de manière bactéricide en ciblant spécifiquement les bactéries en phase de croissance active. Ils se caractérisent par un cycle bêta-lactame commun et des chaînes latérales variables qui influencent leurs propriétés pharmacocinétiques. Environ 55 % des infections bactériennes sont traitées avec ces antibiotiques à travers le monde (**Nauciel et Vildé, 2005**).

1.1.1. Classification des Bêta-Lactamines

- Les Pénames

Les pénames constituent une sous-famille des bêta-lactamines comprenant plusieurs types de pénicillines, notamment la pénicilline G, les pénicillines M, ainsi que les pénicillines A,

qui incluent les aminopénicillines, carboxypénicillines, acyl-amino-pénicillines et uréidopénicillines (Mouton *et al.*, 2000). Les aminopénicillines, telles que l'ampicilline et l'amoxicilline, ciblent certains bacilles à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*), mais restent sensibles aux bêta-lactamases (Pebret, 2003). Ces antibiotiques partagent tous une structure similaire à la pénicilline G, basée sur un noyau d'acide 6-aminopénicillanique (6-APA).

- **Céphalosporines**

Les céphalosporines, membres de la famille des bêta-lactamines, se caractérisent par leur large spectre antibactérien, en particulier contre les bacilles à Gram négatif. Bien qu'elles partagent un noyau commun avec les pénicillines, leur structure chimique différente leur confère une efficacité élargie, notamment contre les bactéries à Gram négatif (Grappin *et al.*, 2007).

Actuellement, il existe quatre générations de céphalosporines classées selon leur date de mise sur le marché et leur spectre d'activité :

- **Première génération (C1G)** : Inclut la céfalotine et la céfazoline, avec une activité limitée contre les bacilles à Gram négatif (Mouton *et al.*, 2000).
- **Deuxième génération (C2G)** : Comprend la céfuroxime, le céfamandole et la céfoxitine. Elles se distinguent par une meilleure résistance aux β -lactamases, un spectre d'action élargi, une efficacité à faible concentration et une bonne diffusion tissulaire (Allain, 2008).
- **Troisième génération (C3G)** : Représentée par le céfotaxime, la ceftazidime et la ceftriaxone. Elles offrent un net progrès contre les germes à Gram négatif grâce à leur grande stabilité face aux bêta-lactamases, permettant une activité bactéricide accrue (Bégué et Astruc, 1999).
- **Quatrième génération (C4G)** : Actives contre les entérobactéries résistantes aux C3G via la surproduction de céphalosporinase, mais inefficaces contre les bêta-lactamases à spectre étendu. Exemples : Céfépime, céfpirome (Hincky, 2008).

- **Carbapénèmes**

Les carbapénèmes, se distinguent par leur très large spectre d'activité antibactérienne. Ils sont efficaces contre de nombreuses espèces bactériennes à Gram positif et négatif et résistent à la majorité des β -lactamases, y compris celles à spectre élargi (Nauciel et Vildé, 2005).

- **Monobactames**

Les monobactames, représentés principalement par l'aztréonam, possèdent une activité ciblée sur les bacilles à Gram négatif, comparable à celle des céphalosporines de troisième génération, mais restent inactifs contre les bactéries à Gram positif et les anaérobies. Par ailleurs, les inhibiteurs de β -lactamases, tels que les clavames (acide clavulanique) et les pénicillines-sulfones (tazobactam et sulbactam), agissent en tant qu'inhibiteurs compétitifs des β -lactamases actives sur les pénicillines. Bien qu'ils ne possèdent pas d'activité antibactérienne propre, ils sont utilisés en combinaison avec d'autres β -lactamines (comme l'amoxicilline, la ticarcilline et la pipéracilline) pour renforcer leur efficacité (**Cissé Hawa Kansaye, 2020**).

1.1.2. Mécanisme d'action des Bêta-Lactamines

Les β -lactamines sont des antibiotiques bactéricides qui agissent uniquement sur les bactéries en phase de croissance active. Ils inhibent les protéines de liaison aux pénicillines (PLP), entraînant des anomalies structurelles bactériennes et la lyse cellulaire (**Mouton et al., 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005**). Ces antibiotiques, analogues structuraux de la terminaison peptidyl-D-alanyl-D-alanine, se lient de manière irréversible aux PLP, inhibant ainsi la synthèse du peptidoglycane et induisant la mort cellulaire (**Benmesmoudi, 2015**).

1.2. Autres classes d'antibiotiques

- **Fosfomycine**

La fosfomycine est un antibiotique naturel à large spectre, à action bactéricide lente. Elle inhibe la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne et est efficace contre la plupart des Entérobactéries. Toutefois, en cas d'infections systémiques, elle ne doit pas être utilisée en monothérapie (**Pebret, 2003 ; Lecomte, 1999**).

- **Aminosides**

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides constitués de sucres liés à un hexose central par une liaison glycosidique. Ils possèdent un large spectre d'activité couvrant les bactéries à Gram positif et négatif et sont principalement utilisés en milieu hospitalier pour traiter les infections sévères. Ils sont souvent associés à d'autres antibiotiques, notamment les β -lactamines (**Vaubourdolle, 2007**).

- **Sulfamides et Triméthoprim**

Les sulfamides sont des antibiotiques synthétiques à large spectre, efficaces contre les Entérobactéries. Ils agissent comme des antimétabolites en inhibant la synthèse des acides nucléiques en prenant la place de l'acide folique essentiel (**Stora, 2010**). Associés au triméthoprim (Cotrimoxazole), ils bloquent deux étapes de la synthèse des folates, créant un effet synergique avec une bonne diffusion (**Nauciel et Vildé, 2005**).

- **Quinolones**

Les quinolones sont des antibactériens synthétiques, bactéricides et à large spectre, avec une bonne absorption et diffusion tissulaire, particulièrement efficaces contre les Entérobactéries (**Stora, 2010**). Elles se divisent en deux catégories :

- **Quinolones urinaires** : Très actives contre *Escherichia coli* et d'autres bactéries responsables d'infections urinaires, avec l'acide nalidixique comme composé principal.
- **Fluoroquinolones** : Incluant la pefloxacin, l'ofloxacin et la ciprofloxacine, elles ont une activité renforcée contre les germes résistants aux autres classes d'antibiotiques (**Stora, 2010**).

1.2.1. Mécanisme d'action des antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances à toxicité sélective qui, à faible dose, inhibent la croissance des micro-organismes ou les détruisent. Ils peuvent être d'origine naturelle, produits par des champignons ou des bactéries, ou synthétisés chimiquement (**Mangin, 2016**).

Tableau 3. Mécanismes d'action des antibiotiques (Nauciel et Vildé, 2005 ; Soussy, 2007).

| Antibiotiques | Mécanismes | Action |
|----------------------------|--|----------------------|
| Fosfomycines | Inhibition de la synthèse du péptidoglycane. | Bactéricide |
| | Inhibition des PLP (activité transpeptidase), par analogie structurale du cycle β -lactame avec le dipeptide terminal D-Ala-D-Ala du précurseur disaccharide-pentapeptide. | |
| | Fixation sur le dipeptide terminal D-Ala D-Ala du disaccharide pentapeptide empêchant, par encombrement stérique, l'action des transglycosylases. Inhibition de la pyruvyl-trasférase cytoplasmique, qui permet la formation d'acides N-acétyl Muramique. | |
| Aminosides | Inhibition de la synthèse protéique | Bactéricide |
| | Fixation sur la sous-unité 30S et/ou 50S du ribosome ; inhibition de la translocation du peptide en formation. | |
| Triméthoprim sulfamides | Inhibition de la synthèse des acides Nucléiques | Bactériostase |
| | Inhibition de la synthèse des folates, précurseur des bases puriques. | |
| Quinolones | Formation d'un complexe ADN-Gyrase Quinolone ; arrêt de la synthèse de L'ADN. | Bactéricide |

II. L'antibiorésistance

La résistance aux antibiotiques repose sur la capacité des bactéries à modifier leur structure ou leur métabolisme pour survivre malgré la présence d'antibiotiques autrement dit, les germes ne sont plus détruits et leur croissance se poursuit (**Lien, 2018**). Plus précisément, elle correspond à la capacité des bactéries à continuer de se multiplier en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe la majorité des autres souches de la même espèce (**Michel-Briand, 2009**).

1. Types de résistance bactérienne

La résistance bactérienne aux antibiotiques se décline en deux formes : naturelle et acquise.

- **Résistance naturelle**

La résistance naturelle, ou intrinsèque, désigne la capacité innée de toutes les souches d'une espèce ou d'un genre bactérien à résister à un antibiotique donné, sans exposition préalable (**Kennouche, 2016**). Elle repose sur des caractéristiques structurelles ou fonctionnelles propres à ces bactéries, leur conférant une tolérance, voire une insensibilité complète. Cette forme de résistance est généralement portée par le chromosome bactérien, se transmet verticalement à la descendance et peut parfois servir à l'identification de l'espèce (**Michel-Briand, 2009**). Elle se manifeste de manière uniforme chez toutes les souches d'une même espèce, indépendamment de tout contact antérieur avec l'antibiotique (**Vitte coq et al., 2016**).

- **Résistance acquise**

La résistance acquise désigne la capacité de certaines souches bactériennes, initialement sensibles, à devenir résistantes à un ou plusieurs antibiotiques. Ce phénomène repose sur des modifications génétiques qui surviennent de deux manières :

- **Par mutation chromosomique** : La bactérie subit une modification spontanée de son propre matériel génétique, entraînant une résistance interne.
- **Par acquisition de gènes étrangers** : La bactérie intègre du matériel génétique provenant d'autres micro-organismes, via des éléments mobiles comme les plasmides, transposons ou intégrons. Cela permet l'apparition de résistances exogènes (**Vitte coq, 2007**).

Contrairement à la résistance naturelle, qui est une caractéristique commune à toutes les souches d'une espèce, la résistance acquise ne concerne qu'une partie des bactéries. Elle évolue avec le temps, influencée par l'usage répété des antibiotiques, la localisation géographique et les éventuelles épidémies (Michel-Briand, 2009).

Ce processus favorise la sélection des bactéries résistantes, qui deviennent majoritaires au sein de la population bactérienne. Ainsi, l'acquisition de gènes de résistance ou la survenue de mutations permet aux bactéries d'échapper à l'action des antibiotiques et de survivre malgré le traitement (Amaigri, 2021).

2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Un aperçu général de ces mécanismes est illustré dans la figure 7, offrant une vue d'ensemble des différentes voies de résistance.

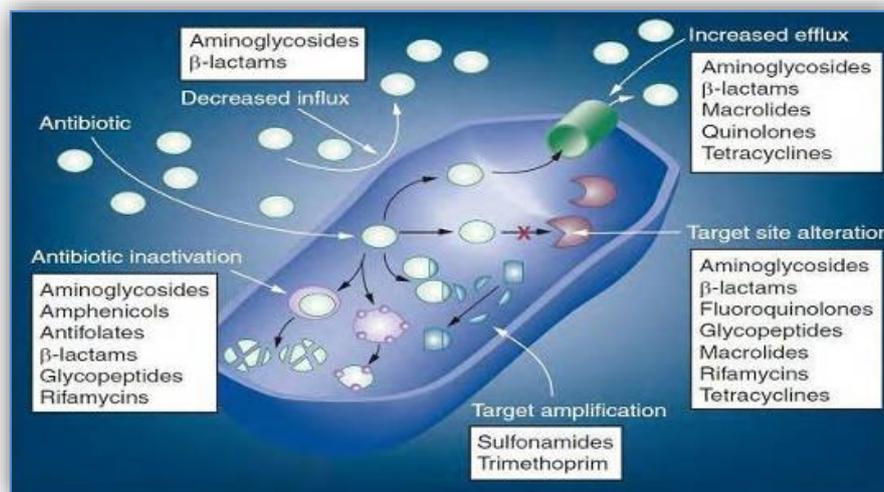


Figure 7. Mécanismes de résistance (Thomsen, 2016).

2.1. Inactivation enzymatique : Les Bêta-Lactamases

L'un des mécanismes les plus répandus et efficaces chez les bactéries repose sur la sécrétion d'enzymes capables d'inactiver l'antibiotique avant même qu'il ne pénètre dans la cellule. Ce mécanisme concerne principalement les β -lactamines et les aminosides (Mangin, 2016).

Les β -lactamases restent le mécanisme central de résistance, tant naturelle qu'acquise, contre les β -lactamines. Elles agissent en ouvrant le noyau β -lactame par hydrolyse de la

liaison amide, formant ainsi un intermédiaire amaigri qui se dégrade ensuite en un composé inactif (Philippon, 2008). Ce mécanisme est particulièrement répandu chez les Entérobactéries (Bonnet, 2006).

2.1.1. Classification

Les β -lactamases sont nombreuses on distingue :

- **Les pénicillinases**

Les pénicillinases sont des enzymes qui inactivent les pénicillines de type A et G, tout en restant inefficaces contre les pénicillines de type M, comme l'oxacilline et la cl oxacilline, ainsi que contre les céphalosporines (Pourrait et Martin, 2005).

- **Les céphalosporines**

Ces β -lactamases chromosomiques, produites naturellement à faible niveau par certaines espèces bactériennes, sont localisées dans l'espace périplasmique. On les retrouve notamment chez *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas* et *Acinetobacter*. Elles confèrent à ces bactéries une résistance aux aminopénicillines et aux céphalosporines de première génération (C1G), tout en préservant leur sensibilité à la majorité des céphalosporines de deuxième (C2G) et troisième génération (C3G), ainsi qu'aux céphalosporines, monobactames et carbapénèmes (Caliano F et Lacroix R., 2011).

- **Les carbapénèmes**

Ces enzymes, d'origine plasmidique, sont capables d'hydrolyser les carbapénèmes. Elles se retrouvent particulièrement chez *Pseudomonas* (Caliano F et Lacroix R., 2011).

- **Les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE)**

Les BLSE proviennent de mutations des pénicillinases. Elles se transmettent via des plasmides et restent sensibles aux inhibiteurs enzymatiques (Emmanuel, 2004).

Elles détruisent efficacement les pénicillines et certaines céphalosporines de première génération. Les mutations élargissent leur action aux céphalosporines de troisième génération (Ceftazidime, céfotaxime) et aux monobactames (Aztréonam), mais elles ne touchent pas les Céfoxitine ni les carbapénèmes (Vora et al., 2010).

Les β -lactamases à spectre élargi (BLSE) se divisent en plusieurs types moléculaires principaux, chacun présentant des caractéristiques distinctes :

- **TEM** : Initialement identifiées chez *Escherichia coli*, ces enzymes confèrent une résistance aux pénicillines et, suite à des mutations, à certaines céphalosporines de troisième génération (**Jacoby et Munoz-Price, 2005**).
- **SHV (Sulphydrile Variable)** : Principalement retrouvées chez *Klebsiella pneumoniae*, ces β -lactamases partagent des similitudes avec les TEM mais possèdent une efficacité accrue contre les céphalosporines (**Jacoby et Munoz-Price, 2005**).
- **CTX-M** : Ce groupe, plus récent et répandu, est particulièrement actif contre la cefotaxime et est majoritairement plasmidique, facilitant sa dissémination entre différentes espèces bactériennes (**Bonnet, 2006**).

2.2. Autres mécanismes de résistance

- **Modification de la cible**

La modification ou le remplacement de la cible de l'antibiotique empêche ce dernier de se fixer efficacement, le rendant ainsi inactif. Cette altération peut résulter de l'acquisition de gènes codant pour une enzyme modifiant la cible, ou d'une mutation dans la séquence nucléotidique de celle-ci. Ce mécanisme est particulièrement répandu chez les Cocci à Gram positif, comme *Staphylococcus aureus*, mais reste plus rare chez les bactéries à Gram négatif (**Mangin, 2016**).

- **Réduction de la perméabilité cellulaire**

Chez les bactéries à Gram négatif, la résistance peut résulter d'une modification des porines des canaux transmembranaires permettant l'entrée des antibiotiques. La structure plus complexe de leur enveloppe externe limite déjà la pénétration des agents antibactériens. Une perte ou une altération de ces porines bloque davantage l'accès des antibiotiques, ce qui peut affecter plusieurs familles d'antibiotiques partageant le même canal ou être spécifique à une seule. Par exemple, *Pseudomonas aeruginosa* développe une résistance à l'imipénème suite à la perte de la porine dédiée aux carbapénèmes (**Mangin, 2016**).

- **Pompes à efflux**

Le mécanisme d'efflux permet aux bactéries d'expulser activement les antibiotiques hors de la cellule, réduisant ainsi leur efficacité. Il constitue le principal mode de résistance à la tétracycline chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Des pompes d'efflux spécifiques existent également pour le chloramphénicol chez les bactéries à Gram négatif. Ce processus actif nécessite une source d'énergie, soit sous forme d'ATP, soit grâce à un gradient électrochimique transmembranaire (**Mangin, 2016**).

Chapitre 03 :
Matériel Et Méthodes

1. Cadre d'étude

Ce modeste travail visant à analyser la résistance aux C3G chez les Entérobactéries isolées de *Blattella germanica* d'origine hospitalière, a été réalisé au sein du laboratoire d'hygiène de la Direction de la Santé et de la Population (DSP) de la wilaya de Guelma.

2. Zone d'échantillonnage et période d'étude

L'échantillonnage de cette étude a été réalisé au sein d'un établissement hospitalier, couvrant divers services, notamment la cuisine, les sanitaires, la chirurgie, la médecine, l'oto-rhino-laryngologie (ORL) et les urgences, durant les mois de Novembre 2024 et Mars 2025.

3. Collecte des blattes

Au total 57 spécimens de *Blattella germanica* ont été prélevés dans divers services hospitaliers.

Le tableau suivant présente la répartition du nombre de blattes selon les services de prélèvement.

Tableau4. Répartition du nombre de blattes collectées dans différents services d'un établissement hospitalier.

| Service de collection | Nombre total de blattes |
|-----------------------|-------------------------|
| Cuisine | 6 |
| Sanitaire | 8 |
| Chirurgie | 15 |
| Médecine | 12 |
| Urgence | 7 |
| ORL | 9 |
| Nombre total | 57 |

La capture de *B. germanica* a été réalisée dans des zones à forte infestation préalablement identifiées, conformément à la méthode décrite par **Mogue et al. (2016)**. Les spécimens ont été collectés manuellement à l'aide de gants stériles et manipulés avec une pince entomologique afin de minimiser le stress et les risques de blessures. En cas d'évasion, une récupération manuelle a été effectuée avec précaution pour préserver leur intégrité morphologique. Après la collecte, seules les blattes en état physiologique optimal ont été

sélectionnées et placées dans des flacons en plastique stériles, garantissant leur préservation pour les analyses ultérieures. Pour chaque service, cinq flacons stériles ont été utilisés, chacun contenant entre un et trois spécimens, et plusieurs paires de gants stériles ont été employées afin de prévenir toute contamination croisée. Cette approche rigoureuse a permis d'assurer un échantillonnage fiable tout en limitant les risques de contamination.



Figure 8. *B. germanica* prélevée et collectée dans un flacon stérile (**Prise personnelle**).

4. Transport des blattes

Les blattes capturées ont été transportées au laboratoire dans des conditions de température ambiante, de manière à ne pas les tuer, afin de permettre l'isolement ultérieur des bactéries qu'elles hébergent.

5. Mise en culture

5.1. Enrichissement

- ✓ Broyer 2 à 3 spécimens de *B. germanica*.
- ✓ Mettre le broyat dans 10 mL de bouillon nutritif stérile.
- ✓ Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.
- ✓ La croissance bactérienne est indiquée par une turbidité du milieu.

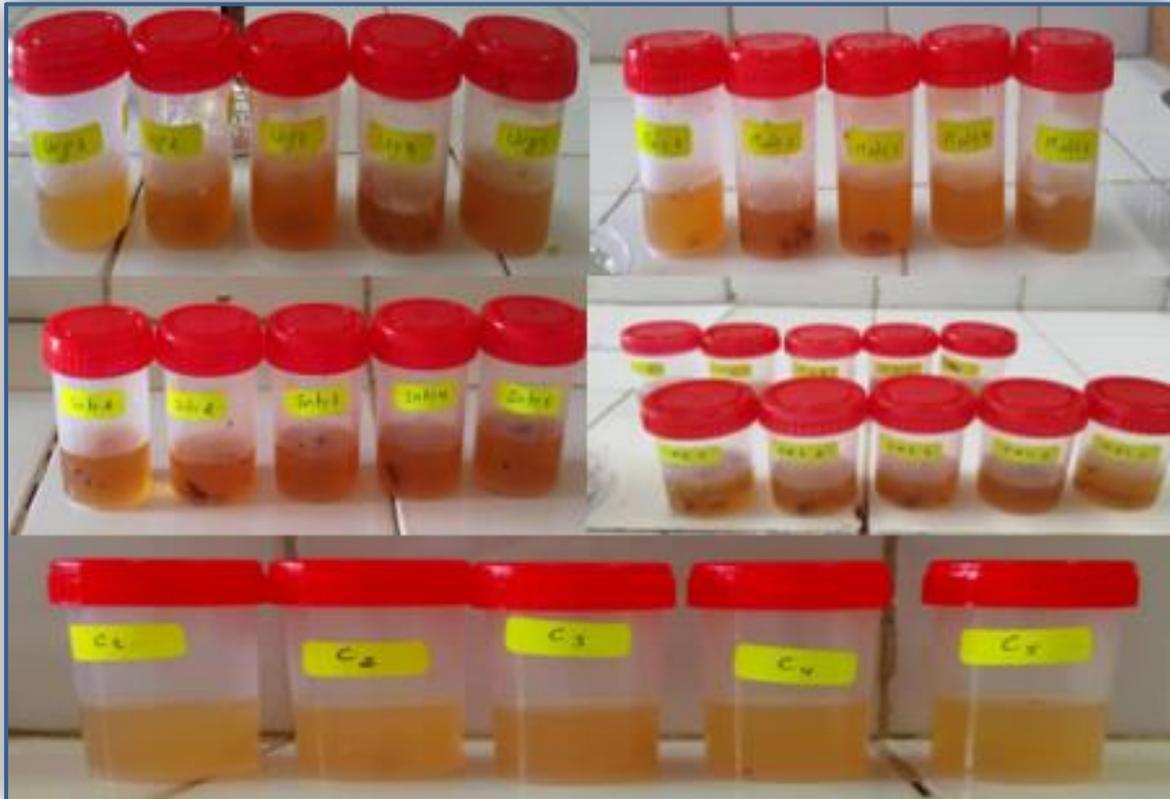


Figure 9. Flacons de suspensions enrichies en bouillon nutritif contenant des broyats de *B. germanica* après incubation (**Prise personnelle**).

5.2. Isolement des Entérobactéries résistantes aux C3G (Criblage)

Le criblage permet de sélectionner les souches présentant une résistance au céfotaxime, en vue d'une évaluation ultérieure de la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (Mezhoud et al., 2015). Il a été réalisé sur un milieu sélectif pour les Entérobactéries, la gélose Mac Conkey, qui a été additionnée d'un antibiotique de la classe des céphalosporines de 3^{ème} génération, la céfotaxime.

- **Milieu gélosé de MacConkey (MCA)**

La gélose MacConkey est un milieu sélectif et différentiel destiné à l'isolement des bacilles à Gram négatif. Les sels biliaires et le cristal violet qu'elle contient inhibent la croissance des bactéries à Gram positif. Ce milieu permet également de différencier les bactéries selon leur capacité à fermenter le lactose, qui est le seul sucre présent. Les bactéries lactose-positives forment des colonies rouges, tandis que les bactéries incapables de fermenter le lactose produisent des colonies incolores (Mehainaoui, 2022).

- **Céfotaxime**

Le céfotaxime a été la première céphalosporine de troisième génération à être commercialisée et s'administre par voie intramusculaire ou intraveineuse. Comme d'autres agents de cette classe, il possède un large spectre d'activité *in vitro*, notamment contre les entérobactéries, y compris les souches productrices de β -lactamases. Le céfotaxime forme un métabolite, le désacétylcéfotaxime, qui possède une efficacité antibactérienne contre de nombreuses bactéries. (1)

5.2.1. Préparation de la solution stock d'antibiotique céfotaxime

La solution stock d'antibiotique correspond à une préparation concentrée, stérile et stable, répartie en aliquotes dans des tubes stériles, puis conservée à -20°C pour une utilisation ultérieure par prélèvement direct de volumes définis selon les besoins expérimentaux.

- **Méthode**

- ✓ Peser 10 mg de céfotaxime en poudre dans une balance à précision.
- ✓ Dissoudre la poudre d'antibiotique dans 10 mL d'eau distillée stérile et homogénéiser.
- ✓ Filtrer la solution à l'aide d'un filtre stérile de $0,22\ \mu\text{m}$.
- ✓ Répartir la solution en aliquote de $500\ \mu\text{L}$ dans des tubes stériles.
- ✓ Conserver les aliquotes à -20°C pour une utilisation ultérieure (Calarco *et al.*, 2024).



Figure 10. Préparation de la solution stock d'antibiotique céfotaxime (Prise personnelle).

5.2.2. Préparation de la gélose Mac Conkey supplémentée en céfotaxime

La préparation du milieu de culture Mac Conkey supplémenté en 2 µg/mL de céfotaxime a été réalisée afin de permettre l'isolement des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération.

- **Méthode**

- ✓ Préparer une gélose Mac Conkey suivant les indications du fabricant.
- ✓ Répartir la gélose en flacons de 180 mL puis stériliser en autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- ✓ Après refroidissement du milieu à environ 45°C, ajouter 360 µL de la solution stock de céfotaxime aseptiquement dans chaque flacon de 180 mL pour obtenir une concentration finale de 2 µg/mL et homogénéiser.
- ✓ Couler la gélose dans des boîtes de Pétri stériles et laissé à solidifier avant son utilisation (**Brahmi et al., 2016**).



Figure 11. Préparation d'un milieu de culture supplémenté en céfotaxime (**Prise personnelle**)

5.3. Isolement

- ✓ Prélever une goutte du milieu d'enrichissement à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.
- ✓ Déposer la goutte sur la gélose Mac Conkey additionnée de céfotaxime.
- ✓ Réaliser un ensemencement en stries à partir de la goutte (les stries doivent être sèches au début de l'ensemencement et de plus en plus éloignés vers la fin).
- ✓ Incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

6. Identification

6.1. Identification morphologique

6.1.1. L'identification macroscopique

L'observation de l'aspect morphologique des colonies bactériennes, de leurs pigmentations, de leurs odeurs et de leurs caractéristiques de croissance (vitesse, type respiratoire) permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. Devant toute culture bactérienne on procède à l'identification macroscopique comme suit (2) :

➤ **Forme**

La forme générale est un critère essentiel dans l'identification des colonies. La plupart sont rondes, mais certaines peuvent être circulaires, irrégulières ou filamenteuses (2).

➤ **Relief**

Le relief, observé comme une coupe de la colonie, peut varier : Plat, convexe, bombé, bosselé ou cratériforme (2).

➤ **Taille**

Elle peut varier même pour une même espèce. On mesure les plus grandes colonies bien isolées : Ponctiformes : < 1 mm Petites : 1–2 mm Moyennes : 3–5 mm Grosses : > 5 mm Envahissantes : Non mesurables, elles couvrent toute la surface ou se superposent (2).

➤ **Surface**

Lisse (S) : Régulière, brillante, souvent plus pathogène.

Rugueuse (R) : Irrégulière, opaque, souvent moins pathogène (2).

➤ **Consistance**

Appréciée à l'aide d'un anneau stérile : Sèche Crémeuse Muqueuse (2).

➤ **Couleur / Pigmentation**

Non pigmentées : Blanches, grises.

Pigment insoluble : Coloration de la colonie (rose, jaune, rouge).

Pigment soluble : Diffuse et colore le milieu (2).

6.1.2. L'identification microscopique

- **Observation après Coloration de Gram**

La coloration de Gram constitue une étape clé du diagnostic bactériologique, permettant une première orientation dans l'identification des bactéries. Il s'agit d'une coloration différentielle qui distingue les bactéries à Gram positif (violette) des bactéries à Gram négatif (rose), en fonction de la structure de leur paroi cellulaire. Elle permet également d'évaluer la morphologie bactérienne et leur mode d'agencement (Prescott *et al.*, 2018 ; Madigan *et al.*, 2009).

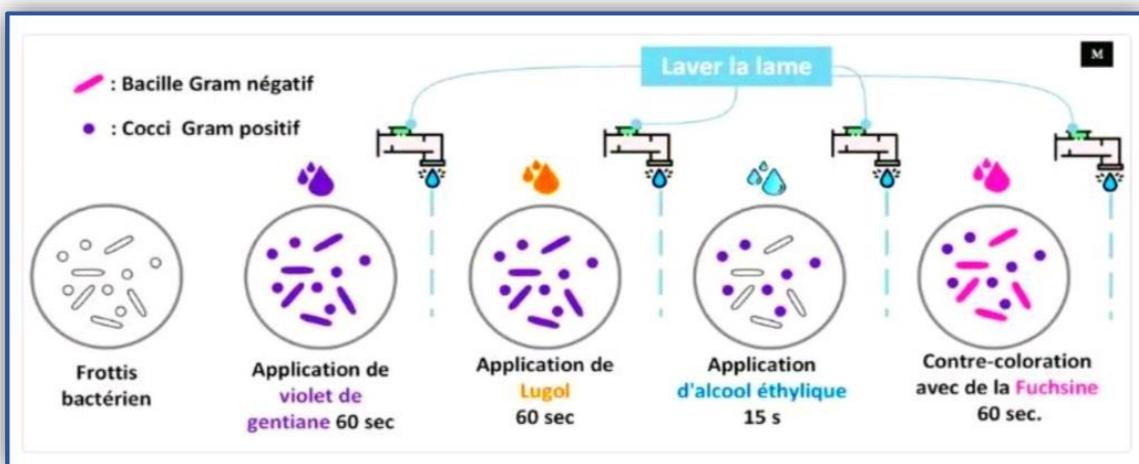


Figure 12. Étapes de la technique de la coloration de Gram (3).

6.2. Identification présomptive (CHROMagar)

Le CHROMagar est un milieu de culture chromogène sélectif et différentiel, permettant l'isolement, l'identification présomptive et la différenciation rapide de plusieurs espèces bactériennes en fonction de la couleur spécifique des colonies obtenues, grâce à l'incorporation de substrats chromogènes dans le milieu (Hoben *et al.*, 1992).

- Si l'on observe des colonies vertes, cela suggère la présence de *Klebsiella spp* ou *Serratia spp*.
- Si l'on observe des colonies bleu-vert, cela suggère la présence de *Enterobacter spp*.
- Si l'on observe des colonies rose foncé, cela indique la présence de *Escherichia coli*.
- Si l'on observe des colonies entourées d'un halo brun, cela est en faveur d'une identification de *Proteus spp* (Hoben *et al.*, 1992).



Figure 13. Milieu CHROMagar (Prise personnelle).

6.3. Identification biochimique

6.3.1. Test oxydase

Le test oxydase permet de détecter la présence de l'enzyme cytochrome oxydase (ou indophénol oxydase), qui oxyde un réactif incolore en un produit coloré. La technique consiste à déposer un disque Ox sur une lame stérile imbibée d'eau distillée ou physiologique stérile, puis à y étaler une colonie bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Une coloration violette apparaissant en 5 à 10 secondes indique un résultat positif, tandis qu'une coloration entre 60 et 90 secondes suggère une réaction positive tardive. Si la couleur ne change pas ou si le virage au violet prend plus de 2 minutes, les bactéries sont considérées comme négatives (Shields et Cathcart, 2010).



Figure 14. Détection enzymatique par le test oxydase (4).

❖ Conseil pratique

Il ne faut pas utiliser l'anse de platine qui peut oxyder le réactif contenu dans le disque et donner de faux positifs

6.3.2. Système API 20E

C'est une méthode utilisée pour identifier les Entérobactéries et autres bacilles Gram négatif. Il se compose d'une bande contenant 20 tests biochimiques miniaturisés, activés par une suspension bactérienne. Après incubation, les réactions sont visibles par des changements de couleur, parfois après ajout de réactifs spécifiques tels que TDA, IND, VP1 et VP2. Les résultats sont ensuite interprétés à l'aide d'un logiciel d'identification (bioMérieux, 2002).



Figure 15. La galerie API 20E (Prise personnelle).

- **Précision du logiciel d'identification**

La fiabilité du test biochimique dépend de la probabilité calculée par le logiciel d'identification. Cependant, une correspondance de 100% n'est pas toujours garantie. Même si certains systèmes API montrent une parfaite correspondance avec des souches de référence, les résultats peuvent parfois présenter des variations.

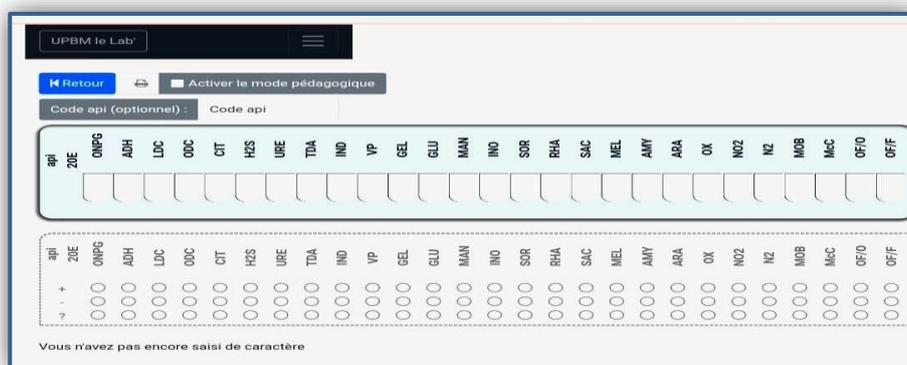


Figure 16. Logiciel utilisé pour l'identification (5).

7. Évaluation de la sensibilité aux antibiotiques

L'évaluation de la sensibilité bactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion des disques, conformément aux recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Les tests ont été menés sur gélose Mueller-Hinton, ensemencée avec un écouvillon imprégné d'une suspension bactérienne ajustée à 0,5 McFarland (DO = 0,8-1,0 à 625 nm) (CA-SFM, 2010).

Les disques d'antibiotiques ont été appliqués à l'aide d'un distributeur automatique, suivis d'une incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures. La gélose, d'une épaisseur standard de 4 mm, a été soigneusement séchée avant l'ensemencement afin d'éliminer toute condensation pouvant altérer la diffusion des antibiotiques.

7.1. Standardisation de l'inoculum

À partir d'une culture pure de 18 heures, des colonies isolées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine et suspendues dans 5 à 10 mL de solution physiologique stérile (0,9 % NaCl). La suspension a été homogénéisée jusqu'à obtenir une turbidité équivalente à 0,5 McFarland. Si nécessaire, l'inoculum a été ajusté en ajoutant soit de la culture, soit de la solution physiologique.

L'ensemencement a été réalisé dans un délai de 15 minutes après la préparation de l'inoculum afin d'assurer la reproductibilité et la fiabilité du test.

7.2. Procédure d'ensemencement et d'application des disques

- ✓ Immersion d'un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne standardisée, suivie de l'ensemencement par écouvillonnage.
- ✓ L'excès d'inoculum a été éliminé par essorage contre la paroi interne du tube.
- ✓ La surface de la gélose Mueller-Hinton, préalablement séchée, a été ensemencée par stries homogènes dans trois directions successives, en effectuant une rotation de 60° à chaque passage, suivie d'un passage périphérique.
- ✓ Les disques d'antibiotiques ont été appliqués à l'aide d'un distributeur automatique ou d'une pince métallique stérile, à raison de six disques par boîte de Pétri.
- ✓ Les boîtes ont été hermétiquement fermées et incubées à 37 °C pendant 24 heures en conditions aérobies.



Figure 17. Dépôt des antibiotiques sur le milieu Mueller-Hinton (MH) (**Prise personnelle**).

➤ **Lecture**

Interprétation Pour chaque antibiotique : il faut mesurer le diamètre de la zone d'inhibition au revers de la gélose. L'interprétation des souches (sensibles, intermédiaires ou résistantes) se fait selon les diamètres critiques recommandés par (CA-SFM, 2010).

Chaque disque a une concentration minimale inhibitrice, caractérisée par un diamètre d'inhibition, la comparaison des diamètres mesurés autour des disques déposés et ceux recommandés permettra de détecter le phénotype sensible, intermédiaire, et résistant.

- Si le diamètre de la zone d'inhibition est $\geq D$: La souche est dite sensible (S).
- Si le diamètre de la zone d'inhibition est $< D$: La souche est dite résistante (R).
- Si $d \leq$ diamètre de la zone d'inhibition $< D$: La souche est dite intermédiaire (I).

D =diamètre (CA-SFM, 1998).

Tableau 5. Liste des antibiotiques testée pour les Entérobactéries (CA-SFM 2017).

| Antibiotique | Sigle | Charge du disque | R | I | S |
|--------------------------------|-------|------------------|-----|-------|-----|
| β-lactamines | | | | | |
| Amoxicilline | AX | 25 µg | <16 | 16-21 | ≥21 |
| Amoxicilline+ac. Clavulanique | AMC | 30 µg | <16 | 16-21 | ≥21 |
| Peperacilline+ Tazobactame | TZP | 85 µg | <17 | - | ≥21 |
| Céfalotine | CF | 30 µg | <12 | 12-18 | ≥18 |
| Ceftriaxone | CRO | 30 µg | <23 | 23-26 | ≥26 |
| Céfépime | FEP | 30 µg | <21 | 21-24 | ≥24 |
| Carbapénèmes | | | | | |
| Ertapénème | ERT | 10 µg | <26 | 26-28 | ≥28 |
| Imipénème | IMP | 10 µg | <17 | 17-24 | ≥24 |
| Aminosides | | | | | |
| Gentamycine | CN | 15 µg | <16 | 16-18 | ≥18 |
| Amikacine | AK | 30 µg | <15 | 15-17 | ≥17 |
| Quinolones | | | | | |
| Ciprofloxacine | CIP | 5 µg | <22 | 22-25 | ≥25 |
| Autre familles | | | | | |
| Fosfomycine | FOS | 50 µg | <14 | - | ≥14 |
| Nitrofurantoïne | F | 300 µg | <15 | - | ≥15 |
| Doxycycline | DO | 30 µg | <19 | 19-21 | ≥21 |
| Sulfaméthoxazole-Triméthoprime | SXT | 25 µg | <13 | 13-16 | ≥16 |
| Colistine | CT | 50 µg | <15 | - | ≥15 |

8. Analyses phénotypiques des mécanismes de résistance

8.1. Détection phénotypique des BLSE chez les Entérobactéries

Dans le cadre de la détection des souches productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE), plusieurs tests phénotypiques sont recommandés.

8.1.1. Test de synergie par double disque (DDST)

➤ Principe

Ce test vise à détecter une synergie entre un disque d'antibiotique associé à un inhibiteur de β-lactamase et des disques de céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, ceftazidime, aztréonam). La synergie se manifeste par une image caractéristique en « bouchon de champagne » ou synergie en entonnoir (Mehainaoui,2022).

➤ **Technique**

- ✓ Préparer une suspension bactérienne à partir d'une culture âgée de 18 à 24 heures.
- ✓ Ensemencer uniformément une gélose Mueller-Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la suspension.
- ✓ Placer un disque d'amoxicilline/acide clavulanique (AMC) au centre de la boîte de Pétri. Disposer, à 3 cm du disque AMC, les disques de céfotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ) et aztréonam (ATM).
- ✓ Incuber la boîte à 37°C pendant 18 heures.
- ✓ Observer la présence d'une synergie en « bouchon de champagne » entre le disque AMC et les disques CTX, CAZ ou ATM, indiquant la production de BLSE (Mehainaoui,2022).

➤ **Lecture**

La présence de BLSE (bêta-lactamases à spectre étendu) est indiquée par l'apparition d'une synergie, visible sous la forme d'un « bouchon de champagne » entre le disque AMC et les disques CTX, CAZ ou ATM (voir figure 18) (Mehainaoui,2022).

8.1.2. Test de disque combiné (CDT)

➤ **Principe**

Ce test vise à détecter la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) en recherchant une augmentation de la zone d'inhibition autour d'un disque de céphalosporine de troisième génération (C3G), lorsque celui-ci est précédé par un disque contenant de l'amoxicilline-acide clavulanique (AMC), comparé à un disque de C3G seul sur gélose Mueller-Hinton (Rahal et al., 2005).

➤ **Technique**

- ✓ Préparer une suspension bactérienne à partir d'une culture de 18 à 24 heures.
- ✓ Ensemencer la gélose Mueller-Hinton selon la méthode standard d'antibiogramme.
- ✓ Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (exemple : Céfotaxime, CTX) côte à côte, à 25 mm de distance centre à centre.
- ✓ Laisser diffuser les antibiotiques à température ambiante pendant 1 heure.
- ✓ Après cette heure, retirer le disque d'AMC et le remplacer par un second disque de C3G au même endroit.
- ✓ Incuber les boîtes à 37°C pendant 18 heures (Rahal et al., 2005).

➤ **Lecture**

Le test est positif si le diamètre d'inhibition du disque de C3G, placé après diffusion du disque d'AMC, est supérieur ou égal à 5 mm par rapport au disque de C3G seul. Cela indique la présence d'une BLSE (Rahal *et al.*, 2005).

Dans cette étude, les deux tests phénotypiques précédents ont été réalisés simultanément sur la même boîte.

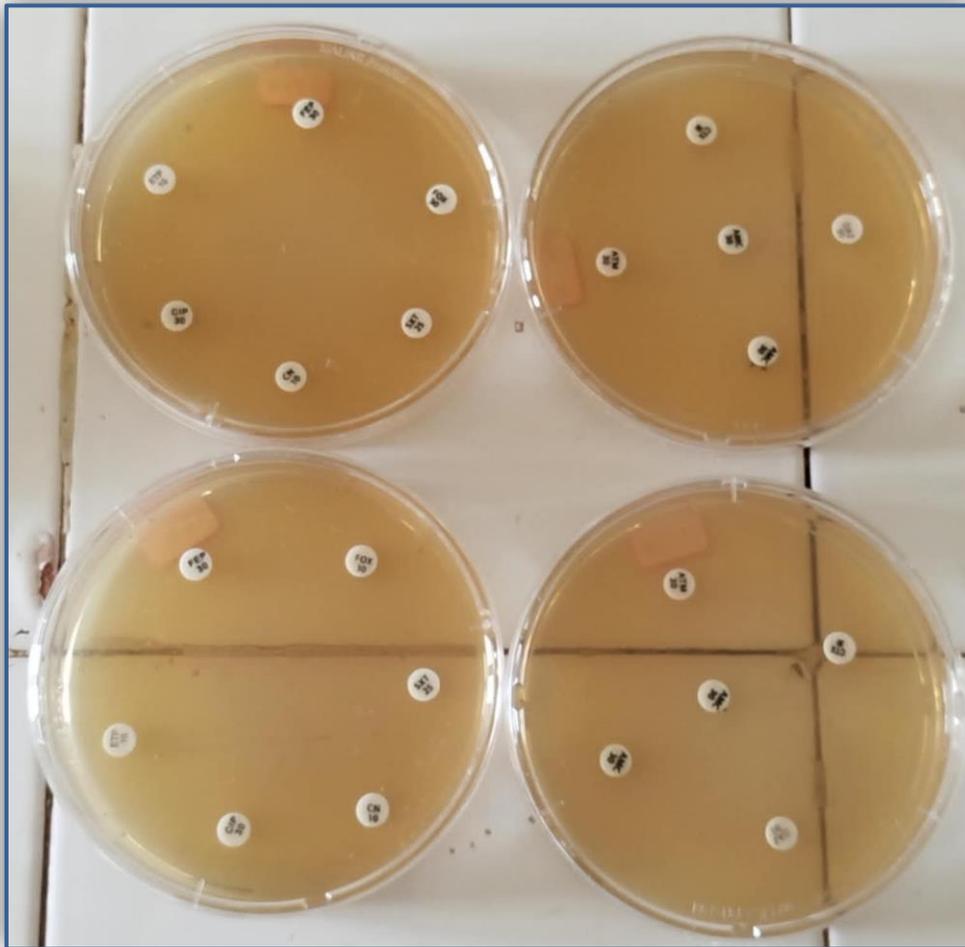


Figure 18. Photo explicative du dépôt des disques d'antibiotiques (**Prise personnelle**).

Chapitre 04 :

Résultats et Discussion

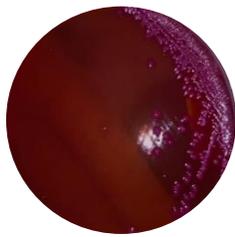
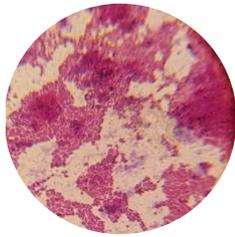
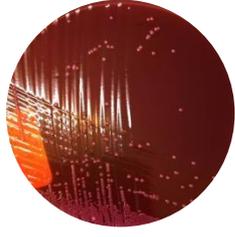
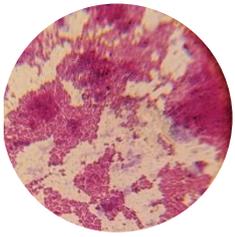
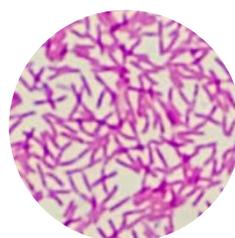
I. Résultats

Ce chapitre expose les résultats de l'analyse de la résistance aux céphalosporines de troisième génération chez des souches des Entérobactéries isolées de blattes prélevées dans un environnement hospitalier, dans le cadre d'une évaluation du rôle potentiel de ces insectes comme réservoirs de bactéries multirésistantes.

1. Identification morphologique

1.1. Identification macroscopique et microscopique

Tableau 6. Aspect macroscopique sur milieu Mac Conkey et après coloration de Gram.

| Souches | Aspect macroscopique sur Mac Conkey | Photo de l'aspect macroscopique | Photo après coloration de Gram |
|--|--|--|---|
| C1, C3, C4, Urg1, Urg4, Snt4, Chr1, Chr2, ORL2, ORL3, ORL5 | Colonies rondes, lisses, brillantes, rose vif à fushia (fermentation rapide du lactose). |  |  |
| Snt3, Snt5, Chr3, Chr4, Chr5 | Colonies grandes, rosées pâles, légèrement muqueuses, brillantes. |  |  |
| Mdc2, C2 | Colonies rosées ou incolores, parfois légèrement pigmentées selon la température. |  |  |
| Mdc1, Mdc4, Mdc5 | Colonies très muqueuses, brillantes, rose clair à foncé. |  |  |

2. Identification présumptive (CHROMagar)

Les résultats obtenus sur le milieu CHROMagar ont révélé les profils suivants :

- Les souches Mdc1, Mdc2, Mdc4, Mdc5 et C2 représentant 23,81 % des isolats, ont donné des colonies vertes, compatibles avec les genres *Klebsiella* et *Serratia*.
- Les souches Sntr3, Sntr5, Chr3, Chr4 et Chr5 soit 23,81 % des isolats, ont produit des colonies bleu-vert, suggérant la présence du genre *Enterobacter*.
- Enfin, les souches C1, C3, C4, Urg1, Urg4, Sntr4, Chr1, Chr2, ORL2, ORL3 et ORL5, représentant 52,38 % des isolats, ont formé des colonies rose foncé caractéristiques du genre *Escherichia*.

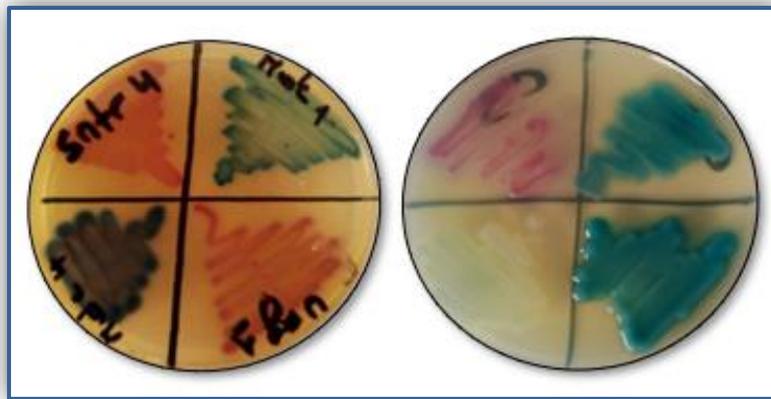


Figure 19. Aspect des souches sur milieu CHROMagar (Prise personnelle).

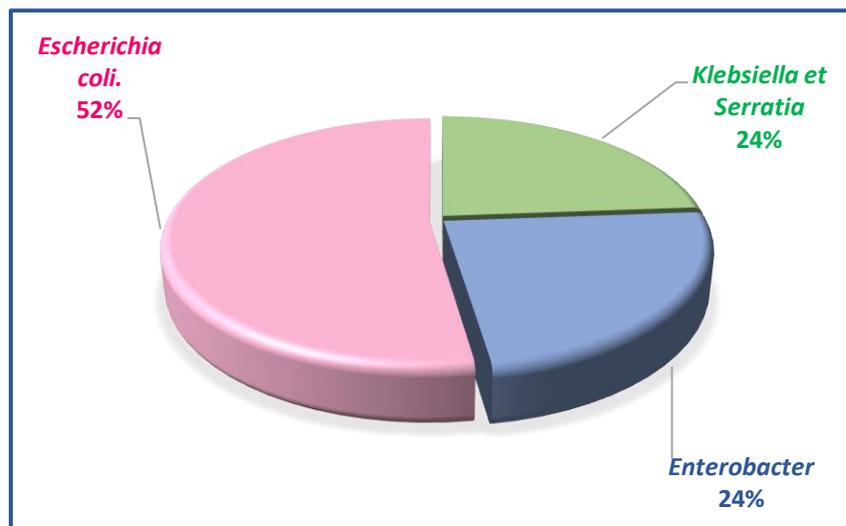


Figure 20. Les résultats sur milieu CHROMagar.

3. Identification biochimique

3.1. Test oxydase

Le test oxydase effectué sur l'ensemble des souches isolées a donné un résultat négatif. Ce résultat est en accord avec les propriétés biochimiques typiques des Entérobactéries, qui se distinguent par leur caractère oxydase négatif, lié à l'absence de cytochrome c oxydase dans leur chaîne respiratoire. Cette réaction constitue un critère de base dans l'identification des membres de la famille des Enterobacteriaceae et soutient l'hypothèse que les souches isolées appartiennent bien à ce groupe bactérien.



Figure 21. Résultat du test oxydase (**Prise personnelle**).

3.2. Résultat de la Galeries API 20E

À l'aide de la galerie API 20E, une analyse biochimique a été réalisée afin d'orienter l'identification des souches bactériennes isolées. Issues de cultures sur le milieu sélectif MacConkey, ces souches ont présenté des profils biochimiques globalement compatibles avec ceux des espèces de la famille des Enterobacteriaceae. Bien que certains résultats nécessitent une confirmation complémentaire, cette approche a permis de suggérer l'appartenance des isolats à différents genres entériques tels que *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* et *Serratia*.

Tableau 7. Résultats de l'identification par l'API 20E

| Souches | Photo de l'API | Espèce |
|---|----------------|------------------------------|
| C1, C3, C4, Urg1, Urg4, Sntr4, Chr1, Chr2, ORL2, ORL3, ORL5 | | <i>Escherichia coli</i> |
| Sntr3, Sntr5, Chr3, Chr4, Chr5 | | <i>Enterobacter cloacae</i> |
| Mdc2, C2 | | <i>Serratia liquefaciens</i> |
| Mdc1, Mdc4, Mdc5 | | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |

4. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques

4.1. Antibiogramme par diffusion de disques sur un milieu gélosé

Après une incubation sur gélose Mueller-Hinton (MH) à 37 °C pendant 24 heures, les résultats suivants ont été obtenus :

Tableau 8. Antibiogramme par diffusion de disques sur un milieu gélosé des Entérobactéries.

| Codes | Espèces | Antibiotiques diamètres en (mm) | | | | | | | | | |
|-------|------------------------------|---------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | FOX | FEP | ETP | CIP | CN | SXT | AMC | ATM | CAZ | CTX |
| C1 | <i>Escherichia coli</i> | S (21) | R (10) | I (22) | S (27) | S (23) | S (22) | R (6) | R (10) | R (6) | R (6) |
| C3 | | R (10) | R (18) | I (22) | S (46) | S (26) | S (18) | R (6) | I (20) | R (6) | R (6) |
| C4 | | R (15) | R (8) | R (20) | S (29) | S (22) | S (31) | R (6) | I (19) | R (13) | R (6) |
| Chr1 | | S (18) | R (10) | S (29) | R (18) | I (14) | R (6) | R (6) | S (28) | I (20) | R (6) |
| Chr2 | | R (12) | R (6) | R (20) | S (28) | S (21) | S (20) | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) |
| ORL2 | | S (18) | R (6) | I (22) | S (28) | S (20) | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) |
| ORL3 | | R (11) | R (6) | I (22) | S (26) | S (17) | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) |
| ORL5 | | R (8) | I (24) | R (14) | S (30) | S (24) | R (6) | R (6) | S (26) | R (14) | R (18) |
| Urg1 | | S (22) | R (6) | R (21) | I (23) | S (19) | R (6) | R (6) | R (8) | R (6) | R (6) |
| Urg4 | | R (8) | S (30) | I (22) | S (36) | S (30) | R (6) | S (26) | R (8) | R (6) | R (6) |
| Sntr4 | | R (10) | R (6) | R (8) |
| C2 | <i>Serratia liquefaciens</i> | R (6) | S (27) | S (26) | S (41) | S (21) | S (27) | R (6) | S (21) | R (11) | R (11) |
| Mdc2 | | S (26) | R (11) | R (11) | S (20) | R (11) | S (20) | R (6) | I (18) | S (44) | R (17) |
| Chr3 | <i>Enterobacter cloacae</i> | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) | I (14) | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) |
| Chr4 | | R (8) | S (28) | R (19) | S (40) | S (24) | S (32) | R (6) | S (29) | S (24) | R (17) |
| Chr5 | | R (6) | I (24) | R (20) | S (28) | S (27) | S (20) | R (6) | S (32) | R (12) | R (6) |
| Sntr3 | | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) | I (14) | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) |
| Sntr5 | | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) | I (16) | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) | R (6) |
| Mdc1 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | R (11) | R (20) | R (20) | S (36) | S (18) | S (30) | R (6) | S (24) | R (8) | R (11) |

| | | | | | | | | | | | |
|------|------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|----------|----------|
| Mdc4 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | R (6) | R (10) | R (12) | I (24) | S (19) | S (22) | R (6) | R (11) | R (6) | R (6) |
| Mdc5 | | S (19) | R (6) | R (6) | R (8) | S (24) | S (20) | R (6) | R (11) | R (6) | R (6) |

S : Sensible

I : Intermédiaire

R : Résistant

L'analyse des profils de sensibilité aux antibiotiques des différentes souches isolées a révélé une variabilité marquée selon les espèces.

➤ *Escherichia coli*

Les isolats ont montré une sensibilité élevée à CIP et CN (90,9 %), ainsi qu'une activité modérée de SXT (54,5 % de souches sensibles). Une forte résistance a été observée à AMC, CAZ et CTX (90,9 %), suivie de FOX et FEP (72,7 %) et de ETP et ATM (63,6 %).

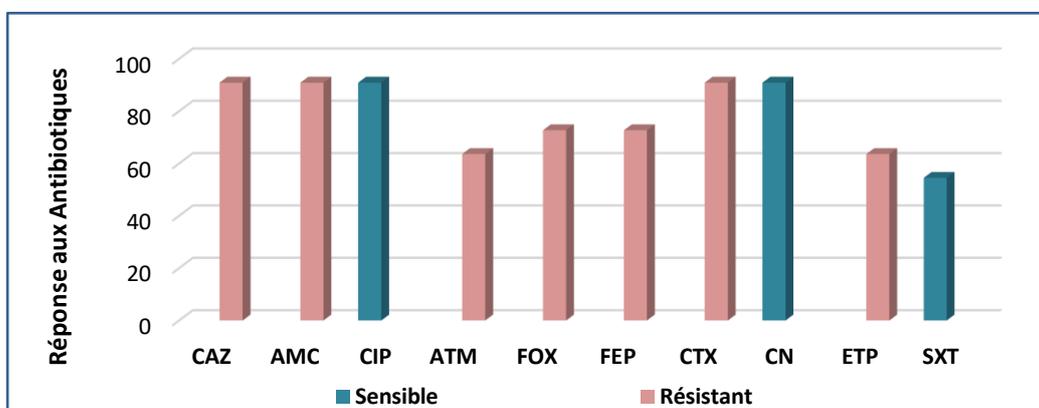


Figure 22. Sensibilité et résistance de *Escherichia coli* aux antibiotiques.

➤ *Serratia liquefaciens*

Les souches sont totalement sensibles à CIP et SXT (100 %). Une résistance complète est notée à AMC et CTX (100 %), tandis que CAZ, FOX, FEP et ETP présentent chacune 50 % de souches résistantes. CN est efficace sur une seule souche (50 %).

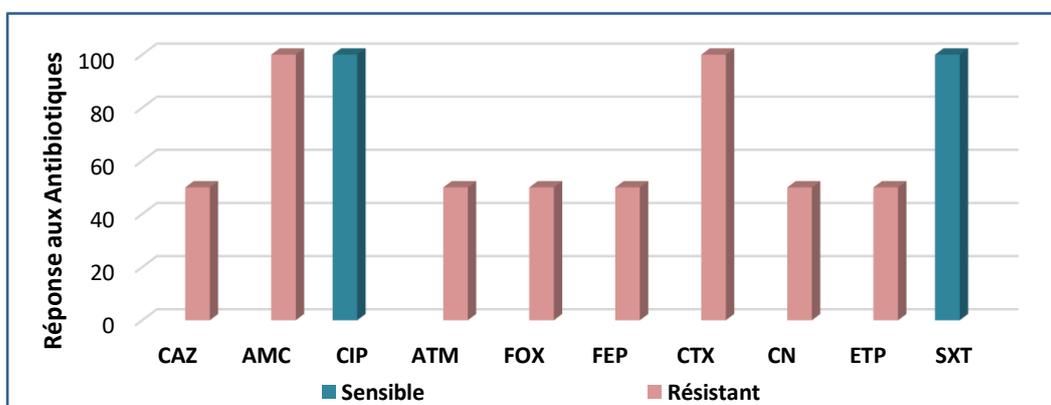


Figure 23. Sensibilité et résistance de *Serratia liquefaciens* aux antibiotiques.

➤ *Enterobacter cloacae*

CN reste relativement active (60 % de souches sensibles), alors que SXT, CIP, CAZ et ATM montrent chacun 40 % de sensibilité. Une résistance complète est observée à AMC et FOX (100 %), et des résistances élevées à CTX et ETP (80 %). FEP présente une efficacité partielle (60 %).

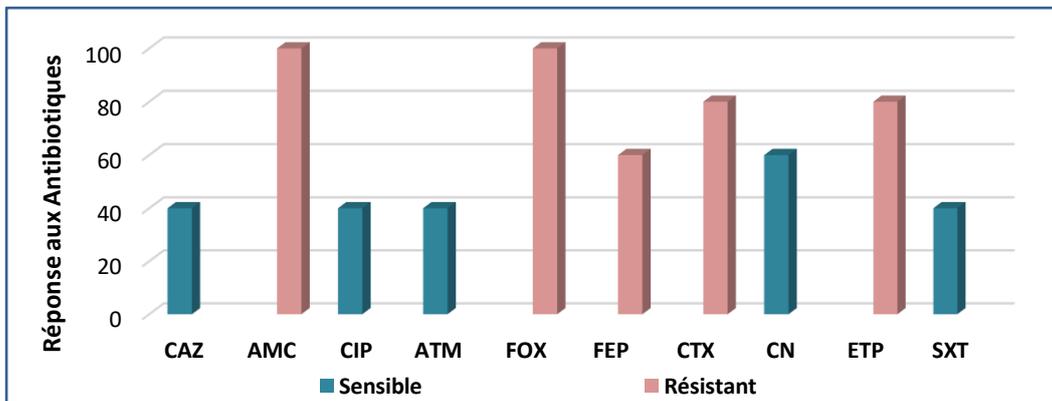


Figure 24. Sensibilité et résistance de *Enterobacter cloacae* aux antibiotiques.

➤ *Klebsiella pneumoniae*

Les isolats sont totalement sensibles à CN et SXT (100 %) et majoritairement sensibles à CIP (66,7 %). Une résistance complète est observée à CTX, CAZ, FEP, AMC et ETP (100 %). FOX est résistante à 66,7 %, et ATM est actif sur une seule souche (33,3 %).

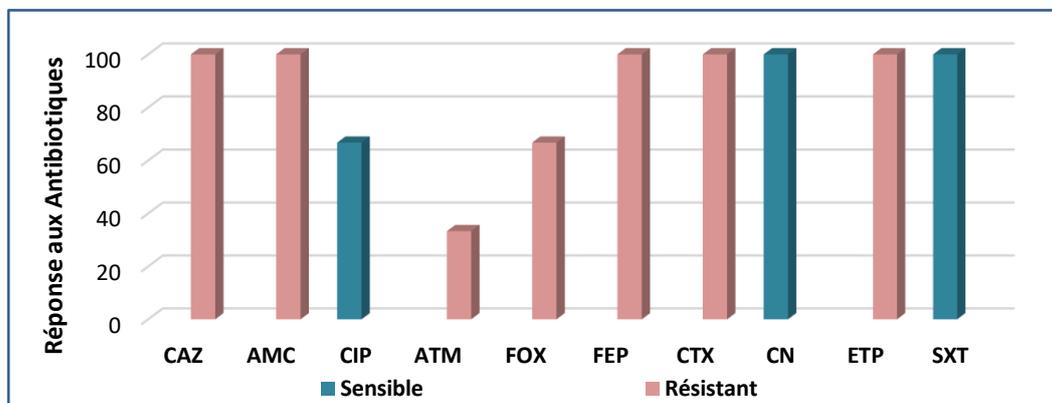


Figure 25. Sensibilité et résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques.

Dans l'ensemble, c'est l'espèce *Enterobacter cloacae* qui s'est révélée la plus résistante, avec une faible sensibilité à la majorité des antibiotiques testés, traduisant un risque thérapeutique significatif et nécessitant une vigilance accrue en milieu hospitalier.

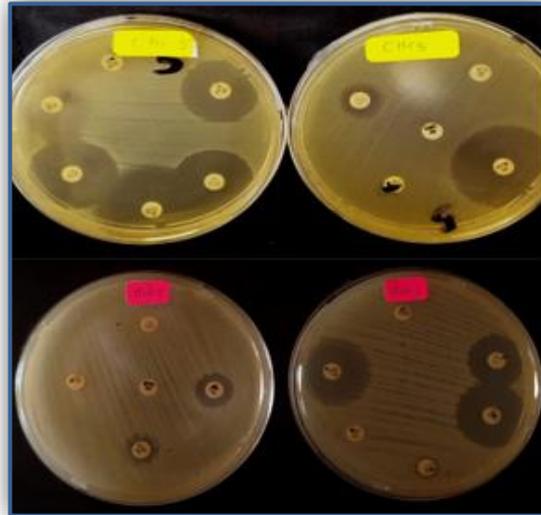


Figure 26. Résultats de l'antibiogramme (**Prise personnelle**).

4.2. Répartition des entérobactéries résistantes aux C3G chez les blattes par service hospitalier

Le service de la cuisine présente le pourcentage le plus élevé de souches résistantes par rapport au nombre de blattes capturées (66,67 %), suivi des sanitaires (37,5 %), puis des services de chirurgie, médecine et ORL (33,33 % chacun). Le service des urgences présente le taux le plus faible avec 28,57 %.

Tableau 9. Fréquence des souches résistantes par service.

| Service | Nombre de blattes | Souches résistantes aux C3G | Pourcentage (%) |
|------------------|-------------------|-----------------------------|-----------------|
| Cuisine | 6 | 4 | 66,67% |
| Sanitaire | 8 | 3 | 37,5% |
| Chirurgie | 15 | 5 | 33,33% |
| Médecine | 12 | 4 | 33,33% |
| ORL | 9 | 3 | 33,33% |
| Urgences | 7 | 2 | 28,57% |

5. Détection phénotypique des BLSE chez les Entérobactéries

Dans cette étape, la détection phénotypique des BLSE chez les Entérobactéries isolées a été réalisée à l'aide des tests DDST et CDT. Le tableau ci-dessous représente les résultats obtenus par les deux tests.

Tableau 10. Détection des BLSE chez les Entérobactéries par le test DDST et CDT

| Espèce | Code | DDST | CDT |
|------------------------------|-------|------|-----|
| <i>Escherichia coli</i> | C1 | + | – |
| | C3 | – | – |
| | C4 | + | – |
| | Chr1 | + | – |
| | Chr2 | + | – |
| | ORL2 | + | – |
| | ORL3 | + | – |
| | ORL5 | + | – |
| | Urg1 | – | – |
| | Urg4 | – | + |
| | Sntr4 | + | – |
| <i>Serratia liquefaciens</i> | C2 | + | – |
| | Mdc2 | – | – |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | Chr3 | – | – |
| | Chr4 | – | – |
| | Chr5 | – | – |
| | Sntr3 | – | – |
| | Sntr5 | – | – |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Mdc1 | – | – |
| | Mdc4 | – | – |
| | Mdc5 | + | – |

+ : Présence de BLSE

- : Absence de BLSE

5.1. Test de synergie par double disque (DDST)

Le test de synergie a montré une zone d'élargissement en forme de « bouchon de champagne » ou « d'entonnoir » entre les disques d'amoxicilline/acide clavulanique (AMC) et de cefotaxime (CTX), ce qui indique clairement la production de BLSE (bêta-lactamases à spectre élargi) par la souche *Escherichia coli* (urg4).

Parmi les 21 souches résistantes à la céfotaxime, une seule a été identifiée comme productrice de BLSE par le test DDST, soit 4,76 %.

Cette souche représente également 9,1 % des 11 souches confirmées productrices de BLSE



Figure 27. Image de synergie entre CTX et l'AMC de *Escherichia coli* (Prise personnelle).

5.2. Test de disque combiné (CDT)

Le test CDT a permis d'identifier 10 souches productrices de BLSE parmi les 21 souches testées, soit un taux global de 47,6 %. La répartition est la suivante :

Tableau 11. Caractérisation des BLSE par CDT, fréquence et distribution par espèce.

| Espèce bactérienne | Souches identifiées | Nombre | % parmi les BLSE (n = 10) | % parmi les souches testées (n = 21) |
|------------------------------|---|--------|---------------------------|--------------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | C1, C4, Chr1, Chr2, ORL2, ORL3, ORL5, Sntr4 | 8 | 80 % | 38,1 % |
| <i>Serratia liquefaciens</i> | C2 | 1 | 10 % | 4,8 % |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Mdc5 | 1 | 10 % | 4,8 % |
| Total souches BLSE | — | 10 | 100 % | 47,6 % |

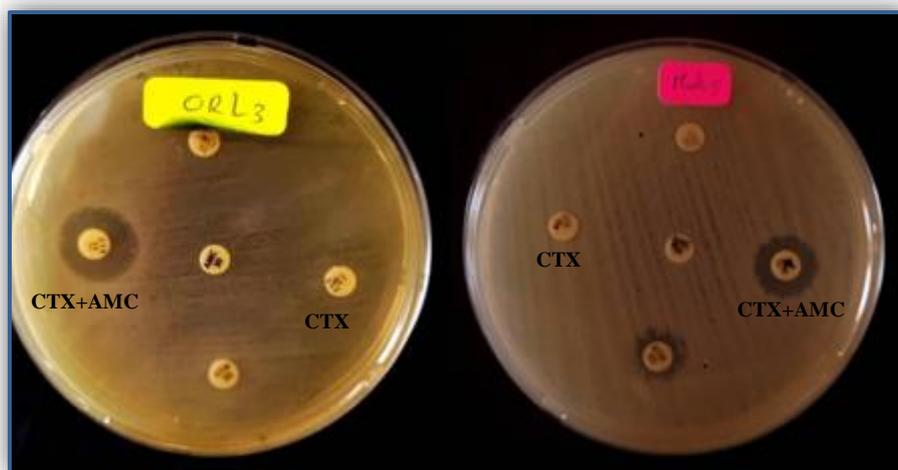


Figure 28. Détection positive de BLSE par le test CDT (**Prise personnelle**).

II. Discussion

Dans cette étude, l'investigation a porté sur le rôle épidémiologique de *Blattella germanica* dans la dissémination des Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) en milieu hospitalier. L'isolement et l'identification des souches ont mis en évidence une prévalence significative de bactéries pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia liquefaciens*.

Selon la liste actualisée des agents pathogènes prioritaires publiée par l'OMS (2024), les Entérobactéries résistantes aux C3G sont classées parmi les pathogènes à priorité critique, en raison de leur fort niveau de résistance, de leur potentiel de morbi-mortalité, de leur transmissibilité et du manque d'options thérapeutiques efficaces. Les C3G figurent parmi les antibiotiques d'importance vitale en médecine humaine, et leur perte d'efficacité compromet sérieusement la prise en charge des infections graves, réduisant les options thérapeutiques disponibles, augmentant les risques d'échec clinique et les coûts de santé.

Le portage des Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) par *B. germanica* constitue un vecteur discret mais significatif de dissémination de pathogènes. Cette propagation s'opère à travers une diversité de réservoirs et de vecteurs, parmi lesquels figurent les patients, le personnel soignant, les surfaces hospitalières, les dispositifs médicaux, les milieux hydriques, la chaîne alimentaire, ainsi que certains animaux (rongeurs, chats, chiens) et insectes (mouches, fourmis). Cette complexité écologique favorise la survenue de transmissions croisées au sein d'environnements de soins déjà fragilisés

Ce constat souligne l'urgence d'intégrer les blattes dans les stratégies de prévention et de lutte contre les infections nosocomiales. Des résultats similaires ont été rapportés par Mehainaoui (2022), qui a isolé les mêmes Entérobactéries à partir de blattes capturées dans divers hôpitaux.

L'analyse de la répartition des souches par service hospitalier a révélé que la cuisine était la zone la plus contaminée, suivie des sanitaires, des services de chirurgie, médecine, ORL, et enfin des urgences. Cette hiérarchie peut s'expliquer par la présence fréquente de résidus alimentaires et des conditions d'humidité favorables à la prolifération des blattes dans les espaces de préparation culinaire. Cette situation est préoccupante, car les cuisines constituent des points critiques où la contamination croisée peut rapidement atteindre les patients par les aliments, les ustensiles ou le personnel. D'autres études, comme celles de

Elgderi et al., (2006) et **Fakoorziba et al., (2010)**, confirment également la vulnérabilité des zones alimentaires à la contamination bactérienne.

Concernant le profil de résistance, les résultats de l'antibiogramme ont révélé une résistance marquée aux β -lactamines, notamment aux céphalosporines de troisième génération, ce qui suggère un risque élevé d'échec thérapeutique. Cette situation peut être liée à une pression de sélection accrue induite par l'usage fréquent de ces molécules en milieu hospitalier. D'autres familles d'antibiotiques, comme les fluoroquinolones et les aminosides, ont montré une efficacité partielle, bien que des souches multirésistantes aient également été détectées. La sensibilité persistante aux carbapénèmes reste rassurante, mais ne constitue pas une garantie durable face à l'émergence constante de nouveaux mécanismes de résistance. Ces résultats sont en cohérence avec ceux rapportés par **Debabza (2015)** à l'hôpital de Tébessa, qui a observé une multirésistance marquée aux β -lactamines, fluoroquinolones et aminosides, ainsi qu'une sensibilité persistante aux carbapénèmes. Des observations similaires ont été faites par **Chaalal (2020)** dans une étude sur la chaîne alimentaire en Algérie, mettant en évidence une prévalence élevée de souches multirésistantes et la conservation d'une efficacité relative de la colistine.

L'analyse phénotypique a permis de détecter la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) chez plusieurs souches, notamment *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Ces enzymes, capables d'hydrolyser toutes les β -lactamines à l'exception des carbapénèmes et des céphamycines, sont un facteur clé dans la propagation de la résistance. Les gènes codant pour les BLSE, souvent portés par des plasmides mobiles, favorisent leur transmission horizontale et accélèrent ainsi la dissémination dans l'écosystème hospitalier.

Ce phénomène constitue un véritable enjeu de santé publique, comme le montrent les travaux de **Mehainaoui (2022)** et **Benameur et al., (2019)**, qui ont identifié les gènes *bla_{TEM}* et *bla_{CTX-M}* chez plusieurs isolats Entérobactériens hospitaliers.

En conclusion, cette étude confirme le rôle sanitaire préoccupant de *B. germanica* comme vecteur épidémiologique de souches entérobactériennes multirésistantes. Leur présence dans les espaces hospitaliers impose un renforcement urgent des mesures de désinsectisation, d'hygiène environnementale et de surveillance microbiologique, afin de prévenir la dissémination des bactéries résistantes et de limiter leur impact sur la santé des patients, du personnel et de l'environnement hospitalier au sens large.

*Conclusion et
Perspectives*

Conclusion

L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude met en évidence l'importance épidémiologique sous-estimée de *Blattella germanica* dans la dissémination des Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération, classées parmi les pathogènes critiques par l'OMS.

Au-delà du cadre hospitalier, cette problématique révèle une menace beaucoup plus vaste, à l'interface entre santé humaine, animale et environnementale. La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'un des défis sanitaires mondiaux les plus alarmants, compromettant gravement l'efficacité des traitements, augmentant les risques d'échec thérapeutique, et exposant les populations à des infections potentiellement incontrôlables.

Ainsi, *B. germanica* apparaît comme un vecteur épidémiologique discret mais redoutable, capable de disséminer des bactéries résistantes à travers différents réservoirs biologiques (humains, animaux domestiques comme les rongeurs, chats, chiens, ou encore autres arthropodes tels que les mouches et fourmis), et dans divers compartiments de l'environnement hospitalier (milieux hydriques, aliments, dispositifs médicaux, surfaces). Cette circulation interconnectée favorise une transmission croisée difficile à contenir et appelle à une vigilance renforcée.

Sur le plan écologique, la circulation silencieuse de ces bactéries résistantes entre niches biologiques et compartiments abiotiques crée un écosystème de résistance complexe, menaçant à la fois les équilibres microbiens naturels et les fondements de la médecine moderne. L'impact est double : il fragilise les systèmes de soins tout en facilitant l'émergence continue de nouveaux mécanismes de résistance.

Face à cette urgence, il est impératif d'adopter une approche intégrée, fondée sur le concept « One Health », incluant des mesures coordonnées de surveillance, de prévention, de désinsectisation, de gestion raisonnée des antibiotiques et d'éducation à l'échelle nationale et internationale.

L'antibiorésistance n'est pas seulement une crise biologique ; elle constitue une alerte globale sur la durabilité de notre relation avec les antimicrobiens, les écosystèmes et la santé collective.

Perspectives

- Mettre en œuvre une caractérisation moléculaire des souches isolées pour détecter les gènes de résistance (*bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}...).
- Étendre l'échantillonnage à d'autres insectes vecteurs présents dans les établissements de santé (mouches, fourmis...).
- Réaliser une cartographie temporelle de la prévalence bactérienne chez *Blattella germanica* en fonction des saisons.
- Comparer les taux de contamination entre hôpitaux selon les niveaux d'hygiène et les méthodes de désinsectisation utilisées.
- Sensibiliser le personnel hospitalier à la lutte intégrée contre les vecteurs biologiques et à l'importance du respect des mesures de propreté.
- Évaluer l'efficacité des produits insecticides utilisés sur la charge bactérienne portée par les blattes.
- La mise en place de programmes nationaux de surveillance et de dépistage de l'antibiorésistance s'impose dans l'ensemble des secteurs (hospitalier, vétérinaire, environnemental et communautaire) afin d'en assurer un contrôle efficace et coordonné.

Références

bibliographiques

A

Allain P. (2008). *Bêta-lactamines, pénicillines et céphalosporines*. In : Les médicaments (3^e éd.), p. 45. Paris : Éditions Maloine.

Amairi T. (2021). *Résistance aux antibiotiques des Escherichia coli isolés des abattoirs et élevages de poulet de chair au Nord-Est d'Algérie*. Thèse de doctorat, Université Mohamed Khider, Biskra, Algérie, 164 p.

Arruda, L. K., Ferriani, V. P., Vailles, L. D., Pommés, A., & Chapman, M. D. (2001). Cockroach allergens: Environmental distribution and relationship to disease. *Current Allergy and Asthma Reports*, 1(5), 466–473.

Avril J., Débernard H., Denis F., Monteil H. (2000). *Bactériologie clinique* (2^e éd.). Paris : Éditions Ellipses, pp. 171–177.

B

Bala A. Y., Saule H. (2012). *Vectorial potential of Napel in transmitting parasites of medical importance in Arille*. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 20, 111–115.

Beccaloni G. W. (2014). *Cockroach Species File Online*, version 5.0/5.0. Publication électronique sur le World Wide Web. Disponible sur : <http://Cockroach.SpeciesFile.org>.

Bégué P., Astruc J. (1999). *Pathologies infectieuses de l'enfant*, édition: Masson, Paris, 597 p.

Bell, W. J., Roth, L. M., & Nalepa, C. A. (2007). *Cockroaches: Ecology, Behavior, and Natural History*. Baltimore, MD: The Johns Hopkins University Press. 248 pages.

Benameur, Q., Tali-Maamar, H., Assaous, F., Guettouc, B., Rahal, K., & Ben-Mahdi, M. H. (2019). Detection of multidrug-resistant *Escherichia coli* in the ovaries of healthy broiler breeders with emphasis on extended-spectrum β -lactamases producers. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 64, 163–167.

Lagha, N. (2015). *Étude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat* [Thèse de doctorat en biologie]. Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen. 79 p

Betty A. F., Sham D. F., Westfield A. S. (2007). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology* (12^e éd.). Elsevier Moby, 323 p.

BioMérieux. (2002). *API 20E : Système d'identification pour les Entérobactéries et autres bacilles Gram négatif non exigeants* (Réf. 20 100 / 20 160). BioMérieux.

Boné, E., González-Audio, P. A., & Sara, V. (2020). Spatial repellency caused by volatile pyrethroids is olfactory-mediated in the German cockroach *Blattella germanica* (Dictyopteran: Blattellid). *Neotropical Entomology*, 49(2), 275–283.

Bonnet R. (2006). β -lactamines et Entérobactéries. In : *Antibiogramme*. Paris : Éditions ESKA, pp. 141–162.

Bouguenoun W. (2017). *Étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma* [thèse de doctorat d'État]. Université Badji Mokhtar, Annaba, 170 p.

Brahmi, S., Touati, A., Dunyach-Remy, C., Sotto, A., Pantel, A., & Lavigne, J.-P. (2016). High prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in wild fish from the Mediterranean Sea in Algeria. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 16(4), 230.

C

Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (C.A.S.F.M.). (1998). *Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie* (114 p).

Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (C.A.S.F.M.). (2010). *Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie* (114 p).

Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (C.A.S.F.M.). (2017). *Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie* (114 p).

Calarco, J., Pruden, A., & Harwood, V. J. (2024). *Comparison of methods proposed for monitoring cefotaxime-resistant Escherichia coli in the water environment*. *Applied and Environmental Microbiology*, 90(5)

Calgagno F., Lacroix R. (2011). *Pharma-memo Infectiologie*. Paris : Éditions Vernazobres-Greco, 246 p.

Chaalal, N. (2020). *Épidémiologie moléculaire des bactéries multi-résistantes isolées de la chaîne alimentaire en Algérie* [Thèse de doctorat en Biologie Santé, Université de Montpellier & Université Abderrahmane Mira – Béjaïa]. Université de Montpellier.

Cissé, H. K. (2020). *Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées de pus, d'hémoculture et de selles au CHU du point G* [Thèse de doctorat, Université des Sciences, Techniques et Technologies de Bamako, Faculté de Pharmacie]. 118 p.

Cochran, D. G. (1979). Ulric acid accumulation in young American cockroach nymphs. *Experimental and Applied Acarology*, 25, 153–157.

Cochran, D. G. (1999). *Cockroach: Their biology, distribution and control*. Genève : World Health Organization. 73 p.

Coque, T., Baquerot, F., & Cantón, R. (2008). Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Eurosurveillance*, 13(47), 1–11.

Cornwell, P. B. (1968). *The cockroach : A laboratory insect and an industrial pest* (Vol. 1, 116 p.).

D

Debabza, M. (2015). *Émergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire* [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba]. Thèses Algérie 217p.

Débarras, C. (2014). *Pratique en microbiologie de laboratoire. Recherche de bactéries et de levures-moisissures*. Paris : Édition Lavoisier, pp. 235–257.

Denis, F., & Ploya, M.-C. (2007). *Bactériologie médicale : techniques usuelles*. Paris : Elsevier Masson, pp. 316–318.

Donald G. Cochran. (2009). Blattodea (Napel). In *Encyclopedia of Insects* (2^e éd., pp. 108–111).

E

El Bouma, M. C. (2017). *Étude épidémiologique-moléculaire des Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi au CHU de Marrakech* [Thèse de doctorat, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc]. 131 p.

Elgderi, R. M., Ghenghesh, K. S., & Berbash, N. (2006). Carriage by the German cockroach (*Blattella germanica*) of multiple-antibiotic-resistant bacteria that are potentially

pathogenic to humans, in hospitals and households in Tripoli, Libya. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 100(1), 55–62.

Emmanuel, E. (2004). *Évaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers* [Thèse de doctorat en Sciences et Techniques du Déchet, INSA de Lyon]. Thèses en ligne – HAL. 246 p.

G

Gordon, D. G. (1996). *The Compleat Cockroach: A Comprehensive Guide to the Most Despised (and Least Understood) Creature on Earth*. Berkeley : Ten Speed Press. 178 p.

Grandcolas, P. (1998). The evolutionary interplay of social behavior, resource use and resource behavior in behavioral, Barberine, Génine and Génine rôle : à phylogenetic analysis. *Cladistics*, 14, 117–127.

Grappin, M., Chavanet, P., & Portier, H. (2007). *Le manuel du généraliste (2e éd.) : de l'antibiotique à l'antibiothérapie*. Paris : Elsevier Masson SAS, p. 77.

Guiraud, P. J. (2012). *Microbiologie alimentaire* : Les Presses, ISBN, pp. 80–171.

H

Habbachi. (2013). *Étude des blattes (Dictyoptères) : essai toxicologique, synergie et résistance aux insecticides et aux biopesticides* [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba, Algérie]. 170 p.

Hincky-Vitrat, V. (2008). *Les céphalosporines de 3ème et 4ème générations* [Rapport du Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Grenoble]. Grenoble : CHU Grenoble. 14 p.

Hoben, H. J., & Somasegaran, P. (1992). Comparison of the pour, spread, and drop plate methods for enumeration of *Rhizobium* spp. In inoculants made from presterilized peat. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(5), 1817–1819.

J

Jacoby, G. A., & Munoz-Price, L. S. (2005). The new β -lactamases. *The New England Journal of Medicine*, 352, 380–391.

Joly, B., & Reynaud, A. (2002). *Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic*. Paris : DOC et Éditions Médicales Internationales, 356 p.

K

Kasama, M., & Hamadi, S. (2013). *Évaluation de la résistance aux antibiotiques des souches des Entérobactéries isolées à l'Établissement Hospitalier Spécialisé de Constantine* [Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine 1, Algérie]. Spécialité : Microbiologie et Hygiène Hospitalière, 62 p.

Khennouchi, N. C. (2016). *Évaluation de l'antibiorésistance du genre Enterobacter aux antibiotiques* [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba], 15 p.

Koumedjina, K.-V. (2019). *Évaluation de la connaissance et de l'application des mesures de prévention des infections nosocomiales dans le service des maladies infectieuses du CHU de Point G* [Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bamako, Mali], 13 p.

L

Le Minor, L., & Véron, N. (1989). *Bactériologie médicale*. In *Médecine/Sciences* (pp. 333–318 ; 773–823). Éditions Flammarion, Paris.

Lecomte, F. (1999). *Les infections urinaires de la femme*. Paris : Éditions John Libbey Eurotext.

Lien, L. T. Q. (2018). *Antibiotic resistance : Implications of hospital practices for public health – A study from Hanoi, Vietnam* [Thèse de doctorat, Department of Public Health Sciences, Institut Karolinska, Suède].

Linnaeus, C. (1767). *Systema naturae per regna tria naturae: secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Tomus I, Pars II (12^e éd.). Holmiae [Stockholm] : Laurentii Salvii, pp. 687–689.

Lobel, B., & Soussy, C. J. (2007). *Antibiogramme et choix des antibiotiques*. Paris : Elsevier Masson.

M

- Madigan, M., & Martinko, J. (2009).** *Biologie des microorganismes* (11^e éd.). France : Pearson Éducation, 1200 p.
- Mangin, L. (2016).** *Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public* [Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine].
- Martin, L. J., Adams, R. I., Bateman, A., Bik, H. M., Hawks, J., Hird, S. M., Hughes, D., Kembel, S. W., & Kinney, K. (2015).** Evolution of the indoor biome. *Trends in Ecology & Evolution*, 30(4), 223–232.
- Mehainaoui, A. (2022).** *Isolement, identification des microorganismes des cafards et étude de leur comportement vis-à-vis des antibiotiques : Environnement hospitalier et communautaire* [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba] 244p.
- Mehainaoui, A., Menasria, T., Benouagueni, S., Benhadj, M., Lalaoui, R., & Gacemi-Kirane, D. (2021).** Rapid screening and characterization of bacteria associated with hospital cockroaches (*Blattella germanica*) using MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Applied Microbiology*, 130(3), 2 p.
- Mezhoud, H., Boyen, F., Touazi, L. H., Garmyn, A., Moula, N., Smet, A., Haesbrouck, F., Martel, A., Iguer-Ouada, M., & Touati, A. (2015).** Extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* in broiler breeding roosters : Presence in the reproductive tract and effect on sperm motility. *Animal Reproduction Science*, 159, 205–211.
- Michel-Briand, Y., & Chabert, Y. (2009).** Une histoire de la résistance aux antibiotiques à propos de six bactéries. Paris : L'Harmattan. *Microbille*, 5, 791–795.
- Moges, F., Ayalew, G., Dagnachew, M., Eshetie, S., Endris, M., & Feleke, T. (2016).** Cockroaches as a source of high bacterial pathogens with multidrug-resistant strains in Gondar Town, Ethiopia. *Hindawi Publishing Corporation*, 1–5.
- Monnet, D. L. (2011).** Infections nosocomiales et résistance aux antibiotiques : un défi pour la santé publique. *Organisation mondiale de la Santé*.
- Mourier, A. (2014).** *Lutte intégrée contre deux insectes synanthropes : Blattella germanica et Cimex lectularius. Apports de l'écologie scientifique pour le conseil à l'officine* [Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bordeaux], 101 p.

Moussa, N., & Moussaoui, F. (2016). *Recherche des Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi dans les viandes de volaille* (Mémoire de master, Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement). Université de Tébessa, Tébessa, Algérie, 57 p.

Mouton, Y., Délocker, Y., Dubreuil, L., & Bingen, E. (2000). *Antibiotiques, antiviraux, anti-infectieux* (Éd.). Paris : John Libbey Eurotext, 285 p.

Mullen, G. R., & Durden, L. A. (2009). *Medical and veterinary entomology* (2nd Ed.). Academic Press, 637 p.

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2015). *Medical Microbiology* (8e éd.). Elsevier.108-260-261 p.

N

Naher, A., Afroz, S., & Hamid, S. (2018). Cockroach associated foodborne pathogens : Distribution and antibiogram. *Bangladesh Medical Research Council Bulletin*, 44(1), 30–38.

Nauciel, C., & Vildé, J.-L. (2005). *Bactériologie médicale* (pp. 49–58). Paris : Masson.

Nazari, S., Habibi, F., Nazari, S., Hosseini, S. M., & Nazari, M. (2020). Bacterial contamination of the external surface of cockroaches and their antibiotic resistance in hospitals of Hamadan, Iran. *Journal of Post graduate Medical Institute*, 34(2), 104–109.

Ndiaye, A. (2005). *Les Entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre élargi* (Thèse de doctorat en pharmacie). Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal, 65 p.

O

Oliveira, D. C., Tomasz, A., & de Lencastre, H. (2010). Secrets of success of a human pathogen: Molecular evolution of pandemic clones of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet Infectious Diseases*, 10(9), 798–806.

World Health Organization (WHO). (2024). *Bacterial priority pathogens list, 2024 : Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance*. Geneva : WHO.

P

Pebret, F. (2003). *Maladies infectieuses (toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales)*. Heures de France, 589 p.

Philippon, A. (2008). *Résistance bactérienne : définition, mécanismes, évolution.* Paris, France : Elsevier Masson SAS.

Pilet, C., Bourdon, J., & Thomas, B. (1979). *Les Entérobactéries : bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne.* Dois, Paris, pp. 109–187.

Pilly, E. (2013). *Maladies infectieuses tropicales (24e éd.).* Groupe Burlat, Paris, 227 p.

Poole, K. (2005). Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(2), 479–487.

Pourrait, J.-L., & Martin, C. (2005). *Principes de réanimation chirurgicale (2e éd.).* Annette Groupe Liaisons, Rueil-Malmaison, 1437 p.

Prescott, L. M., Sherwood, L. M., Woolverton, C. J., & Dusart, J. (2018). *Microbiologie.* Bruxelles, Belgique : De Boeck Supérieur.

R

Rahal, K., Belouni, R., & Benslimani, A. (2005). Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. *Recueil de l'OMS*, 4e édition, Algérie, 46–52.

Rehn, J. A. (1945). Man's uninvited fellow traveler the cockroach. *The Scientific Monthly*, 61(4), 265–276.

Rivault, C., Cloarec, A., Mathieu, N., & Blanes, N. (1993). Bacterial contamination of food by cockroaches : Role and implications. *Journal of Environmental Health*, 55(6), 21–22.

Rivault, C., Cloarec, A., Mathieu, N., & Blanes, N. (1994). Les blattes : un animal de ville à toutes saisons. *Annales de la Recherche Urbaine*, 61, 33–38.

Roger Dao. (2010). *Dictionnaire d'entomologie : Anatomie, systématique, biologie.* Tec & Doc Lavoisier, pp. 38–70.

Roth, L. M., & Willis, E. R. (1957). The medical and veterinary importance of cockroaches. *Smithsonian Miscellaneous Collections*, 134, 1–147.

Roth, L. M., & Willis, R. E. (1960). *The biotic association of cockroaches.* Baltimore, MD: The Lord Baltimore Press.

Roth, L. M. (2003). Systematics and phylogeny of cockroaches (Dictyoptera : Blattaria). *Oriental Insects*, 37(1), 1–186.

Rust, M. K., Owens, J. M., & Reiersen, D. A. (1995). *Understanding and controlling the German cockroach*. New York : Oxford University Press.

S

Salehzadeh, A., Tabacole, P., & Mahjoub, H. (2017). Bacterial, fungal, and parasitic contamination of cockroaches in public hospitals of Hamadan, Iran. *Journal of Hamadan Infectious Diseases*, 105–110.

Sheehan, W. J., Phipatanakul, W., Wood, R. A., Rivard, D., Perzanowski, M. S., Chew, G. L., Seltzer, J. M., Matsui, E. C., & Matsui, W. (2010). Pest and allergen exposure and abatement in inner-city asthma : A workgroup report of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Indoor Allergen/Air Pollution Committee. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(3), 575–581.

Shields, P., & Cathcart, L. (2010). Oxidase test protocol. *American Society for Microbiology*.

Smith, J. A. (2023). The impact of *Blattella germanica* on human health. *Journal of Pest Control*, 15(2), 35–42.

Soussy, C.-J. (2007). Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Monographies en urologie*, 21–46.

Stora, D. (2010). *Cahier du préparateur en pharmacie : Classe pharmacologique* (4e éd.). Wolters Kluwer, pp. 43–62.

T

Tang, Q., Bourguignon, T., Willemse, L., De Coninck, E., & Evans, T. (2019). Global spread of the German cockroach, *Blattella germanica*. *Biological Invasions*, 21(3), 693–707.

Tatfeng, M. U., Usuelle, A., Roupe, A. K., Dibang, M., Okou, F., & Tura, A. (2005). Mechanical transmission of pathogenic organisms : The role of cockroaches. *Journal of Vector Borne Diseases*, 42, 129–134.

Thomsen, T. T. (2016). *Peptide antibiotics for ESKAPE pathogens: Past, present and future perspectives of antimicrobial peptides for the treatment of serious Gram-negative and Gram-positive infections* (Thèse de doctorat, Université de Copenhague, Département de Biologie, Faculté des Sciences).

Tokro, G. (2014). *Les phéromones sexuelles chez Blattella germanica (Insecte, Dictyoptère) : Sécrétion d'une phéromone sexuelle volatile par le pygidium des femelles* (Thèse de Doctorat en Biologie Cellulaire et Moléculaire, option Entomologie). Université de Bourgogne, Dijon, France, 54 p.

Toua, G., Lo, N., Tachasse, A., Yamada, A., Hayashi, Y., & Watanabe, H. (2008). Purification and partial genome characterization of the bacterial endosymbiont *Blattabacterium cuenoti* from the fat bodies of cockroaches. *BMC Research Notes*, 1, 1–9.

V

Vaubourdolle, M. (2007). *Infectiologie* (Tome 3). Collection dirigée par Michel Vaubourdolle. Wolters Kluwer SA, pp. 745–852.

Vittecoq, M., Godreuil, S., Prugnolle, F., Durand, P., Brazier, L., Renaud, N., Arnal, A. (2016). Antimicrobial resistance in wildlife. *Journal of Applied Ecology*, 53(2), 519–529.

Vora, S., & Auckenthaler, R. (2010). Que signifie « bêta-lactamases à spectre élargi » en pratique *Revue Médicale Suisse* N°220.

W

Wattiez, C., & Beys, B. (1999). *Pas de pesticides à la maison : Solutions sans danger pour le contrôle de bestioles indésirables*. Pest Action Network (PAN) Belgique, 12 p.

Y

Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., & Ouar Korich, M. N. (2001). *Classification et modes d'action des antibiotiques* (N°91).

Webographies

1. <https://link.springer.com/article/10.2165/00003495-199040040-00008> [Consulté le 12 février 2025].
2. https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/tc/2021/TP_n_3_microbiologie.pdf [Consulté le 14 Mars 2025].
3. <https://microbiologie-clinique.com/Coloration-Gram.html> [Consulté le 26 Mars 2025].
4. <https://microbiologyinfo.com/oxidase-test-principle-uses-procedure-types-result/> [Consulté le 10 Mars 2025].
5. <https://lab.upbm.org/> [Consulté le 19 Avril 2025].