



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة العربي التبسي _ تبسة

Université de Larbi Tébessi –Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Département : Biologie Appliquée

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

En Microbiologie Appliquée

Option : MICROBIOLGIE APPLIQUEE

Thème :

**Evaluation de la résistance aux antibiotiques des
souches d'entérobactéries isolées de sondes
urinaires**

Présenté par :

MAGHZAoui Ibtissem NEGRICHI Mabrouka DAOUADI Abderrazek

Devant le jury :

Président : Mr BENLAKHAL. MCB. Université de Larbi Tébessi
A (Tébessa).

Examinatrice : Mme CHADI. H MAA. Université de Larbi Tébessi
A (Tébessa).

Promoteur : Mr MECHAI. A MCA. Université de Larbi Tébessi
A (Tébessa).

Co-promotrice : Mme DEBABZA. M MCA. Université de Larbi Tébessi
A (Tébessa).

Date de Soutenance: 20/06/2019

Année universitaire: 2018/2019

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



المخبر ٣ ص

تمثل زيادة وانتشار المقاومة البكتيرية سالبة الجرام للمضادات الحيوية مشكلة صحية كبرى حول العالم. لأجل ذلك تم إجراء هذه الدراسة لتقييم مدى مقاومة المضادات الحيوية من قبل البكتيريا المعوية المعزولة من القسطنطينات البولية للمرضى النزلاء في مستشفيات مختلفة من ولاية تبسة.

تم التعرف على 37 سلالة من البكتيريا المعوية من بين 89 عينة تم أخذها من القسطنطينات البولية للمرضى. و تم اختبار الحساسية للمضادات الحيوية طبقاً لتوصيات الجمعية الفرنسية لعلوم الأحياء الدقيقة (طريقة انتشار القرص على الجيلوز).

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن سلالات البكتيريا المعوية تُعبر و بدرجات متفاوتة عن مقاومتها لمعظم β -lactamines التي تم اختبارها، باستثناء imipénème الذي أظهر نشاطاً ملحوظاً على كل سلالات البكتيريا المعوية، مع معدل حساسية يقدر بـ 91 بالمئة.

أظهرت les aminosides et les fluoroquinolones نشاطاً معتبراً على البكتيريا المعوية، و بالأخص l'amikacine و الذي بلغ معدل حساسيته 100 بالمئة.

كلمات مفتاحية : قسطنطينات بولية، التهابات المستشفيات، عدوى المسالك البولية، البكتيريا المعوية، مقاومة المضادات الحيوية.

Résumé

L'augmentation et la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif, particulièrement les entérobactéries, représentent un problème majeur de santé publique au niveau mondial. Dans cette optique, les objectifs de travail est d'isoler et d'identifier des souches d'entérobactéries à partir des sondes urinaires des malades hospitaliers de la Wilaya de Tébessa, et d'évaluer leurs résistance aux antibiotiques in-vitro de ces germes dans cette même région.

Le prélèvement et l'isolement ont été effectués selon les techniques usuelles, l'identification a été réalisée par la galerie biochimique API 20E. Alors que le test de sensibilité aux antibiotiques, par la méthode de diffusion de disques sur gélose a été réalisé selon les recommandations de la Société Française de Microbiologie.

A la lumière des résultats obtenus, il s'avère que sur 89 prélèvements effectués à partir des sondes urinaires, 37 souches d'entérobactéries ont été identifiées. Ces dernières ont montré une prédominance de *Raoultella ornithinolytica* avec 30 %, suivie d'*E. coli* avec 24 %, alors *Enterobacter cloacae* avec 11 %, ensuite *Serratia odorifera* et *Klebsiella pneumoniae* avec 08 %, puis *Klebsiella oxytoca* et *Citrobacter freundii* avec 05 % et finalement *Citrobacter koseri*, *Providencia rettgeri* et *Serratia ficaria* avec 03 %.

L'étude de l'antibiorésistance de ces germes isolés est montré que les souches d'entérobactéries expriment à des degrés variés, une résistance vis-à-vis la plupart des β - lactamines testés à l'exception d'imipénème qui garde toujours une activité remarquable sur toutes les souches d'entérobactéries, avec un taux de sensibilité 91 %.

Les aminosides et les fluoroquinolones présentent également une activité important sur les entérobactéries, en particulier l'amikacine dont le taux de sensibilité est toujours 100 %.

Mots clés : sondes urinaires, infections nosocomiales, infections urinaires, entérobactéries, résistance aux antibiotiques.

Abstract

The increase and spread of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria, particularly enterobacteria, represent a major public health problem worldwide.

In this context, the objectives of our work is to evaluate the antibiotic resistance of enterobacteria strains isolated from urinary catheters of patients hospitalized at different hospitals in the Wilaya of Tebessa.

Out of 89 samples taken from urinary catheters, 37 strains of enterobacteria have been identified; the antibiotic susceptibility test (disk diffusion method on MH agar) was carried out according to the recommendations of the French Society of Microbiology.

The results showed that enterobacterial strains express resistance to most β -lactams tested to varying degrees with the exception of imipene, which still has remarkable activity on all enterobacterial strains, with a sensitivity rate of 91 %.

Aminoglycosides and fluoroquinolones also present an important activity on enterobacteria, especially amikacine whose sensitivity rate is 100 %.

Key words : urinary tract, nosocomial infections, urinary tract infection, enterobacteria, antibiotic resistance.



Remerciements

*Ce mémoire a été élaboré au prix de longues heures de travail, est aussi le fruit d'une étroite collaboration avec **Dr. Mechai Abdelbaset** notre encadrant et **Dr. Debabza Manel**, notre co-encadrante, que nous remercions pour l'aide, le soutien et la disponibilité.*

Nous remercions

Dieu le tout puissant, le très miséricordieux et à son prophète (paix et salut sur lui) ; pour nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience de mener à bien ce travail. Et qui nous a éclairé les chemins par la lumière de son immense.

Nos remerciements vont également :

Au président du jury

Monsieur Benlakhel. A

Vous nous avez fait l'honneur de présider ce jury. Veuillez recevoir l'expression de notre profonde reconnaissance.

À l'examinatrice du jury,

Madame Chadi. H

Nous avons apprécié la qualité de votre enseignement. Nous sommes très honorés de votre présence dans ce jury.

Monsieur le Docteur Mechai Abdelbaset

Vous nous avez guidés tout au long de l'étude qui n'aurait pu être réalisée sans votre disponibilité et votre précieuse aide. Nous espérons que vous serez satisfait de ce travail et nous vous exprimons notre profonde reconnaissance.

Madame le Docteur Debabza Manel

Notre chère co-encadrante pour avoir accepté de diriger ce travail, ainsi que pour ses conseils avisés et le soutien durant l'élaboration de ce mémoire.

Nous souhaitons également remercier l'ensemble des laborantins, aux personnels de santé qui ont accepté de participer à cette étude.

Et pour finir

Nous tenons à remercier toutes les personnes aux quels nous pensons sans les citer, et toutes les personnes que nous avons dû oublier, toutes personnes ayant contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.



Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents

Aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer réellement votre juste valeur, mon profond amour que je vous porte, mon respect et ma vive gratitude.

Ma très chère maman Yamina ; *tu as toujours été pour moi, l'exemple de l'amour, de la scarifier et de l'optimisme.*

Mon très cher père Mokhtar ; *tu as toujours été pour moi, l'exemple de l'honnêteté, de la persévérance et de la patience.*

Mes parents votre confiance et votre encouragement m'ont toujours donné de la force pour persévérer et continuer toujours vers l'avant. Je mets entre vos mains, le fruit de toutes vos peines et vos sacrifices. Chaque ligne de cette mémoire, chaque mot vous exprime la reconnaissance, le respect, l'estime et le merci d'être toujours avec moi. Quoique je fasse, je ne pourrais vous rendre ce que vous avez fait pour moi.

Ma très chère sœur Imene ; *Tu m'as toujours aidé et ces quelques lignes sont insuffisantes pour exprimer mon profond amour et ma reconnaissance pour les honorables services soutenus.*

Que cette mémoire te traduise ma profonde affection.

Mes très chers frères Hakime et Abdelhak

Veillez trouver dans ce travail un modeste témoignage de mon amour et toute ma gratitude, de mon affection la plus sincère et de mon attachement le plus profond. Je vous souhaite une belle vie.

Mon rapporteur de mémoire

Dr. Mechai Abdelbasset

*Qui par son expérience et son enthousiasme,
m'a permis de surmonter les difficultés.*

Veillez trouver ici l'expression de ma gratitude et mon respect.

Ma très chère co-encadrante Dr. Debabza Manel

*Je vous remercie pour m'avoir aidé et sans cess guidé tout au
long de ce travail avec rigueur et optimisme. Votre gentillesse et vos
qualités humaines ont toujours suscité m'admiration.*

Mon très cher fiancé : Bassem

*Pour son affection, les encouragements, ta gentillesse dont tu m'as
toujours entouré et à ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour...*

Ma très chère binôme Negrichie Mabrouka

*Ma deuxième sœur, jamais j'oublie les beaux moments qui nous passons
ensembles tout au long de cette expérience merveilleuse, Je vous souhaite
beaucoup de réussite et de bonheurs autant dans votre vie professionnelle que
privée.*

A tous Mes amies proches et spécialement : Maroua, khaoula

*En souvenir des moments merveilleux que nous avons passés et la pure amitié. Je
vous souhaite plus de succès.*

Tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Et à tous ce qui m'ont enseigné au long de ma vie scolaire.

Dédicaces

Avec tout respect et amour je dédie ce modeste travail

À mes chers parents Kamel & Yasmina

Qui m'ont soutenue et encouragée durant ces années d'étude et pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué, avec tous les moyens et au prix de tous les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfance.

À mes chères sœurs Wissam, Nawel, Samira, Amina et Kinda

Et leurs enfants Shaima, Rahma, Sami, Youssef, Amani, Kamel et Aline

Pour tout leur soutien moral et leur amour et affection, et particulièrement Samira pour me motiver à avoir autant de succès et de réussite.

À tous mes proches de la famille Negrichi.

À mon encadrant Dr. Machai Abdelbasset

Pour avoir accepté d'endosser la charge de promoteur, malgré ses nombreuses occupations. Ses encouragements m'ont beaucoup édifiée, et son encadrement scientifique a toujours été pour moi une lumière pour comprendre un peu plus de ces merveilles que le monde de la microbiologie porte en lui.

À ma chère co-encadrante Dr. Debabza Manel

*Pour la supervision avec une attention particulière.
J'aimerais simplement dire qu'elle m'a beaucoup donné,
bien loin au-delà de ce que je pouvais attendre.
Qu'elle en soit infiniment remerciée !*

À Dr. Hafdallah Abdelkader

*J'ai été très touchée par la simplicité avec laquelle vous
m'avez aidée pour la réalisation de ce travail. Vos qualités humaines,
votre rigueur dans la perfection font de vous un très grand maître.*

À ma chère binôme Maghzaoui Ibtissem et à toute sa famille

*Ma douce sœur qui a eu la patience de me supporter durant ce mémoire,
et qui m'a soutenue et encouragé pendant tous les moments difficiles vécus,
je t'aime beaucoup ma chère.*

À Ami-Rachid pour l'encouragement permanent et le support technique ayant
facilité ce travail.

À tante Zouhra pour sa présence et son Douaa.

A tous les étudiants de ma promotion de microbiologie.

**Aux patients qui ont accepté de participer pour la réalisation de ce mémoire, et à
tous ceux qui combattent les maladies autour du monde.**

Dédicaces

Je dédie ce travail

A vous ma chère famille :

Ma femme ASMA et mon fils Ahmed Taha

Vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessé ni diminué.

Votre bonté, votre générosité et vos sacrifices sont sans limite. Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.

A ma grande famille, celle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

Maman, qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'étude.

Mon père, qui n'a jamais cessé de formuler des prières à mon égard.

Mes frères mes sœurs, pour leur support continuel et leur amour.

A toute la famille : Daouadi et Benmekideche

A mon ami et frère Hassen Merazougui et toute sa famille,

Je te souhaite tout le bonheur et la réussite.

A mon amie et petite sœur Chaima Selim,

Merci pour tous les aides et l'encouragement durant mes études je te souhaite une vie pleine de joie et de bonheurs.

A Toutes mes amies et mon couple de travail et a tous la promotion de 2ème année Master de la Microbiologie Appliquée et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible.

 **Daouadi Abderrazek**

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre du tableau	Page
01	Résistance naturelle chez les entérobactéries.	14
02	Classe et cible d'action des antibiotiques.	16
03	Liste des β -lactamines.	17
04	Liste des antibiotiques testés.	29
05	Résultats l'API 20E.	35
06	Fréquence des souches isolées des échantillons examinés.	40
07	Les résultats de l'antibiogramme pour toutes les souches isolées.	42
08	Profil de résistance aux antibiotiques testés sur <i>Raoultella ornithinolytica</i> , <i>Escherichia coli</i> 1 et <i>Enterobacter cloacae</i> .	46
09	Profil de résistance aux antibiotiques testés sur <i>Serratia odorifera</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> et <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	48
10	Profil de résistance aux antibiotiques testés sur <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter koseri</i> , <i>Serratia ficaria</i> et <i>Providencia rettgeri</i> .	50

LISTE DES FIGURES

N°	Titre de la figure	Page
01	Forme topographique des types des infections urinaires.	04
02	Sonde urinaire.	05
03	Mécanismes d'acquisition d'infection urinaire sur sonde.	06
04	Mode d'action des bêtalactamines.	18
05	Réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame.	21
06	Méthode d'ensemencement en quadri.	25
07	Disposition des disques d'antibiotiques sur boîtes.	30
08	Différentes morphologies des colonies sur la gélose Mac Conkey.	33
09	Différentes formes des bactéries sous microscope optique.	34
10	Identification par l'API 20E des espèces d'entérobactéries isolées.	38
11	Distribution des souches d'entérobactéries.	41
12	Profil de résistance des souches testées des entérobactéries aux antibiotiques.	45
13	Illustration de l'antibiogramme des espèces d'entérobactéries isolées.	51

LISTE DES ABREVIATIONS

% : Pourcent.

°C : Degré Celsius.

AAC : Aminosides N-acétyltransférases.

ADH : Arginine dihydrolase.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AK : Amikacine.

AME : Enzyme Modifiant les Aminosides.

AMX : Amoxicilline.

AMY : Amygdaline.

ANT : Aminosides O-nucléotidyltransférases.

APH : Aminosides O-phosphotransférases.

API 20E : Analytical Profile Index 20E (E= Enterobacteries).

ARA : L-arabinose.

ARN : Acide Ribonucléique.

ARN_m : Acide Ribonucléique Messenger.

ARN_r : Acide Ribonucléique ribosomique.

ATB : Antibiotique.

ATM : Aztréonam.

BGN : Bacille à Gram négatif.

C1G : Céphalosporines de 1^{ère} Génération.

C2G : Céphalosporines de 2^{ère} Génération.

C3G : Céphalosporines de 3^{ère} Génération.

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

CAZ : Céfotaxime.

CIP : Ciprofloxacine.

CIT : Citrate.

CL : Céfalexine.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

COT : Co-Trimoxazole.

CTX : Céfotaxime.

CX : Céfoxitine.

d : Diamètre Critique Inferieur.

D : Diamètre Critique Supérieur.

ECA : Enterobacteriaceae Common Antigen.

EHS : Etablissement Hospitalier Spécialisé.

EPH : Etablissement Public Hospitalier.

g : Gramme.

GEL : Gélatinase.

GEN : Gentamicine.

GHR : Grossesses à Haut Risque.

GLU : Glucose.

GyrA : DNA Gyrase Subunit A.

GyrB : DNA Gyrase Subunit B.

h : Heure.

H₂S : Sulfure d'hydrogène.

I : Intermédiaire.

IND : Indole.

INO : Inositol.

IPM : Imipénème.

LDC : Lysine décarboxylase.

LPS : Lipopolysaccharide.

MAN : D-mannitol.

MEL : D-melibiose.

mg : Milligramme.

min : Minute.

ml : Millilitre.

mm : Millimètre.

Nbr : Nombre.

NIT : Nitrate réductase.

ODC : Ornithine décarboxylase.

OF : Ofloxacin.

OmpC : Outer membrane protein C.

OmpF : Outer membrane protein F.

ONPG : Ortho-Nitrophényl-β-galactoside.

ParC : DNA Topoisomerase IV Subunit C.

ParE : DNA Topoisomerase IV Subunit E.

PBP : Pénicillines Binding Proteins.

PLPs : Protéines Liant les Pénicillines.

PRL : Pipéracilline.

QRDR : Quinolone Resistance Determining Region.

R : Résistant.

RHA : L-rhamnose.

rpoB : Ribonucleic Acid Polymerase Beta Subunit.

S : Sensible.

SAC : D-saccharose.

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline.

SOR : D-sorbitol.

TC : Ticarcilline.

TDA : Tryptophane désaminase.

TTC : Ticarcilline + Acide clavulanique.

UFC : Unités formant colonie.

URE : Uréase.

VP : Voges Proskauer.

TABLE DES MATIÈRES

	Page
RÉSUMÉ (en Arabe)	i
RÉSUMÉ (en Français)	ii
RÉSUMÉ (en Anglais)	iii
REMERCIEMENTS	iv
DEDICACES	vi
LISTE DES TABLEAUX	xi
LISTE DES FIGURES	xii
LISTE DES ABREVIATIONS	xiii
TABLE DES MATIÈRES	xvi
INTRODUCTION	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Les infections urinaires

I. 1. Définition des infections urinaires	3
I. 2. Les types d'infections urinaires	3
I. 1. 1. La cystite	3
I. 1. 2. L'urétrite infectieuse	3
I. 1. 3. La pyélonéphrite	3
I. 1. 4. La prostatite aiguë	4
I. 3. Les infections urinaires nosocomiales	4
I. 4. Définition du sondage urinaire	4
I. 5. Les infections urinaires sur sonde	5
I. 5. 1. Acquisition lors de la mise en place de la sonde	5
I. 5. 2. Acquisition par voie endoluminale	6
I. 5. 3. Acquisition par voie extraluminale périurétrale	6
I. 5. 4. Acquisition par voie lymphatique ou hématogène	6
I. 6. Les facteurs de risque d'un sondage urinaire	7
I. 6. 1. La durée du sondage	7
I. 6. 2. Le sexe féminin	7
I. 6. 3. Le diabète	7

I. 6. 4. L'absence d'antibioprophylaxie	7
I. 6. 5. Le lieu d'hospitalisation semble avoir un impact	7
I. 6. 6. Le sondage inapproprié	8
I. 6. 7. Une rupture du système de drainage clos	8

Chapitre II : Les entérobactéries

II. 1. Définition des entérobactéries	9
II. 2. Classification des entérobactéries	9
II. 2. 1. Caractères bactériologiques des entérobactéries	9
II. 2. 1. 1. Les caractères morphologiques	9
II. 2. 1. 2. Les caractères cultureux	10
II. 2. 1. 3. Les caractères biochimiques	10
II. 2. 1. 4. Les caractères antigéniques	11
II. 3. Habitat des entérobactéries	12
II. 4. Les infections urinaires aux entérobactéries	13
II. 5. Les infections nosocomiales aux entérobactéries	13
II. 6. Antibiorésistance	13
II. 6. 1. Résistance naturelle	13
II. 6. 2. Résistance acquise	14

Chapitre III : Mécanisme de résistance aux ATB

III. 1. Définition des antibiotiques	15
III. 2. Les principales familles d'ATB présentant un intérêt thérapeutique contre les entérobactéries	15
III. 2. 1. Les β -lactamines	16
III. 2. 1. 1. Mécanisme d'action	17
III. 2. 2. Aminosides ou aminoglycosides	18
III. 2. 2. 1. Mécanisme d'action	18
III. 2. 3. Quinolones	19
III. 2. 3. 1. Mécanisme d'action	19
III. 3. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques	20

III. 3. 1. Notion de la résistance bactérienne	20
III. 3. 2. Mécanismes de résistance aux β -lactamines	20
III. 3. 2. 1. Résistance par production des β -lactamases	20
III. 3. 3. Mécanismes de résistance aux aminosides	21
III. 3. 4. Mécanismes de résistance aux quinolones	22

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériel & Méthodes

I. 1. Objectif de l'étude	23
I. 2. Cadre de l'étude	23
I. 3. Matériel et méthodes	23
I. 3. 1. Matériel	23
I. 3. 1. 1. Matériel biologique	23
I. 3. 1. 2. Matériel non biologique	23
I. 3. 2. Méthodes	24
I. 3. 2. 1. Prélèvement	24
I. 3. 2. 2. Enrichissement	25
I. 3. 2. 3. Isolement et purification	25
I. 3. 2. 4. Conservation	26
I. 3. 2. 5. Identification biochimique des isolats	26
I. 3. 2. 6. Étude de la résistance aux antibiotiques	28

Chapitre II : Résultats

II. 1. Isolats bactériens	32
II. 1. 1. Aspect macroscopique	32
II. 1. 1. 1. Sur la gélose Mac Conkey	32
II. 1. 2. Aspect microscopique	33
II. 2. Identification biochimique des isolats	34
II. 3. Antibiogramme	42
II. 3. 1. Profil de résistance de <i>Raoultella ornithinolytica</i> , <i>Escherichia coli</i> 1 et <i>Enterobacter cloacae</i>	46

II. 3. 2. Profil de résistance de <i>Serratia odorifera</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> et <i>Klebsiella pneumoniae</i>	47
II. 3. 3. Profil de résistance de <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter koseri</i> , <i>Serratia ficaria</i> et <i>Providencia rettgeri</i>	49

Chapitre III : Discussion

III. 1. La résistance des <i>Raoultella ornithinolytica</i> aux antibiotiques	55
III. 2. La résistance des <i>Escherichia coli</i> 1 aux antibiotiques	55
III. 3. La résistance des <i>Enterobacter cloacae</i> aux antibiotiques	56
III. 4. La résistance de <i>Serratia</i> aux antibiotiques	56
III. 5. La résistance des <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques	57
III. 6. La résistance des <i>Klebsiella oxytoca</i> aux antibiotiques	57
III. 7. La résistance des <i>Citrobacter freundii</i> aux antibiotiques	58
III. 8. La résistance des <i>Citrobacter koseri</i> aux antibiotiques	58
IX. La résistance des <i>Providencia rettgeri</i> aux antibiotiques	59
Conclusion et perspectives	59

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

INTRODUCTION

Le sondage urinaire est un geste invasif couramment réalisé dans les services hospitaliers. Cette pratique concerne 6 % de l'ensemble des malades hospitalisés. Des études épidémiologiques montrent qu'il existe une relation directe entre le sondage et les infections urinaires nosocomiales (**Bucourt et al., 1996**). Par ailleurs, ces infections urinaires causées par les sondes présentent un profil bactériologique différent avec des résistances aux antibiotiques qui inquiètent par leur impact sur la mortalité (**Elodie et al., 2017**).

L'augmentation du phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques est générale et concerne toutes les espèces bactériennes. L'émergence et la diffusion des bactéries multirésistantes est un phénomène complexe, évolutif et inquiétant, qui entraîne souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité. La situation est d'autant plus alarmante pour les entérobactéries (**Khennouchi, 2016**).

Les entérobactéries sont parmi les souches les plus fréquemment isolées chez les patients hospitalisés et non hospitalisés, on les rencontre dans les prélèvements d'origines diverses, mais particulièrement dans les urines et les prélèvements sanguins qui constituent une part très importante des activités des laboratoires de Bactériologie. Elles sont souvent responsables d'infections urinaires, pulmonaires, de septicémies mais également d'autres infections intra-abdominales. La fréquence et la gravité des infections dont elles sont responsables (infections nosocomiales, méningite etc), traduisent des difficultés de prise en charge liées entre autres à des difficultés d'identification et à de leur résistance à de nombreux antibiotiques (**Ben Moussa, 2016**).

Les entérobactéries présentent en commun la propriété d'avoir naturellement (résistance naturelle), ou de développer (résistance acquise) des résistances aux antibiotiques, facteur essentiel de leur sélection en milieu hospitalier. La dissémination des résistances résulte soit de la dissémination d'une souche résistante dans l'environnement soit de la dissémination de gènes de résistance au sein d'espèces bactériennes différentes (**Debabza, 2015**).

A la lumière de ce qui précède, l'objectif de notre étude est d'isoler et identifier des souches d'entérobactéries isolées de sondes urinaires des malades hospitalisés au niveau des différents établissements hospitaliers de la Wilaya de Tébessa et d'évaluer leurs résistances aux antibiotiques.

Notre manuscrit comportera deux parties, dans un premier temps la synthèse bibliographique et dans un deuxième temps la partie expérimentale qui comprendra le matériel et les méthodes mise en œuvre, ainsi que les résultats obtenus.

Enfin, nous terminerons par une discussion générale qui permettra de faire une synthèse des résultats et de ressortir une conclusion avec quelques perspectives.

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I

Les infections urinaires

I. 1. Définition des infections urinaires :

Une infection urinaire est une infection qui peut toucher une ou plusieurs parties du système urinaire : les reins, les uretères, la vessie et l'urètre. Elle se manifeste le plus souvent par des douleurs ou une sensation de brûlure lors de la miction, parfois par des douleurs abdominales et de la fièvre (Solano, 2014).

L'infection urinaire se caractérise par une multiplication de microorganismes au sein de l'arbre urinaire (bactériurie), s'accompagnant d'une réaction inflammatoire avec afflux de leucocytes (Leucocyturie). Cette infection est majoritairement féminine, le risque d'infection est moindre chez le sexe masculin (Deniset et al., 2007).

I. 2. Les types d'infections urinaires :

Il existe quatre types d'infection urinaires :

I. 2. 1. La cystite :

La cystite ne s'accompagne jamais de fièvre, la symptomatologie associée à des degrés divers :

- ❖ Pollakiurie : mictions fréquentes ou peu abondantes, avec parfois impériosité.
- ❖ Brûlures mictionnelles, urines troubles, parfois hématurie macroscopique.
- ❖ Une cystite peut être totalement asymptomatique, révélée par l'examen microscopique des urines (Anglaret, 2003).

I. 2. 2. L'urétrite infectieuse :

Si l'infection touche uniquement l'urètre, il s'agit souvent d'infection sexuellement transmissible courante chez les hommes et les femmes. Le germe en cause : la chlamydia et le gonocoque (Anglaret, 2003).

I. 2. 3. La pyélonéphrite :

La symptomatologie associée :

- ❖ Des signes de cystite, qui peuvent précéder les autres symptômes de plusieurs jours, mais être absents dans 40 % des cas.
- ❖ Une fièvre, avec parfois des frissons et des signes septiques variés (pouvant aller jusqu'au choc septique). Cette fièvre peut parfois être isolée (en particulier chez la personne âgée et le nourrisson) (Anglaret, 2003).

I. 2. 4. La prostatite aiguë :

Elle se manifeste par des symptômes semblables à celles d'une infection urinaire (signe de cystite), parenchymateuse (fièvre avec frissons et syndrome septique d'intensité variable) ; il s'y associe souvent des douleurs pelviennes antérieures (hypogastriques) ou postérieures (ténesme anal, épreintes) et parfois une rétention aiguë d'urine (**Figure 01**) (**Anglaret, 2003**).

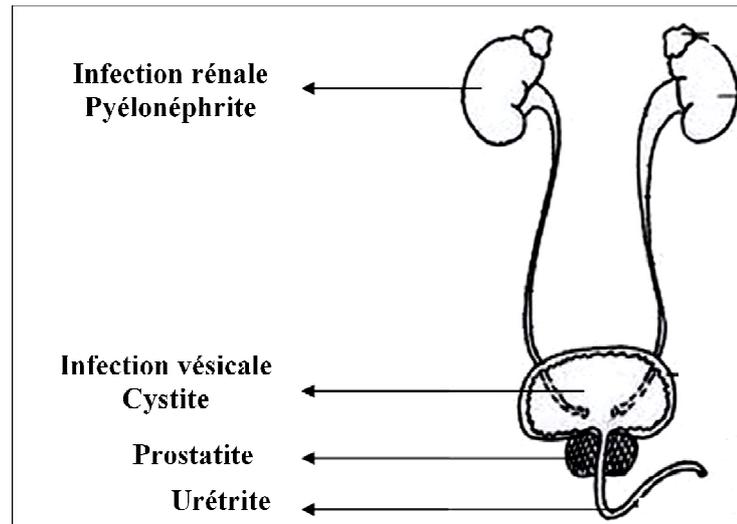


Figure 01 : Forme topographique des types des infections urinaires (Boutoille, 2011).

I. 3. Les infections urinaires nosocomiales :

Selon la conférence de consensus, une infection urinaire est dite nosocomiale lorsqu'elle est acquise dans une structure de soins ou d'une manière plus générale liée à la prise en charge du patient.

L'origine des bactéries nosocomiales est endogène (flore du patient) dans les 2/3 des cas (**Allassem, 2013**).

I. 4. Définition du sondage urinaire :

Les sonde urinaires sont des dispositifs médicaux utilisés à la fois dans les paramètres de maison, de soins infirmiers et à l'hôpital (**Figure 02**) (**Bouklia, 2014**).

Le sondage vésical est défini par l'introduction aseptique d'une sonde stérile dans la vessie par l'urètre (**Allassem, 2013**).

Le sondage est utilisé pour permettre l'évacuation des urines en cas de rétention aiguë ou chronique ou dans un but thérapeutique (**Bouklla, 2014**).

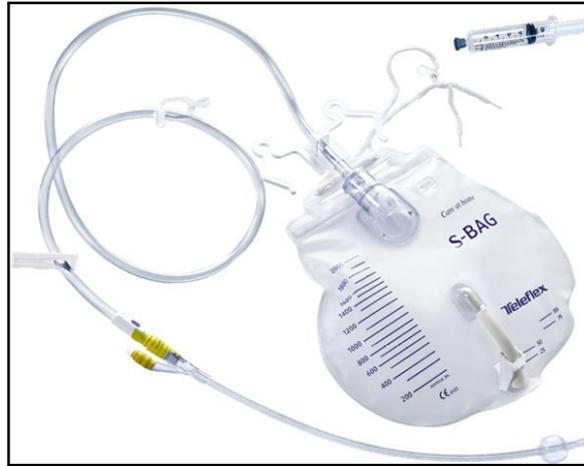


Figure 02 : Sonde urinaire (Teleflex, 2018).

I. 5. Les infections urinaires sur sonde :

Les infections urinaires sur sondes sont le type le plus représentatif des infections nosocomiales (**Hounane, 2011**). La mise en place d'une sonde urinaire perturbe les défenses de l'hôte contre les microorganismes et rend l'infection ainsi possible. L'espace entre la face externe de la sonde et la muqueuse urétrale est un lieu d'interactions, constituant une porte d'entrée pour les microorganismes. Du biofilm recouvre et fixe la bactérie entre la muqueuse et le cathéter, dès les six premières heures de sondage. Ce biofilm est produit par les bactéries sur une matrice protéique de l'hôte. Composé majoritairement de glycocalyx, il leur permet de faire face aux défenses mécaniques et biochimiques de l'hôte et de résister à l'antibiothérapie (**Debabza, 2015**).

Quatre modes d'acquisition des infections urinaires sur sondes sont retrouvés et peuvent s'associer chez un même patient :

I. 5. 1. Acquisition lors de la mise en place de la sonde :

La colonisation du méat reste fréquente, même lorsque les mesures d'asepsie sont strictement respectées. Les bactéries colonisant le périnée et l'urètre peuvent être entraînées par la surface externe de la sonde et s'introduire directement dans la vessie, cette voie est dite «extraluminale précoce» (**Hounane, 2011**).

I. 5. 2. Acquisition par voie endoluminale :

Ce mode d'infection est lié à la migration de bactéries au sein même du système de drainage des urines, il est plus fréquent avec les sondes de Foley qu'avec les systèmes clos ; c'est-à-dire possédant un sac collecteur. La contamination est le plus souvent manu-portée. Le non-respect de la déclivité du système de drainage et le défaut dans les mesures d'asepsie lors des manipulations du sac collecteur d'urines sont des erreurs fréquentes ; ces erreurs peuvent être responsables de véritables microépidémies (Astrid, 2014).

I. 5. 3. Acquisition par voie extraluminale périurétrale :

Les bactéries d'origine digestive issues de la flore fécale colonisent le méat urinaire puis migrent au niveau de l'urètre et de la vessie par le biais du biofilm se formant à la surface externe de la sonde urinaire.

Ce mode d'acquisition est responsable de 70 % de bactériurie chez la femme et 30 % chez l'homme (Figure 03) (Astrid, 2014).

I. 5. 4. Acquisition par voie lymphatique ou hémotogène :

Des études prospectives ont montré la possibilité d'une bactériurie sur sonde en l'absence de colonisation de l'urètre et du sac collecteur. L'hypothèse d'une acquisition par voie hémotogène ou lymphatique a donc été émise. Ce mécanisme n'est pas encore tout à fait élucidé (Astrid, 2014).

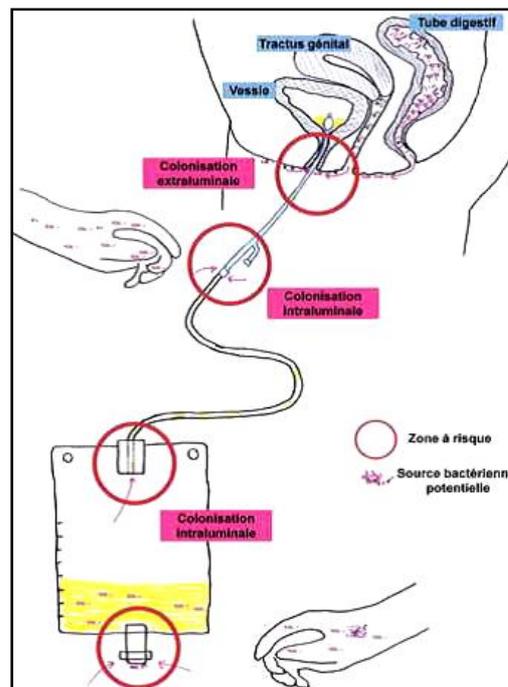


Figure 03 : Mécanismes d'acquisition d'infection urinaire sur sonde (Hounane, 2011).

I. 6. Les facteurs de risque d'un sondage urinaire :

I. 6. 1. La durée du sondage :

La durée du sondage est le principal facteur de risque pour développer une infection urinaire. D'une part la densité des germes présents dans l'urètre augmente avec la durée du sondage, et d'autre part la fréquence de l'infection des urines augmente avec la durée du sondage. Les patients qui gardent une sonde urinaire entre 2 et 10 jours développeront une bactériurie dans 26 % (Astrid, 2014).

I. 6. 2. Le sexe féminin :

La mise en place d'une sonde urinaire chez la femme entraîne plus fréquemment une bactériurie que chez l'homme. L'explication est anatomique du fait de la brièveté de l'urètre féminin et de la proximité du méat urétral avec le vagin et l'anus (risque de colonisation par contiguïté) (Astrid, 2014).

I. 6. 3. Le diabète :

Le diabète a été régulièrement incriminé bien qu'aucune étude n'ait réellement démontré sa responsabilité. Il pourrait favoriser les infections urinaires par différents mécanismes ; l'altération de la vidange vésicale et la modification de composition de l'urine permettraient notamment une plus grande croissance microbienne (Astrid, 2014).

I. 6. 4. L'absence d'antibioprophylaxie :

L'absence d'antibioprophylaxie et les fautes d'asepsie lors des soins de cathéter constituent aussi des facteurs de risque d'infection urinaire sur cathéter, même si l'antibioprophylaxie n'est pas recommandée en pratique (Astrid, 2014).

I. 6. 5. Le lieu d'hospitalisation semble avoir un impact :

Les hospitalisations en soins intensifs comparées aux services de médecine et de chirurgie augmentent la fréquence des infections nosocomiales et modifient la flore microbienne. Le taux de bactériémies est plus élevé dans les services de réanimation 4,3 % versus 0,1 % en service de médecine (Astrid, 2014).

I. 6. 6. Le sondage inapproprié :

Le fait d'avoir une sonde urinaire dont l'indication est inappropriée augmenterait le risque d'infection puisqu'il est retrouvé que 46 % des infections urinaires nosocomiales sont liés à une mauvaise indication de pose de sonde urinaire (**Astrid, 2014**).

I. 6. 7. Une rupture du système de drainage clos :

La rupture du système de drainage clos accidentel ou nécessaire pour les soins est un facteur de risque de contamination urinaire. Le système de drainage étant bien sûr à très haut risque d'infection (**Astrid, 2014**).

Chapitre II

Les entérobactéries

II. 1. Définition des entérobactéries :

Ce groupe bactérien est très riche en individualité, il est composé d'une vingtaine de genres et de plusieurs dizaines d'espèces (**Ben Moussa, 2016**). Il est constituée de genres bactériens qui sont rassemblés en raison des caractères bactériologiques communs : aéro-anaérobies facultatifs, mobiles grâce à une ciliature polaire, ou immobiles, non sporulés, poussant rapidement sur des milieux ordinaires, ne possédant pas d'oxydase, réduisant les nitrates en nitrites, utilisant le glucose par métabolisme fermentatif avec ou sans production de gaz (**Debabza, 2015**).

II. 2. Classification des entérobactéries :

L'évolution constante des techniques d'études génomiques à profondément bouleversé la taxonomie des bactéries, et celle des entérobactéries en particulier. L'hybridation ADN/ADN, le séquençage des gènes des ARNr 5S, 16S et du rpoB (codant l'ARN polymérase B) permettent une identification précise des espèces bactériennes. On dénombre 53 genres et plus de 170 espèces.

Certains genres comme *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia* sont plus fréquemment isolés en bactériologie clinique. Les entérobactéries sont définies par un ensemble de caractères généraux communs, culturels, biochimiques et antigéniques qui leur confèrent une certaine similitude. Leur sensibilité aux β -lactamines est utilisée en pratique courante pour les classer dans différents groupes (**Mamod, 2016**).

II. 2. 1. Caractères bactériologiques des entérobactéries :

II. 2. 1. 1. Les caractères morphologiques :

Les dimensions des entérobactéries varient selon l'espèce bactérienne, la souche bactérienne et l'âge de la culture. Ce sont des bacilles à Gram négatif généralement de 2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large. Un grand polymorphisme est présent chez certains genres bactériens comme le genre *Proteus* dont l'appellation provient de Protée qui est un dieu de la mythologie grecque qui changeait de forme à volonté. La plupart des entérobactéries sont mobiles avec des flagelles pouvant atteindre 20 μm .

Cette mobilité peut varier en fonction de la température d'incubation (Par exemple: *Yersinia pseudotuberculosis* et *Yersinia enterocolitica* sont habituellement mobiles à 28 °C et immobiles à 37 °C). D'autres espèces d'entérobactéries sont cependant immobiles (par exemple : les espèces bactériennes des genres *Klebsiella* et *Shigella*).

Les entérobactéries peuvent posséder des pili communs qui leur confèrent des propriétés agglutinantes pour les hématies. Les bactéries hébergeant des plasmides possèdent généralement d'autres types de pili, nommés pili sexuels, qui interviennent dans le transfert du matériel génétique d'une bactérie à une autre par conjugaison. Certaines espèces d'entérobactéries, comme *Klebsiella pneumoniae*, peuvent être entourées par une capsule qui leurs confère la virulence (El Bouamri, 2017).

II. 2. 1. 2. Les caractères cultureux :

La culture est généralement aisée sur milieux ordinaires (18 à 24 h), sauf les genres *Yersinia* et *Shigella* qui nécessitent au moins 48 h de culture. La température optimale de croissance est de 35 à 37 °C, à l'exception des *Yersinia* (30 à 37 °C), des *Pantoea* et des *Erwinia* (27 à 30 °C). Elles sont majoritairement de type aéro-anaérobies facultatives (Mamod, 2016).

Les entérobactéries se développent bien dans un bouillon ou sur une gélose ordinaire incubée 18 heures à 37 °C. Sur gélose, on peut obtenir différentes formes :

- ❖ Les formes S (smooth) sont l'aspect habituel. Les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides, elles sont à 2 à 4 mm de diamètre.
- ❖ Les formes R (rough) s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages. Les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate.
- ❖ En bouillon, les formes R donnent un aspect grumeleux.
- ❖ Les colonies rugueuses sont habituelles avec les *Klebsiella*. Leur diamètre peut dépasser 10 mm, elles ont une tendance à la confluence. On peut les rencontrer aussi avec d'autres espèces, notamment *Salmonella paratyphi* B (Ben Moussa, 2016).

II. 2. 1. 3. Les caractères biochimiques :

Les entérobactéries possèdent de nombreux caractères biochimiques grâce à leur grande diversité enzymatique. Certains caractères biochimiques peuvent être communs à toutes les entérobactéries comme ils peuvent être présents uniquement chez certaines espèces d'entérobactéries. Ces derniers sont ainsi appelés des caractères de différenciation et jouent un rôle primordial dans l'identification bactérienne.

Les principaux caractères biochimiques communs sont :

- ❖ Fermentation du glucose avec ou sans production de gaz.
- ❖ Réduction des nitrates en nitrites.
- ❖ Oxydase négative.
- ❖ Catalase positive (à l'exception de *Shigella dysenteriae* sérotype 1).
- ❖ Aérobie-anaérobie facultatif.

Les caractères de différenciation utilisent des tests qui étudient :

- ❖ Le métabolisme protéique (Par exemple: présence d'uréase, production d'indole).
- ❖ Dégradation du tryptophane.
- ❖ La fermentation des sucres (Par exemple: glucose, lactose, saccharose).
- ❖ La capacité d'utiliser le citrate comme seule source de carbone.
- ❖ La production d'enzymes (décarboxylases, désaminases).
- ❖ La production d'hydrogène sulfuré (El Bouamri, 2017).

II. 2. 1. 4. Les caractères antigéniques :

Les entérobactéries possèdent différents antigènes:

❖ Antigène de Kunitz ou Enterobacterial Common Antigen (ECA) : C'est un antigène qui n'existe que chez les entérobactéries et, de ce fait, a un intérêt taxonomique.

❖ Les antigènes O ou somatiques : très toxiques, ils correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS). Ils sont thermostables et résistent à l'alcool. Les bactéries portant des antigènes O sont agglutinées par les anticorps correspondants.

❖ L'antigène R correspond au polysaccharide du core central. La disparition de l'antigène O rend les souches "rough" (colonies rugueuses) auto agglutinables dans l'eau physiologique, plus sensibles aux substances bactéricides du sérum, facilement phagocytées et moins pathogènes.

❖ Les antigènes H ou flagellaires : ils n'existent que chez les souches mobiles. Constitués de protéines spécifiques dénommées flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool. On peut les mettre en évidence par agglutination sur lame avec des sérums spécifiques

❖ Les antigènes K, capsulaires, de nature polysaccharidique. Ils masquent l'agglutination par les anticorps anti O qui peut être restituée après chauffage de la souche car ils sont détruits par ébullition. Ce sont des antigènes de surface (Ajdakar, 2015).

II. 3. Habitat des entérobactéries :

❖ Les *E. coli* sont des hôtes normaux de l'intestin: ils représentent près de 80 % de la flore intestinale aérobie de l'adulte. On peut les trouver également au niveau de diverses muqueuses chez l'homme et chez les animaux.

La présence des *E. coli* dans l'environnement ou dans les aliments signe une contamination fécale. Les souches d'*E. coli* responsables d'entérites sont transmises par ingestion d'eau ou d'aliment contaminé par les selles de malades ou de porteurs.

Les infections urinaires, néonatales et aussi nosocomiales, trouvent surtout leur origine dans la flore endogène du tube digestif ou tractus génital, mais peuvent également être transmises d'un sujet à l'autre à partir du matériel contaminé.

❖ Les *Salmonella* sont très largement répandues dans la nature et leur réservoir s'étend à tout le règne animal, en particulier les volailles. Elles sont présentes dans le tube digestif des malades et des porteurs sains, chez l'homme et chez les animaux, qui contaminent le milieu extérieur par leur excréta.

❖ *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont les espèces les plus souvent rencontrées. Elles sont fréquemment isolées des eaux, du sol et des végétaux. Elles sont présentes dans la flore fécale de l'homme et sont souvent commensales de la peau, des muqueuses et des voies respiratoires. Les malades s'infectent soit avec leurs propres souches, soit avec des souches responsables de petites épidémies hospitalières. Elles sont alors manuportées de malade à un autre.

❖ Les Enterobacters sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. On les trouve dans les eaux, sur le sol, sur la peau et les muqueuses. Ce sont des bactéries de l'hospitalisme.

❖ Les *Serratia* sont des bactéries de l'environnement présentes sur le sol et sur les plantes. Les *Serratia* sont les entérobactéries les plus résistantes aux agents physiques et chimiques. Elles peuvent survivre des mois dans l'eau distillée et se multiplier dans des solutions antiseptiques. Elles se multiplient bien à 4°C. Les infections hospitalières peuvent être en relation avec des antiseptiques ou des flacons contaminés, mais la transmission manuportée semble être plus fréquente.

❖ Les *Proteus* et les *Providencia* sont ubiquitaires et elles existent aussi sur la peau et les muqueuses. Bien qu'en petits nombres, elles sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux.

❖ Les *Citrobacter* sont des bactéries commensales du tube digestif de l'homme et des animaux, mais aussi saprophytes de l'environnement (sol, eaux, eaux usées et aliments). Les nouveau-nés et les patients immunodéprimés, âgés ou présentant un terrain débilité sont davantage à risque de contracter l'infection. Chez l'ensemble des patients, les infections à *Citrobacter* comportent un risque de mortalité de 33 à 48 % (Belbel, 2014).

II. 4. Les infections urinaires aux entérobactéries :

Les infections urinaires sont des pathologies très fréquentes avec des tableaux de gravités variables ; parmi ces différentes présentations cliniques, on peut citer les cystites (cystite aiguë simple, la cystite à risque de complication, la cystite récidivante), les pyélonéphrites (avec ou sans signes de gravité).

Toutes les catégories d'âge sont touchées par ces infections. En milieu communautaire, les entérobactéries représentent l'essentiel des germes retrouvés dans ces infections avec *E. coli* au 1^{er} rang (70 à 95 %) ; les autres entérobactéries (dont *Proteus ssp* et *Klebsiella ssp*) représentent 10 à 25 % des germes. Chez la femme jeune de 15 à 30 ans, 10 % des cystites sont dues à *Staphylococcus saprophyticus* (Mamod, 2016).

II. 5. Les infections nosocomiales aux entérobactéries :

Le caractère nosocomial d'une infection est un élément essentiel dans la prise en charge médicale et surtout thérapeutique du patient.

Le rapport de «l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012» présente les parts relatives des différentes infections nosocomiales. Les infections urinaires (29,9 %) représentaient la première place avec comme facteur favorisant majeur, la pose de sonde urinaire (Mamod, 2016).

II. 6. Antibiorésistance :

II. 6. 1. Résistance naturelle :

La résistance naturelle, appelée aussi résistance intrinsèque est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Elle est programmée sur le génome bactérien, donc fixe et constante à l'intérieur du taxon et transmise à la descendance.

A ce titre, elle constitue un critère d'identification des bactéries et détermine le phénotype «sauvage» des bactéries (Debabza, 2015) (Tableau 01).

Tableau 01 : Résistance naturelle chez les entérobactéries (Brahimi, 2013).

Espèce	AM	AMC	TIC/ PIP	CIG	FOX	CTT	MA	CXM	GM	TET	COL	FT
<i>Klebsiella ssp</i>	R		R									
<i>C. koseri</i>	R		R									
<i>C. freundii</i>	R	R		R	R	R						
<i>E. cloacae</i>	R	R		R	R	R						
<i>E. aerogenes</i>	R	R		R	R	R						
<i>S. marcescens</i>	R	R		R			R	R			R	
<i>P. mirabilis</i>										R	R	R
<i>P. vulgaris</i>	R			R			R	R		R	R	R
<i>M. morgani</i>	R	R		R			R	R		R	R	R
<i>P. stuartii</i>	R	R		R					R	R	R	R
<i>Y. enterocolitica</i>	R	R	R	R	R		R	R				

R : résistance naturelle.

II. 6. 2. Résistance acquise :

Ce terme est utilisé pour désigner des processus permettant à des bactéries appartenant à une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques. Cette résistance acquise peut provenir par une mutation chromosomique (plutôt rare) ou par l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides (plutôt fréquent), de bactériophages ou de transposons. On parle de transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation (Lagha, 2015).

Chapitre III

Mécanisme de résistance aux ATB

III. 1. Définition des antibiotiques :

Les antibiotiques se définissent comme des molécules capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries, sans affecter l'hôte. Ils permettent aux défenses naturelles du corps telles que le système immunitaire, de les éliminer. Ils agissent souvent en inhibant la synthèse d'une cellule bactérienne, la synthèse de protéines, l'ADN, l'ARN, par un agent désorganisant la membrane, ou d'autres actions spécifiques.

Les sources principales d'antibiotiques sont les champignons, mais parfois aussi les bactéries. Au départ de molécules naturelles, cependant, des modifications chimiques sont souvent apportées (semi-synthèse) pour améliorer l'activité et/ou modifier des paramètres pharmacocinétiques essentiels.

Aujourd'hui, la plupart des antibiotiques en usage clinique sont donc obtenus par semi-synthèse. Ils agissent par :

- ❖ L'inhibition de la synthèse du peptidoglycane.
- ❖ L'inhibition de la synthèse protéique.
- ❖ L'inhibition de la synthèse des acides nucléiques.
- ❖ L'altération des membranes (**Hnich, 2017**).

III. 2. Les principales familles d'ATB présentant un intérêt thérapeutique contre les entérobactéries :

Les antibiotiques sont classés sur la base de leur structure chimique qui conditionne leurs principales propriétés bactériologiques (mode d'action, mécanisme de résistance, spectre), pharmacologiques (mode d'admission, diffusion, élimination) et toxicologiques (effets indésirables et contre-indications). Ils sont également classés selon leurs sites d'action (**Tableau 02**) (**Ayad, 2017**).

Tableau 02 : Classe et cible d'action des antibiotiques (Battraud, 2017).

ATB à activité principalement bactéricide		ATB à activité principalement bactériostatique	
Classe	Cible bactérienne d'action	Classe	Cible bactérienne d'action
Bêtalactamines - Pénicillines. - Céphalosporines.	Paroi (Peptidoglycane).	Phénicol - Chloramphénicol. - Thiophénicol.	Ribosome.
Aminosides - Streptomycine. - Gentamicine.	Ribosome.	Cyclines - Tétracycline. - Doxycycline.	Ribosome.
Polymyxines - Colimycine.	Membrane cytoplasmique.	Macrolides et apparentés - Erythromycine - Ristinamycine.	Ribosome.
Rifamycines - Rifampicine.	ARN polymérase.	Sulfamides et apparentés - Cotrimoxazole.	Synthèse des acides nucléiques.
Quinolones - Acide nalidixique - Profloxacine.	ADN gyrase.	Nitroimidazole - Métronidazole.	Acides nucléiques.

Les principales familles d'antibiotiques présentant un intérêt thérapeutique contre les entérobactéries, sont les β -lactamines, les aminosides et les quinolones (Ayad, 2017).

III. 2. 1. Les β -lactamines :

Les β -lactamines sont les antibiotiques les plus couramment utilisés dans le monde pour traiter les infections bactériennes à cause de leur large spectre d'activité et leur faible toxicité. Ils ont un effet bactéricide sur les bactéries en voie de croissance.

Il existe de nombreuses variétés de β -lactamines qui se distinguent par leur spectre d'activité et leurs propriétés pharmacologiques (**Tableau 03**) (Ndir, 2015).

Tableau 03 : Liste des β -lactamines (Ndir, 2015).

Famille d'antibiotique	Dénomination commune internationale	Nom commercial
Pénicillines		
Peni G	Peni G	<i>Oracilline</i> [®]
Peni A	Amoxicilline	<i>Clamoxyl</i> [®]
Peni M	Flucloxacilline	<i>Flucloxacillin</i> [®]
Carboxy pénicillines	Ticarcilline	<i>Ticarpaen</i> [®]
Uréido pénicillines	Pipéracilline	<i>Pipéracilline</i> [®]
Céphalosporines		
C1G	Céfalotine	<i>Kéflin</i> [®]
	Céfazoline	<i>Kefzol</i> [®]
C2G	Céfoxitine	<i>Méfoxin</i> [®]
	Céfuroxime	<i>Zinnat</i> [®]
C3G	Céfixime	<i>Oraken</i> [®]
	Ceftriaxone	<i>Rocéphine</i> [®]
Monobactames	Aztréonam	<i>AZactam</i> [®]
Carbapénèmes	Imipénème	<i>Tiénam</i> [®]
	Ertapénème	<i>Invanz</i> [®]

III. 2. 1. 1. Mécanisme d'action :

L'action antibiotique des bêtalactamines est portée par leur noyau bêtalactame. En effet, ce noyau possède une très forte affinité pour le site catalytique des PLP (Protéines de Liaison à la Pénicilline), enzymes essentielles de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane bactérien. Les PLP sont des transpeptidases qui interviennent dans la stabilisation du peptidoglycane en formant les liaisons inter-peptidoglycanes. Le peptidoglycane est le constituant principal de la paroi de toutes les espèces bactériennes, et une inhibition de sa synthèse entraîne la mort de la bactérie par choc osmotique (**Figure 04**). De ce fait, les bêtalactamines possèdent une activité bactéricide (Vasseur, 2014).

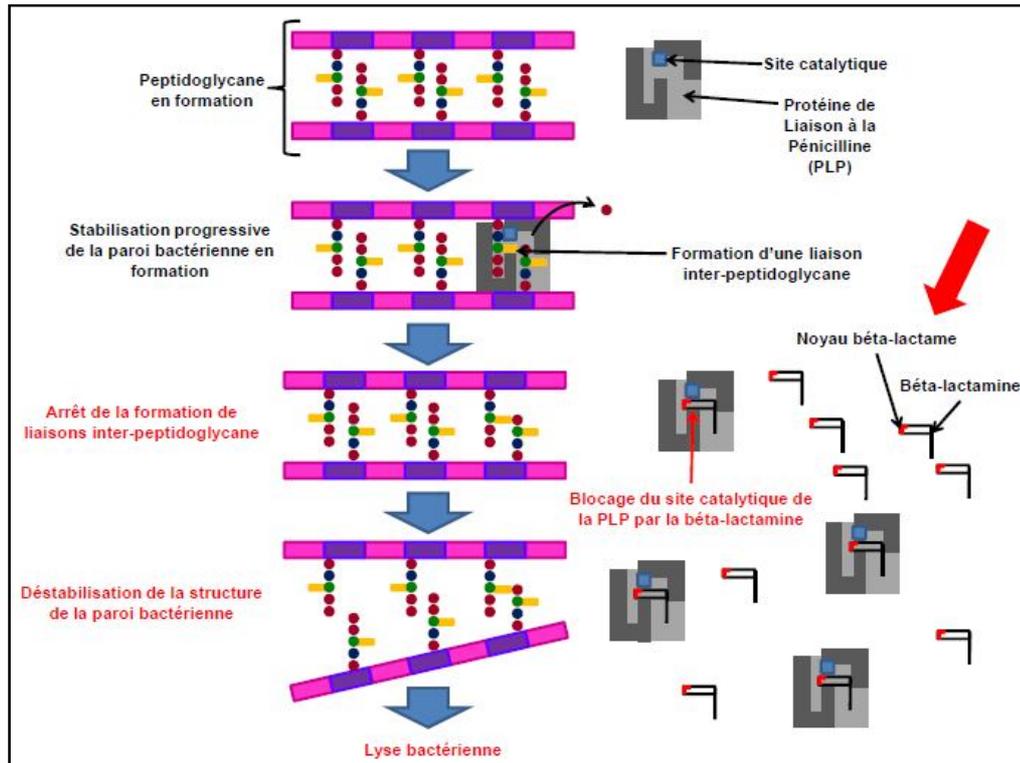


Figure 04 : Mode d'action des bêtalactamines (Vasseur, 2014).

III. 2. 2. Aminosides ou aminoglycosides :

La streptomycine fut le premier antibiotique de cette famille. Actuellement les plus utilisés sont la gentamicine, la tobramicine, l'amikacine, et la netilmicine.

Les aminosides ne sont guère utilisés en monothérapie, le plus souvent ils sont associés aux β -lactamines avec lesquelles ils exercent un effet synergique. La streptomycine et la kanamicine ne sont plus guère utilisées en clinique (Ndir, 2015).

III. 2. 2. 1. Mécanisme d'action :

Les aminosides ont pour principale cible le ribosome. Ils doivent tout d'abord pénétrer dans le cytoplasme bactérien. Chez les bactéries à Gram négatif, les aminosides diffusent à travers la membrane externe par un système de porines. Une fois dans l'espace périplasmique, le franchissement de la membrane cytoplasmique nécessite un transport actif, oxygène dépendant. Cette étape limitant, explique la résistance naturelle aux aminosides des germes anaérobies stricts. Les quelques molécules ayant atteint le cytoplasme se fixent au site aminoacyl de l'ARN ribosomal 16S (Le site A), dans la sous-unité 30S du ribosome. Cette liaison inhibe l'appariement de l'ARNm au ribosome et empêche l'initiation de la traduction et peut aussi causer une mauvaise interprétation du code génétique, conduisant à la synthèse de protéines "non-sens".

Les protéines aberrantes nouvellement synthétisées sont incorporées à la membrane cytoplasmique. Elles endommagent son intégrité et facilitent ainsi l'entrée dans le cytoplasme de nouvelles molécules aminosides, qui vont accroître les dommages cellulaires et entraîner la mort de la cellule. Les aminosides peuvent en outre, s'accumuler de façon irréversible dans la cellule bactérienne, altérer la synthèse de l'ADN ou dégrader l'ARN ou encore provoquer des désordres ioniques importants dans la cellule bactérienne. Cette pléiotropie suggère que l'action des aminosides pourrait ne pas être limitée à la synthèse protéique, ce qui explique leur effet bactéricide rapide (Ayad, 2017).

III. 2. 3. Quinolones :

Depuis la découverte de l'acide nalidixique, en 1962 les quinolones, antibiotiques synthétiques, ont évolué et sont devenues des agents importants et efficaces dans le traitement des infections bactériennes. Ce sont des antibiotiques bactéricides très largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire.

Ils sont caractérisés par un large spectre d'activité, une bonne biodisponibilité orale et une bonne diffusion dans les tissus. Les quinolones sont classées en générations en fonction de leur spectre d'activité et de leur date de mise sur le marché (Ayad, 2017).

On distingue :

❖ Les quinolones de 1^{ère} génération dont le chef de file est l'acide nalidixique, n'agissent que sur les bacilles à Gram négatif et ne sont utilisées que dans le traitement des infections urinaires.

❖ Les quinolones de 2^{ème} génération ou fluoroquinolones comprennent principalement la pefloxacin, l'ofloxacin et la ciprofloxacine. Elles sont bactéricides et sont 100 fois plus actives que celles de la 1^{ère} génération (Ndir, 2015).

III. 2. 3. 1. Mécanisme d'action :

Les quinolones inhibent les topoisomérase de type II (gyrase) et IV en empêchant leur action dans le déroulement harmonieux de l'ADN qui est nécessaire à sa réplication. L'ADN gyrase introduit un super-enroulement négatif dans la double hélice d'ADN bactérien. Cette activité est essentielle pour l'initiation de la réplication de l'ADN ainsi que pour sa transcription. La topoisomérase IV a une activité de décaténation, qui permet la séparation des chromosomes répliqués à la fin d'une séquence de réplication.

Les quinolones interagissent avec le complexe enzyme-ADN (la gyrase ou la topoisomérase IV) et provoquent des changements conformationnels entraînant une désactivation de l'enzyme. Le complexe quinolone-enzyme-ADN ainsi formé, bloque la progression de la fourche de réplication ce qui inhibe la synthèse de l'ADN et conduit à l'arrêt de la croissance bactérienne.

De plus, les coupures d'ADN double brin stabilisées par les quinolones constitueraient des lésions non réparables de l'ADN, capables de déclencher l'inactivation de certaines synthèses protéiques responsable de l'effet bactéricide de ces antibiotiques (Ayad, 2017).

III. 3. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques :

III. 3. 1. Notion de la résistance bactérienne :

Une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de cet antibiotique au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou de la tuer (Lagha, 2015).

III. 3. 2. Mécanismes de résistance aux β -lactamines :

De manière générale, les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux β -lactamines ; il peut s'agir de troubles de perméabilité pour les antibiotiques, ce qui empêche la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie, de systèmes d'efflux qui permettent d'évacuer les antibiotiques qui auraient pénétré dans la bactérie, ou de modification de la cible bactérienne de l'antibiotique (exemples : les sites de liaison des pénicillines, les pénicillines binding proteins (PBP), ce qui empêche la fabrication de la paroi de la bactérie). Mais le plus fréquemment, il s'agit d'enzymes détruisant les β -lactamines ; les β -lactamases (Lagha, 2015).

III. 3. 2. 1. Résistance par production des β -lactamases :

Les β -lactamases sont des enzymes bactériennes catalysent l'hydrolyse de la liaison amide du cycle lactame des antibiotiques de la famille des β -lactamines. Les gènes qui codent pour ces enzymes sont d'origine chromosomique ou plasmidique. Ces gènes ont été détectés sur des transposons et des intégrons facilitant ainsi le transfert horizontal de ces gènes entre espèces phylogéniquement éloignées (Gangoue, 2007). Chez les entérobactéries, la production de β -lactamases est le mécanisme prédominant de résistance aux β -lactamines (Livermore, 2003).

A. Mode d'action :

Les bêta-lactamases sont des enzymes, produites par les bactéries, et ayant la capacité d'hydrolyser le noyau bêta-lactame des bêta-lactamines. Cette hydrolyse inactive ainsi l'antibiotique avant que celui-ci n'atteigne les PLP (Vasseur, 2014). Les β -lactamases catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse du pont amide de l'anneau β -lactame des pénicillines, des céphalosporines, des monobactames et des carbapénèmes ; pour donner un acyl enzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (Figure 05).

Ainsi, les pénicillines sont dégradées en acide pénicilloïque et les céphalosporines en acide céphalosporoïque (Lagha, 2015).

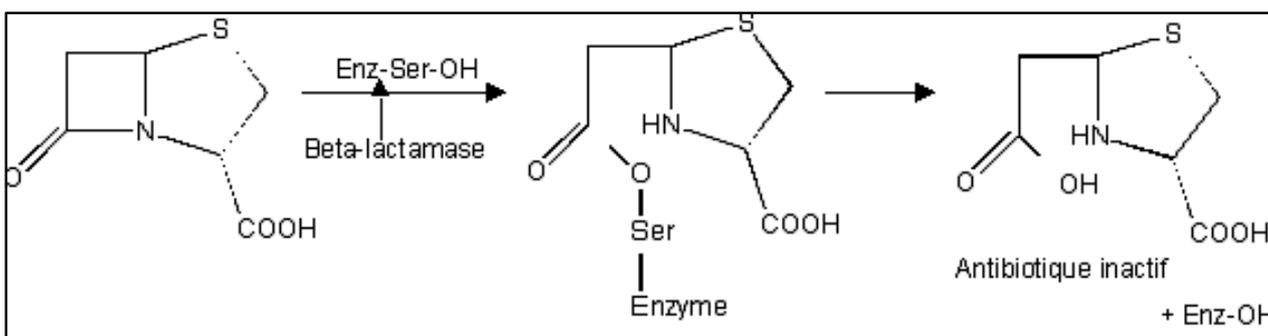


Figure 05 : Réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame (Lagha, 2015).

B. Classification :

Généralement, les β -lactamases sont classé suivant deux schéma : la classification moléculaire de Ambler, la classification fonctionnelle de Bush- Jacoby-Medeior. La classification moléculaire tient compte de la structure primaire des différentes β -lactamases et divisent en quartes (A à D). Pour la classification fonctionnelle les auteurs tiennent compte la fonctionnalité des β -lactamases (substrat, profil d'inhibition) et divisent aussi en quatre groupe (1 à 4) avec plusieurs sous-groupe (Gangoue, 2007).

III. 3. 3. Mécanismes de résistance aux aminosides :

La modification enzymatique de l'antibiotique est le mécanisme de résistance aux aminosides le plus fréquemment observé chez les entérobactéries. Trois familles d'enzymes modifiant les aminosides (AME) ont été décrites et classées en fonction de la réaction qu'elles catalysent : acétylation d'un groupement aminé (AAC : aminosides N-acétyltransférases), phosphorylation (APH : aminosides O-phosphotransférases) ou nucléotidylation (ANT : aminosides O-nucléotidyltransférases) d'un groupement hydroxyle.

Ces enzymes ont été par la suite divisées en classes sur la base du site de modification et en sous classes en fonction du phénotype de résistance aux aminosides. Plus récemment, un autre mécanisme de résistance aux aminosides a été décrit. Il s'agit de la méthylation des nucléotides spécifiques, situés au niveau du site A de l'ARNr 16S, site A de liaison des aminosides sur le ribosome, ce qui empêche la liaison de ces antibiotiques à la sous-unité 30S ribosomale. Ce mécanisme confère une résistance de haut niveau à tous les aminosides cliniquement importants, à l'exception de la streptomycine. Les gènes codant la méthylase sont généralement portés par des éléments génétiques mobiles retrouvés intégrés dans des plasmides transférables, ce qui a favorisé leur propagation de la résistance (Ayad, 2017).

III. 3. 4. Mécanismes de résistance aux quinolones :

Depuis leur mise sur le marché, l'incidence de la résistance aux quinolones ne cesse de croître chez les entérobactéries. Cette résistance fait intervenir différents mécanismes chromosomiques et plasmidiques (Cattoir, 2012). La résistance chromosomique aux quinolones chez les entérobactéries, résulte essentiellement des mutations ponctuelles au niveau des gènes codant les cibles de ces molécules, les sous-unités A et B de l'ADN gyrase (GyrA et GyrB) et les sous-unités C et E de la topoisomérase IV (ParC et ParE).

Chez *E. coli*, ces mutations sont principalement localisées dans de courtes régions conservées, situées entre les acides aminés 67 et 106 du gène GyrA et les acides aminés 63 et 102 du gène Par C, appelées Quinolone Resistance Determining Region (QRDR). Une mutation simple du GyrA confère généralement un faible niveau de résistance aux fluoroquinolones. Une mutation supplémentaire de GyrA et/ou du ParC est nécessaire afin d'obtenir un haut niveau de résistance chromosomique aux quinolones peut également être associée à la diminution de la perméabilité membranaire et/ou à la surexpression des systèmes d'efflux.

Chez *E. coli*, l'altération des protéines de la membrane externe (porines) comme OmpF et OmpC a déjà été observée. Ces porines sont nécessaires à la diffusion des quinolones dans le cytoplasme. Le support de la résistance aux quinolones était supposé être uniquement chromosomique, jusqu'en 1998 où Martinez-Martinez et ces collaborateurs, ont décrit pour la première fois une souche de *Klebsiella pneumoniae* dont le support de la résistance aux quinolones est un plasmide transférable (Ayad, 2017).

Partie
Expérimentale

Chapitre I

Matériel & Méthodes

I. 1. Objectif de l'étude :

L'objectif de notre travail est d'évaluer la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à partir des sondes urinaires des malades hospitalisés au niveau des différents établissements hospitaliers de la Wilaya de Tébessa.

I. 2. Cadre de l'étude :

Cette étude a été réalisée dans une durée de trois mois de 03/02/2019 jusqu'à 30/04/2019 au niveau de laboratoire de Microbiologie, Département de Biologie Appliquée, Université Larbi Tebessi -Tébessa-.

Les échantillons des urines ont été prélevés à partir des sondes urinaires des patients hospitalisés au niveau des établissements publics hospitaliers (EPH) : Alia Salah à Tébessa, Bouguerra Boulaares à Bekkaria et l'établissement hospitalier spécialisé (EHS) : Khaldi Abdelaziz à Tébessa. Les services inclus sont (réanimation, chirurgie, brûlés, grossesse à haut risque (GHR), gynécologie).

I. 3. Matériel et méthodes :

I. 3. 1. Matériel :

I. 3. 1. 1. Matériel biologique :

L'échantillon étudié : les urines prélevées à partir des sondes urinaires des malades hospitalisés.

I. 3. 1. 2. Matériel non biologique :

A. Milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés sont nombreux, leurs compositions sont présentées en annexes.

❖ **Les géloses** : Mac Conkey, gélose nutritive, Mueller Hinton.

❖ **Les bouillons** : Bouillon nutritif.

B. Appareillage :

❖ Bec Bunsen.

❖ Étuve réglée à 37 °C (Mettler).

❖ Microscope optique (Optika).

❖ Stérilisateur (LabTech).

❖ Balance analytique (KERNEW).

- ❖ Réfrigérateur (LG).
- ❖ Agitateur (IVIO).

C. Verreries et petit matériel :

- ❖ Anse de platine.
- ❖ Flacons en verre.
- ❖ Portoir des tubes.
- ❖ Lames.
- ❖ Lamelles.
- ❖ Béchers.
- ❖ Boîtes de Pétri.
- ❖ Pince en bois.
- ❖ Pipettes graduées.
- ❖ Pipettes Pasteur.
- ❖ Micropipette.
- ❖ Spatule.
- ❖ Tubes à essai.

D. Réactifs et produits chimiques :

- ❖ Pour la coloration du Gram : violet de Gentiane, lugol, fuchsine, alcool.
- ❖ Pour l'identification par la galerie API 20E : huile de paraffine, réactifs de vogues Proskauer (VPI et VP II), réactifs nitrate réductase I et II, réactif de Kovacs, réactif TDA, poudre de zinc.

I. 3. 2. Méthodes :

I. 3. 2. 1. Prélèvement :

Avant chaque prélèvement, tous les renseignements du patient doivent être notés : Age, sexe, motif d'hospitalisation, antibiothérapie en cours (ou antibiotiques prescrits le long de son hospitalisation), date de la mise en place de la sonde urinaire.

Ainsi, les échantillons à prélever ont été numérotés au fur et à mesure, sur chaque tube ou pot destiné pour recueillir les urine noter ; le numéro de l'échantillon, le service, la date et l'heure de prélèvement (Abs et al., 2011).

A. Technique de prélèvement :

- ❖ Lavage des mains du préleveur.
- ❖ Désinfection du site de ponction avec une compresse stérile imbibée d'antiseptique alcoolique (alcool iodé ou autre).
- ❖ Prélèvement de l'urine par une seringue et aiguille stériles.
- ❖ Transfert de l'urine dans un tube à essai stérile (déjà étiqueté).
- ❖ Transport de l'échantillon au laboratoire dans un délai de 2 h à température ambiante (Abs et al., 2011).

I. 3. 2. 2. Enrichissement :

Après homogénéisation de l'échantillon, inoculer 1 ml des urines dans 5 ml du bouillon nutritif, agiter et incuber pendant 24 h à 37 °C (Abs et al., 2011).

I. 3. 2. 3. Isolement et purification :

À l'aide d'une anse de platine, ensemercer une goutte du milieu d'enrichissement sur gélose Mac Conkey, selon la méthode des stries (Figure 06), puis incuber pendant 24 h à 37 °C (Abs et al., 2011).

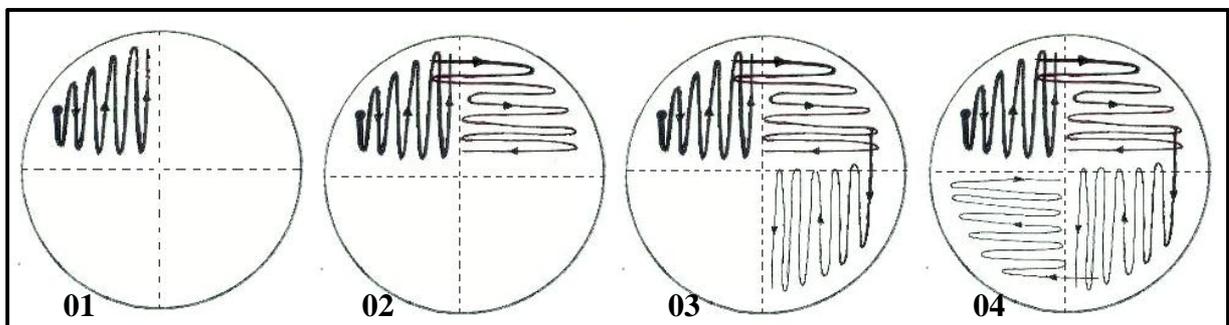


Figure 06 : Méthode d'ensemencement en quadri.

Après incubation, l'examen macroscopique des cultures a été réalisé. Ensuite, l'examen microscopique par coloration de Gram a été effectué. Chaque type de colonie a été défini par un code selon le numéro de l'échantillon.

Après incubation, les colonies de forme caractéristique sur gélose Mac Conkey, sont soumises à une observation macroscopique pour déterminer la forme, la taille, l'aspect et la couleur des colonies. En général, les colonies peuvent être soit rouges ou roses (lactose +), soit incolores ou jaunes (lactose -). Elles sont de forme ronde (régulière ou irrégulière) généralement de taille grande (± 3 mm de diamètre), crémeuses et laiteuses.

Après l'examen macroscopique, les colonies marquées sont soumises à la coloration de Gram pour différencier les bactéries (Gram positif ou Gram négatif) et apprécier leur morphologie.

Alors, dans notre étude, les bactéries à retenir doivent être des bacilles à Gram négatif. Chaque colonie a été purifiée sur gélose Mac Conkey en faisant des stries éloignées par l'anse de platine. Après incubation pendant 24 h à 37 °C, une coloration de Gram a été réalisée pour vérifier si les colonies ont présentées le même aspect macroscopique et microscopique notés au premier isolement (Abs et al., 2011).

I. 3. 2. 4. Conservation :

La conservation à courte durée des isolats purifiés a été effectuée par un ensemencement sur une gélose nutritive inclinée, en faisant des stries serrées. Après 24 h d'incubation à 37 °C, les tubes sont placés au réfrigérateur à 4 °C (Abs et al., 2011).

I. 3. 2. 5. Identification biochimique des isolats :

A. Préparation des cultures jeunes :

Les cultures bactériennes conservées ont été repiquées à l'aide d'une anse de platine sur gélose nutritive et incubées pendant 18 à 24h à 37 °C (BioMérieux SA, 2010).

B. Galerie API 20E (Bio-Mérieux) :

a. Principe :

La galerie API 20E comporte 20 microtubes contenant des substances déshydratées. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (BioMérieux SA, 2010).

b. Technique :

1) Préparation de la galerie :

❖ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

❖ Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).

- ❖ Sortir la galerie de son emballage.
- ❖ Placer la galerie dans la boîte d'incubation (**BioMerieux SA, 2010**).

2) Préparation de l'inoculum :

❖ À l'aide d'une pipette, prélever une seule colonie bien isolée à partir de la culture jeune préalablement préparée sur la gélose nutritive.

❖ Réaliser une suspension bactérienne dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément (**BioMerieux SA, 2010**).

3) Inoculation de la galerie :

❖ Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation des bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :

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

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

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

❖ Refermer la boîte d'incubation.

❖ Incuber à 36 °C ± 2 °C pendant 18 à 24 h (**BioMerieux SA, 2010**).

4) Lecture de la galerie :

❖ Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture.

❖ Si 3 tests ou plus (test **GLU ±**) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition des réactifs :

- Test **TDA** : ajouter une goutte de réactif **TDA**. Une couleur marron- rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

- Test **IND** : ajouter une goutte de réactif **JAMES**. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultat.

- Test **VP** : ajouter une goutte de réactif **VPI** et **VPII**, attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

❖ Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à 3 :

- Réincuber la galerie 24 h (\pm 2 h) de plus sans rajouter les réactifs.
- Révéler les tests nécessitant l'addition de réactif (voir paragraphe précédent).

❖ Pour compléter l'identification, il peut être utile de réaliser des tests complémentaires comme la recherche de nitrate réductase. ajouter une goutte de NIT 1 et NIT 2 dans le tube GLU. Attendre de 2 à 5 min. Une coloration rouge indique une réaction positive (NO_2). Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) : Ajouter 2 à 3 mg de réactif Zn dans la cupule GLU. Après 5 min, un tube reste jaune indique une réaction positive (N_2) à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule est orange - rouge, la réaction est négative, les nitrates encore présents dans le tube ont été réduites en nitrite par le Zn (**BioMerieux SA, 2010**).

5) Interprétation des résultats :

L'identification a été réalisée à l'aide d'un logiciel d'identification (feuille Excel pour l'identification microbienne) (**BioMerieux SA, 2010**).

I. 3. 2. 6. Étude de la résistance aux antibiotiques :

A. Principe de l'antibiogramme :

La méthode des disques consiste à déposer à la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne, des disques pré imprégnés d'une dose connue des différents antibiotiques.

Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose à partir du disque et y détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation à 37 °C pendant 24 h, chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne.

La multiplication des bactéries s'arrête là où existe dans la gélose, une concentration d'antibiotique égale à la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche en seront déduits (**Debabza, 2015**).

B. Choix des antibiotiques :

Le choix des antibiotiques à tester a été fait selon les recommandations de CA-SFM 2018 et selon la disponibilité des antibiotiques (**Tableau 04**).

Tableau 04 : Liste des antibiotiques testés (CA-SFM 2018).

Familles	Antibiotique	Sigle	Charge de disque	Diamètres critiques	
				R(d)	I S(D)
β-Lactamines	Aminopénicillines	Amoxicilline	AMX	25 µg	<19 ≥19
	Carboxypénicillines	Ticarcilline	TC	75 µg	<20 ≥23
	Uréidopénicillines	Pipéracilline	PRL	100 µg	<17 ≥20
	Carbapénèmes	Imipénème	IPM	10 µg	<16 ≥22
	Clavams	Ticarcilline + Acide clavulanique	TTC	75-10µg	<20 ≥23
	Monobactame	Aztréonam	ATM	30 µg	<21 ≥26
	C1G	Céfalexine	CL	30 µg	<14 ≥14
	C2G	Céfoxitine	CX	30 µg	<15 ≥19
	C3G	Céfotaxime	CTX	30 µg	<17 ≥20
Céftazidime		CAZ	30 µg	<19 ≥22	
Aminoglycosides	Amikacine	AK	30 µg	<13 ≥16	
	Gentamicine	GEN	10 µg	<14 ≥17	
Fluoroquinolones	Ofloxacine	OF	5µg	<22 ≥24	
	Ciprofloxacine	CIP	5µg	<24 ≥26	
Triméthoprime-sulfamides	Co-Trimoxazole	COT	1.25-23.75µg	<11 ≥14	

C1G : céphalosporines première génération.

C2G : céphalosporines deuxième génération.

C3G : céphalosporines troisième génération.

C. Technique de l'antibiogramme :

a. Préparation de la gélose :

L'épaisseur de la gélose Mueller-Hinton doit être de 4 mm ± 0,5 mm (approximativement 25 ml pour une boîte de 90 mm de diamètre).

b. Préparation de l'inoculum :

❖ Préparer soit 0,5 la valeur de Mac Farland. Cela correspond à une culture pure à peine confluite de 10^6 à 10^8 UFC/ml.

c. Ensemencement de la gélose :

❖ Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.

❖ Ecouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions.

d. Dépôt des disques imprégnés d'antibiotique :

Déposer les disques fermement, à l'aide d'une pince préalablement flambée, à la surface de la gélose inoculée et séchée (**Figure 07**).

Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.

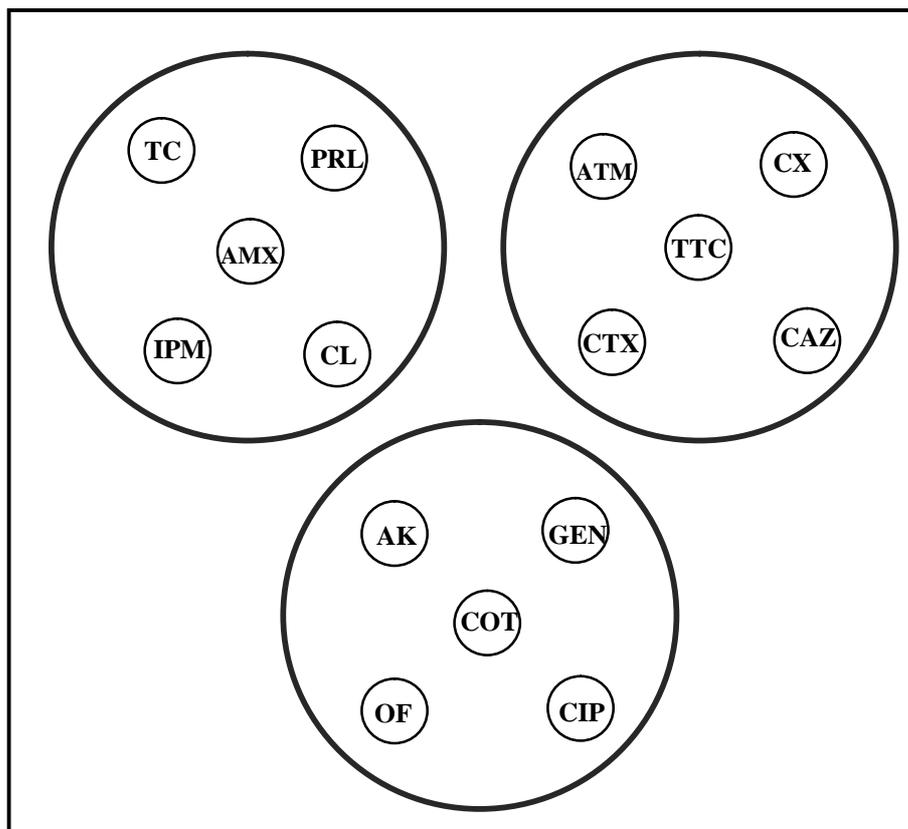


Figure 07 : Disposition des disques d'antibiotiques sur boîtes.

e. Incubation des boîtes de Pétri :

Incuber les boîtes de Pétri idéalement dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min. Si elles sont abandonnées à température ambiante après dépôt des disques, la pré-diffusion des antibiotiques engendrera des zones d'inhibition faussement agrandies. Incuber les boîtes à 37 °C pendant 16 à 24 h (couvercle en haut).

D. Lecture :

Pour chaque antibiotique, mesurer le diamètre de la zone d'inhibition au revers de la boîte. L'interprétation des souches (sensibles, intermédiaires ou résistantes) se fait selon les diamètres critiques recommandés par **CA-SFM 2018**. 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) (Debabza, 2015).

Chapitre II

Résultats

II. 1. Isolats bactériens :

Sur une période de 3 mois, allant de 04/02/2019 au 30/04/2019, 89 prélèvements d'urine ont été réalisés à partir des sondes urinaires des malades hospitalisés aux niveaux des différents services de trois établissements hospitaliers (EPH Alia Salah, EPH Bouguerra Boulaares et EHS Khaldi Abdelaziz) de la Wilaya de Tébessa. Parmi 89 échantillons, 40 ont donnés des cultures positives sur la gélose Mac Conkey et à partir desquelles 49 BGN ont été collectés.

II. 1. 1. Aspect macroscopique :

En fonction du milieu de culture, les isolats bactériens montrent divers aspects cultureux et morphologiques permettant de suspecter leur appartenance aux entérobactéries.

II. 1. 1. 1. Sur la gélose Mac Conkey :

❖ Morphologie 1 :

Colonies rouge ou roses, rondes à contour régulier, muqueuses, lisses, bombées et de taille de 1 à 2 mm de diamètre.

❖ Morphologie 2 :

Colonies blanchâtres, rondes à contour régulier, crémeuses, lisses, bombées et de taille de 1 à 3 mm de diamètre.

❖ Morphologie 3 :

Colonies roses rugueuses à contour irrégulier, sèches, de grande taille.

❖ Morphologie 4 :

Colonies roses, rondes à contour régulier, crémeuse, plate, de taille de 2 à 4 mm de diamètre (**Figure 08**).

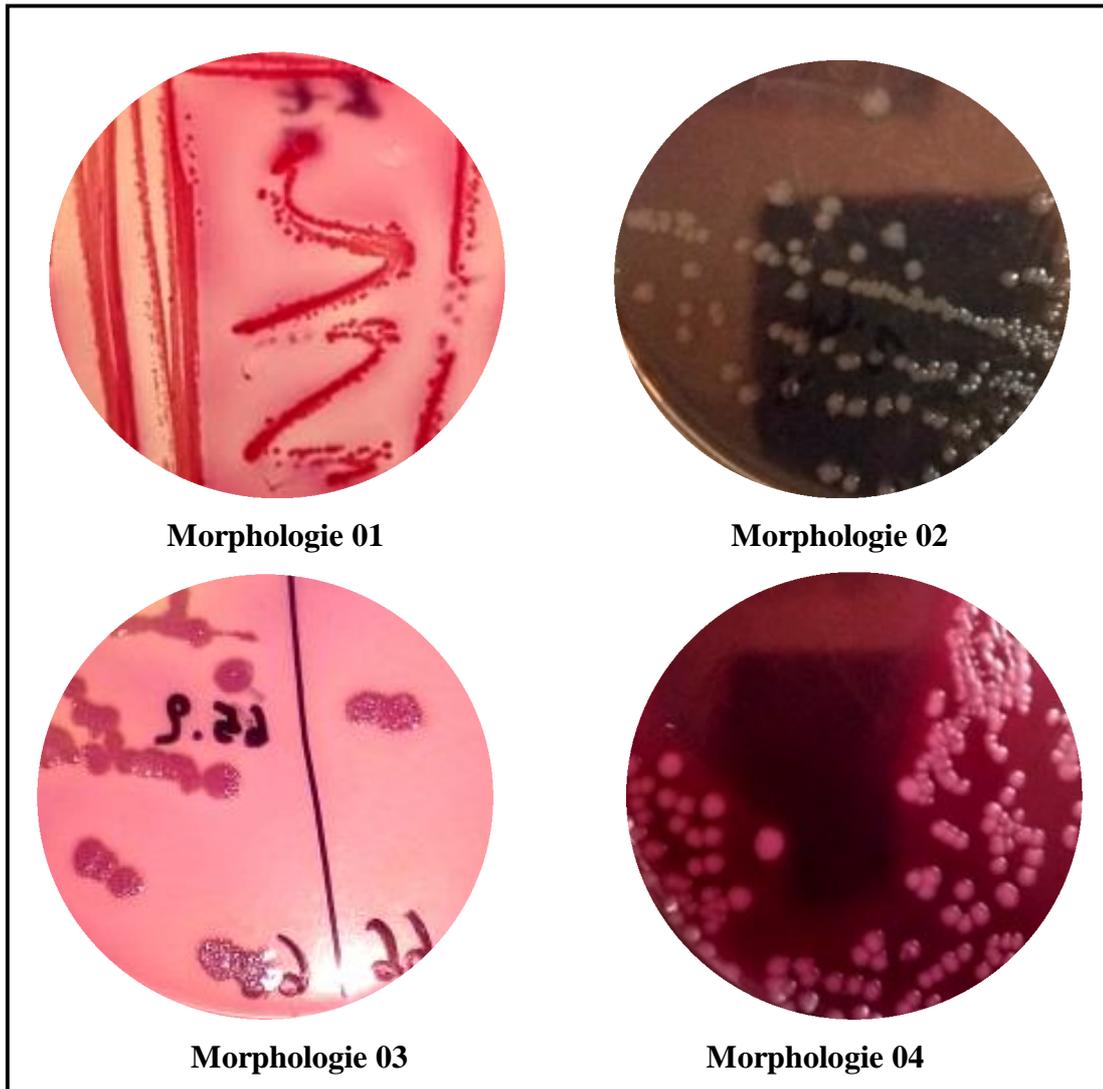


Figure 08 : Différentes morphologies des colonies sur la gélose Mac Conkey.

II. 1. 2. Aspect microscopique :

L'observation microscopique après coloration de Gram, a montré des BGN droits, courts, moyens, épais ou fins, isolés ou regroupés en paires ou en chaînettes de longueur variable, ou bien des coccobacilles épais ou fins, isolés ou regroupés en paires ou en chaînettes (**Figure 09**).

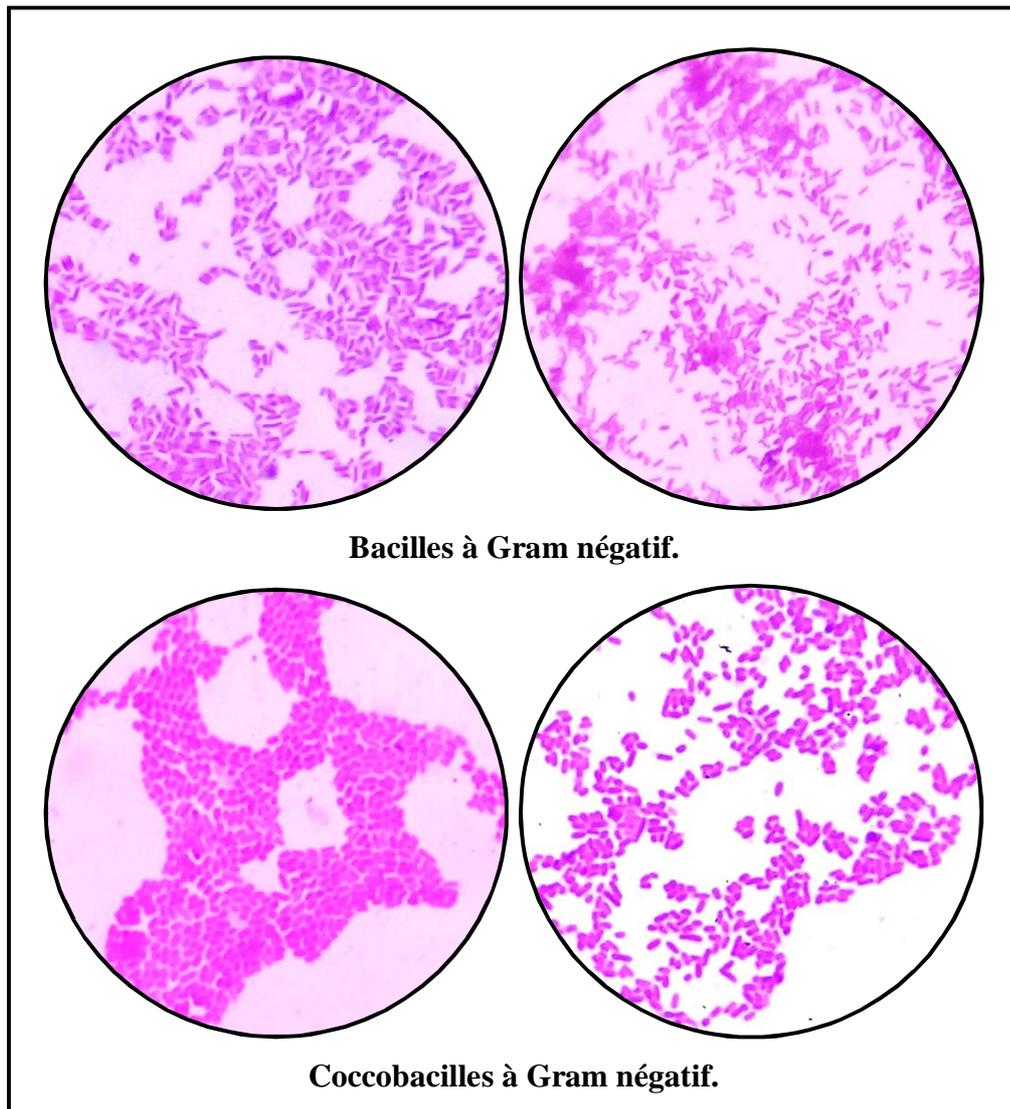


Figure 09 : Différentes formes des bactéries sous microscope optique.

II. 2. Identification biochimique des isolats :

Parmi les 49 isolats, seulement 37 ont été identifiés comme entérobactéries. L'identification bactérienne a été effectuée par la galerie API 20E permettant de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des entérobactéries.

Les résultats d'identification sont rapportés sur les tableaux 05 et 06 et présentés dans les figures 10 et 11 :

Tableau 05 : Résultats I'API 20E.

Isolat	Test G	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	Les espèces
17.1	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli 1</i>
17.2	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	<i>Escherichia coli 1</i>
18.1	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Raouhella ornithinolytica</i>
18.2	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Raouhella ornithinolytica</i>
19.1	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
19.2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	<i>Escherichia coli 1</i>
20	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Citrobacter koseri</i>
21	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera</i>
23	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Raouhella ornithinolytica</i>
25	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera</i>
26	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia odorifera</i>
27	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Raouhella ornithinolytica</i>
30	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
35	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Raouhella ornithinolytica</i>
42	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Raouhella ornithinolytica</i>

(+) : Positif / (-) : Négatif.

Suite du tableau 05.

Isolat	Test		ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	Les espèces	
	+	-																						
44.1	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
44.2	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
46	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
49	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
53.1	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella oxytoca</i>
53.2	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
60	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	<i>Escherichia coli 1</i>
61	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	<i>Escherichia coli 1</i>
64	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	<i>Escherichia coli 1</i>
66.1	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Citrobacter freundii</i>
69	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella oxytoca</i>
70.1	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	<i>Escherichia coli 1</i>
70.2	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
72	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia ficaria</i>
76	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Citrobacter freundii</i>

(+) : Positif / (-) : Négatif.

Suite du tableau 05.

Isolat / Test	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	Les espèces
78	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>Escherichia coli 1</i>
84	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	<i>Providencia rettgeri</i>
85	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
86	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	<i>Escherichia coli 1</i>
KIR I	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
KIR II	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
E KIR	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter cloacae</i>

(+) : Positif / (-) : Négatif.



Raoultella ornithinolytica.



Escherichia coli 1.



Enterobacter cloacae.



Serratia odorifera.



Klebsiella oxytoca.

Figure 10 : Identification par l'API 20E des espèces d'entérobactéries isolées.



Klebsiella pneumoniae.



Citrobacter freundii.



Citrobacter koseri.



Serratia ficaria.



Providencia rettgeri.

Suite de la figure 10.

Parmi un total de 49 isolats, 37 souches d'entérobactéries ont été identifiées, avec une fréquence d'isolement de 75 % (37/49).

L'analyse des espèces identifiées par rapport à l'ensemble des souches d'entérobactéries isolées, a montré une prédominance de *Raoultella ornithinolytica* avec 11 souches soit 30 %, suivie d'*Escherichia coli* 1 avec 9 souches soit 24 %, *Enterobacter cloacae* avec 4 souches soit 11 %, deux espèce de *Serratia* sont représentées par *Serratia odorifera* avec 3 souches soit 8 % et *Serratia fecaria* avec une seul souche (3 %), aussi deux espèces de *Klebsiella* sont *Klebsiella pneumoniae* (3 souches ; 8 %) et *Klebsiella oxytoca* (2 souches ; 5 %). Alors pour *Citrobacter* il y a deux espèces *Citrobacter freundii* avec 2 souche soit 5 % et *Citrobacter koseri* avec une seul souche soit 3 %, et dernièrement *Providencia rettgeri* avec une seul souche soit 3 %.

Tableau 06 : Fréquence des souches isolées des échantillons examinés.

Souches	Effectif	Fréquence
<i>Raoultella ornithinolytica.</i>	11	30 %
<i>Escherichia coli</i> 1.	09	24 %
<i>Enterobacter cloacae.</i>	04	11 %
<i>Serratia odorifera.</i>	03	8 %
<i>Klebsiella pneumoniae.</i>	03	8 %
<i>Klebsiella oxytoca.</i>	02	5 %
<i>Citrobacter freundii.</i>	02	5 %
<i>Citrobacter koseri.</i>	01	3 %
<i>Providencia rettgeri.</i>	01	3 %
<i>Serratia fecaria.</i>	01	3 %
Total	37	100 %

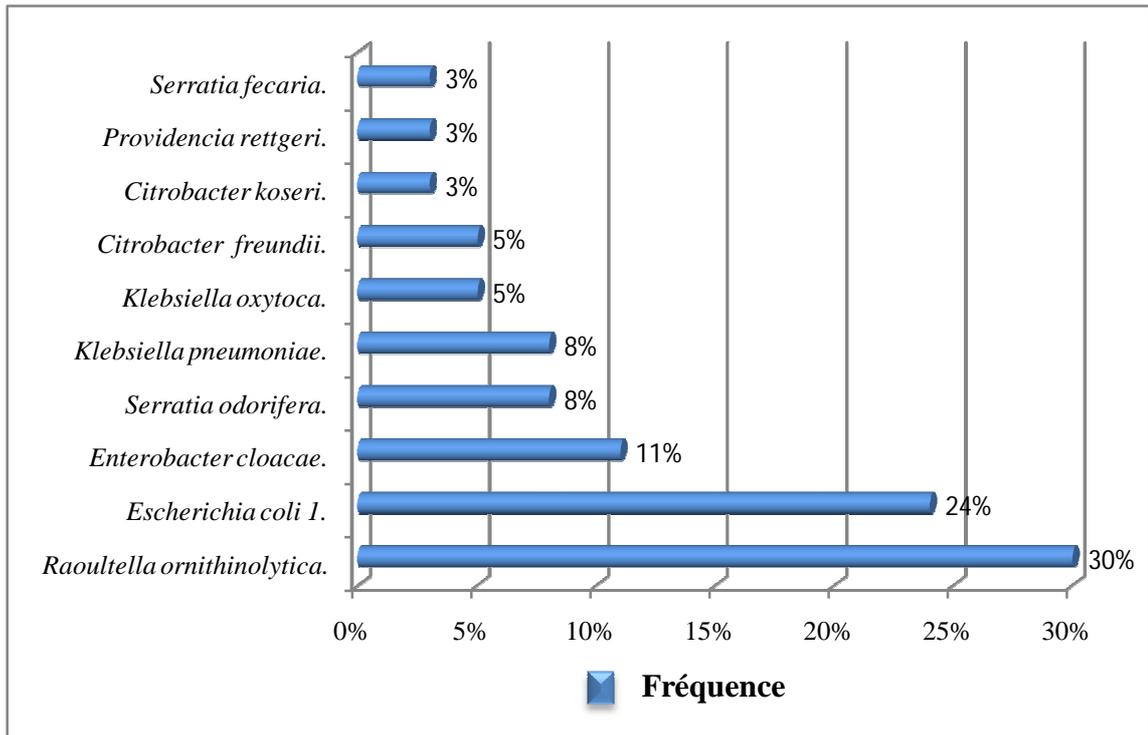


Figure 11 : Distribution des souches d'entérobactéries.

II. 3. Antibiogramme :

Les résultats de l'antibiogramme sont rapportés sur les tableaux 07, 08, 09 et 10 et présentés dans la figure 12 et 13 :

Tableau 07 : Les résultats de l'antibiogramme pour toutes les souches isolées.

Souche	ATB	AMX	TC	PRL	CL	IPM	TTC	ATM	CX	CAZ	CTX	AK	GEN	CIP	OF	COT
	Code															
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	18.1	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	18.2	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R
	23	R	R	R	S	S	R	S	S	S	I	S	S	S	S	S
	27	R	R	I	S	S	R	S	S	S	S	S	I	S	S	R
	35	R	R	R	R	S	I	R	S	R	R	S	S	R	R	R
	42	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S	I	R	R	R
	44.1	R	R	R	R	S	R	I	R	R	R	I	I	R	R	S
	44.2	R	R	R	R	S	R	S	R	R	I	S	S	R	R	S
	46	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	I	I	R
	70.2	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
	85	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S

Suite du tableau 07.

Souche	ATB	AMX	TC	PRL	CL	IPM	TTC	ATM	CX	CAZ	CTX	AK	GEN	CIP	OF	COT
	Code															
<i>Escherichia coli</i> 1	17.1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	I	R	R	R
	17.2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	19.2	R	R	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	60	R	R	R	S	S	R	S	S	I	S	S	S	S	S	R
	61	R	R	R	R	S	R	R	R	R	I	S	S	S	S	S
	64	R	R	R	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	I	S
	70.1	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R
	78	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	I	R	R
	86	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	19.1	R	R	R	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	30	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	I	R	R	R
	E KIR	S	S	S	R	S	I	R	R	R	I	S	R	S	S	R
<i>Serratia odorifera</i>	21	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	25	R	R	R	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S	R
	26	R	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S

Suite du tableau 07.

Souche	ATB	AMX	TC	PRL	CL	IPM	TTC	ATM	CX	CAZ	CTX	AK	GEN	CIP	OF	COT
	Code															
<i>Klebsiella oxytoca</i>	53.1	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R
	69	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KIR I	R	R	R	S	S	R	S	S	I	S	S	S	S	S	R
	KIR II	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R
<i>Citrobacter freundii</i>	66.1	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R
	76	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R
<i>Citrobacter koseri</i>	20	R	R	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Serratia ficaria</i>	72	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	S	R	R	R	R
<i>Providencia rettgeri</i>	84	R	R	R	R	S	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S

Remarque : en raison des conditions défavorables dans le laboratoire et principalement la contamination par *Pseudomonas* nous avons perdu deux souches (49, 53.2). Donc le test de la a été résistance aux antibiotiques a été réalisé sur 35 souches seulement.

Au vue des résultats de profil de résistance des souches testées vis-à-vis 15 antibiotiques appartenant aux quatre familles (β - lactamines, aminoglycosides, triméthoprime-sulfamides et les fluoroquinolones) (**Figure 12**), nous avons constaté que les souches ont exprimées une résistance vis-à-vis les différentes β - lactamines, mais à des degrés variable : l'amoxicilline et la ticarcilline (91 %), la pipéracilline (89 %), l'association ticarcilline + A. clavulanique (74 %), la céfalexine (69 %), la céftazidime (66 %), l'aztréonam (57 %), la céfotaxime (49 %) et la céfoxitine (37 %). Cependant ces souches présentent une résistance vis-à-vis la co-trimoxazole avec 60%, la ciprofloaxine et l'ofloxacine (40 %), par contre elles ne présentent aucune résistance à l'amikacine. Pour les antibiotiques qui ont une activité très importante à l'égard de nos souches sont : la gentamicine et l'imipénème où le taux de résistance était 20 % et 9 % respectivement.

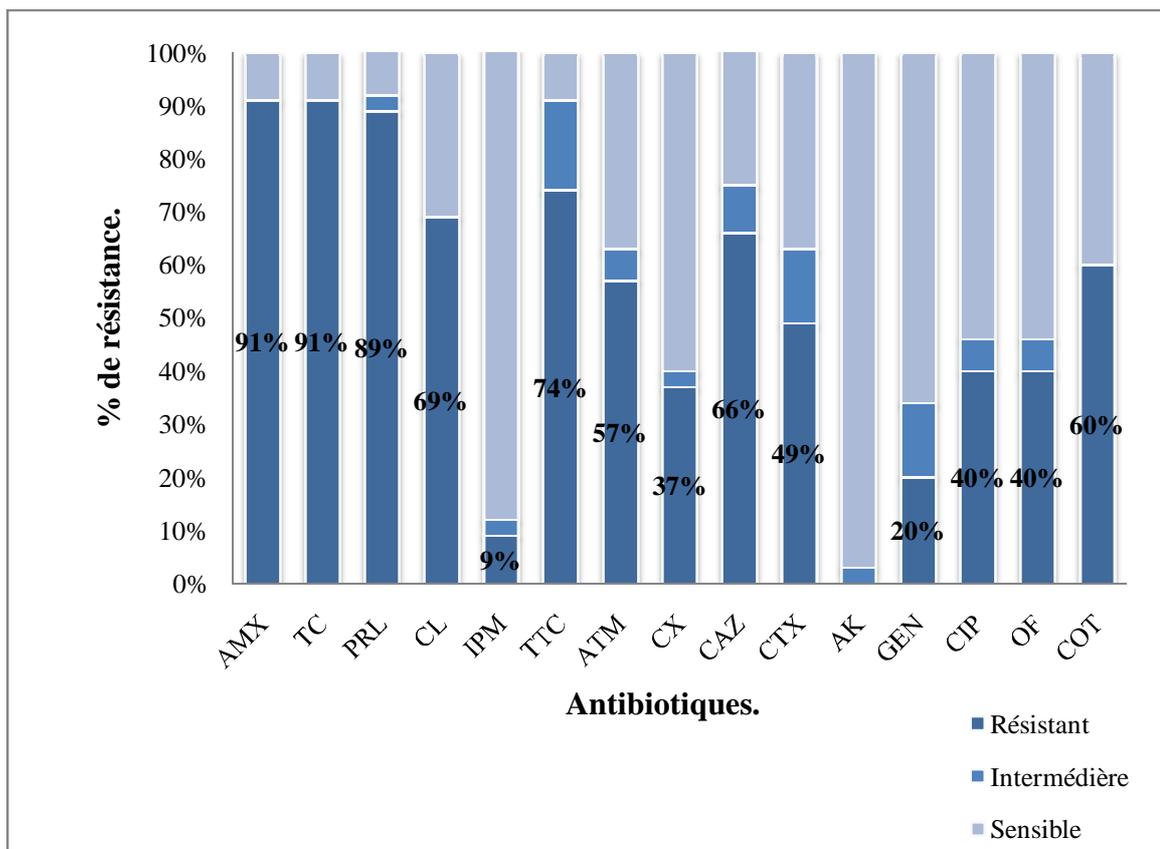


Figure 12 : Profil de résistance des souches testées des entérobactéries aux antibiotiques.

II. 3. 1. Profil de résistance de *Raoultella ornithinolytica*, *Escherichia coli* 1 et

Enterobacter cloacae :

La lecture des résultats a révélé la présence d'une résistance des souches vis-à-vis : l'amoxicilline, la ticarcilline, la pipéracilline, la céfalexine, la ticarcilline + A. clavulanique, l'aztréonam, la céfoxitine, la céftazidime et la co-trimoxazole, dont le taux de résistance varie selon l'espèce bactérienne et la molécule d'antibiotique utilisée. Nous avons constaté que les antibiotiques les plus actifs sur nos souches sont : l'amikacine avec un taux de sensibilité (100%), l'imipénème, la gentamicine, la ciprofloxacine et l'ofloxacine.

Tableau 08 : Profil de résistance aux antibiotiques testés sur *Raoultella ornithinolytica*, *Escherichia coli* 1 et *Enterobacter cloacae*.

Souches	<i>Raoultella ornithinolytica</i>		<i>Escherichia coli</i> 1		<i>Enterobacter cloacae</i>	
	Nbr de souches	% de résistance	Nbr de souches	% de résistance	Nbr de souches	% de résistance
Amoxicilline	11	100 %	08	89 %	02	67 %
Ticarcilline	11	100 %	08	89 %	02	67 %
Pipéracilline	10	91 %	08	89 %	02	67 %
Céfalexine	08	73 %	06	67 %	02	67 %
Imipénème	01	09 %	01	11 %	01	37 %
Ticarcilline + A. clavulanique	09	82 %	07	78 %	01	37 %
Aztréonam	07	64 %	05	56 %	02	67 %
Céfoxitine	06	54 %	04	44 %	02	67 %
Céftazidime	08	73 %	06	67 %	02	67 %
Céfotaxime	06	54 %	04	44 %	01	37 %
Amikacine	00	00 %	00	00 %	00	00 %
Gentamicine	01	09 %	01	11 %	01	37 %
Ciprofloxacine	06	54 %	03	33 %	01	37 %
Ofloxacine	06	54 %	04	44 %	01	37 %
Co-Trimoxazole	06	54 %	05	56 %	02	67 %

II. 3. 2. Profil de résistance de *Serratia odorifera*, *Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella pneumoniae* :

L'analyse des résultats du tableau nous a permis de remarquer que :

❖ Les antibiotiques qui ne présentent aucune activité sur : *S. odorifera*, *K. oxytoca* et *K. pneumoniae* sont : l'amoxicilline, la ticarcilline et la pipéracilline ont un taux de résistance de 100 %. Par contre les antibiotiques les plus actifs sur ces souches sont l'amikacine et l'imipénème où le taux de sensibilité était estimé à 100 %.

❖ Les souches de *S. odorifera* ne présentent aucune résistance à l'aztréonam, la céfoxitine, la céfotaxime, la gentamicine, la ciprofloxacine et l'ofloxacine. Par contre elles expriment une résistance à la céfalexine, la céftazidime et la co-trimoxazole avec (37 %), la ticarcilline + A. clavulanique (67 %).

❖ Les souches de *K. oxytoca* présentent également des taux de résistance très importants (100 %) vis-à-vis la céfalexine, l'association ticarcilline et l'acide clavulanique, l'aztréonam, la céftazidime, la céfotaxime, la gentamicine, la ciprofloxacine et la co-trimoxazole. Par contre elles ne présentent aucune résistance à la céfoxitine, ainsi le taux de résistance à l'ofloxacine est 50 %.

❖ Les souches de *K. pneumoniae* résistent à 100 % l'association ticarcilline et l'acide clavulanique, la co-trimoxazole, alors pour l'ofloxacine, la gentamicine, la ciprofloxacine et la céfoxitine le taux de sensibilité est 100 %.

Les souches *K. pneumoniae* présentent un taux de résistance (50 %) vis-à-vis la céfalexine, l'aztréonam, la céftazidime et la céfotaxime.

Tableau 09 : Profil de résistance aux antibiotiques testés sur *Serratia odorifera*, *Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella pneumoniae*.

Souches	<i>Serratia odorifera</i>		<i>Klebsiella oxytoca</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	Nbr de souches	% de résistance	Nbr de souches	% de résistance	Nbr de souches	% de résistance
Amoxicilline	03	100 %	02	100 %	02	100 %
Ticarcilline	03	100 %	02	100 %	02	100 %
Pipéracilline	03	100 %	02	100 %	02	100 %
Céfalexine	01	37 %	02	100 %	01	50 %
Imipénème	00	00 %	00	00 %	00	00%
Ticarcilline + A. clavulanique	02	67 %	02	100 %	02	100 %
Aztréonam	00	00 %	02	100 %	01	50 %
Céfoxitine	00	00 %	00	00 %	00	00 %
Céftazidime	01	37 %	02	100 %	01	50 %
Céfotaxime	00	00 %	02	100 %	01	50 %
Amikacine	00	00 %	00	00 %	00	00 %
Gentamicine	00	00 %	02	100 %	00	00 %
Ciprofloxacine	00	00 %	02	100 %	00	00 %
Ofloxacine	00	00 %	01	50 %	00	00 %
Co-Trimoxazole	01	37 %	02	100 %	02	100 %

II. 3. 3. Profil de résistance de *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Serratia ficaria* et *Providencia rettgeri* :

❖ D'après nos résultats, nous notons que les souches de *C. koseri*, *S. ficaria* et *P. rettgeri* résistent à 100 % l'amoxicilline, la ticarcilline et la pipéracilline. Par contre elles sont sensibles à 100 % vis-à-vis l'amikacine et l'imipénème.

❖ Les souches de *C. freundii* présentent une résistance très importante aux antibiotiques suivants : (100 %) vis-à-vis la céfalexine, l'aztréonam, la céftazidime, la céfotaxime, la co-trimoxazole et (50 %) à l'amoxicilline, la ticarcilline, la pipéracilline, l'association ticarcilline et l'acide clavulanique, la céfoxitine, la gentamicine, la ciprofloxacine et l'ofloxacine. Par contre elles ne présentent aucune résistance à l'amikacine et l'imipénème.

❖ Les souches de *C. koseri* ne présentent aucune résistance aux restent des antibiotiques.

❖ Les souches de *S. ficaria* présentent une résistance à 100 % vis-à-vis le reste des antibiotiques.

❖ Les souches de *P. rettgeri* sont 100 % résistantes à la céfalexine et l'association ticarcilline et l'acide clavulanique. Par contre elles sont sensibles à 100 % à l'aztréonam, la céfoxitine, la céftazidime, la céfotaxime, la gentamicine, la ciprofloxacine, l'ofloxacine et la co-trimoxazole.

Tableau 10 : Profil de résistance aux antibiotiques testés sur *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Serratia ficaria* et *Providencia rettgeri*.

Souches	<i>Citrobacter freundii</i>		<i>Citrobacter koseri</i>		<i>Serratia ficaria</i>		<i>Providencia rettgeri</i>	
	Nbr de souches	% de résistance	Nbr de souches	% de résistance	Nbr de souches	% de résistance	Nbr de souches	% de résistance
Amoxicilline	01	50 %	01	100 %	01	100 %	01	100 %
Ticarcilline	01	50 %	01	100 %	01	100 %	01	100 %
Pipéracilline	01	50 %	01	100 %	01	100 %	01	100 %
Céfalexine	02	100 %	00	00 %	01	100 %	01	100 %
Imipénème	00	00 %	00	00 %	00	00 %	00	00 %
Ticarcilline + A. clavulanique	01	50 %	00	00 %	01	100 %	01	100 %
Aztréonam	02	100 %	00	00 %	01	100 %	00	00 %
Céfoxitine	01	50 %	00	00 %	00	00 %	00	00 %
Céftazidime	02	100 %	00	00 %	01	100 %	00	00 %
Céfotaxime	02	100 %	00	00 %	01	100 %	00	00 %
Amikacine	00	00 %	00	00 %	00	00 %	00	00 %
Gentamicine	01	50 %	00	00 %	01	100 %	00	00 %
Ciprofloxacine	01	50 %	00	00 %	01	100 %	00	00 %
Ofloxacine	01	50 %	00	00 %	01	100 %	00	00 %
Co-Trimoxazole	02	100 %	00	00 %	01	100 %	00	00 %

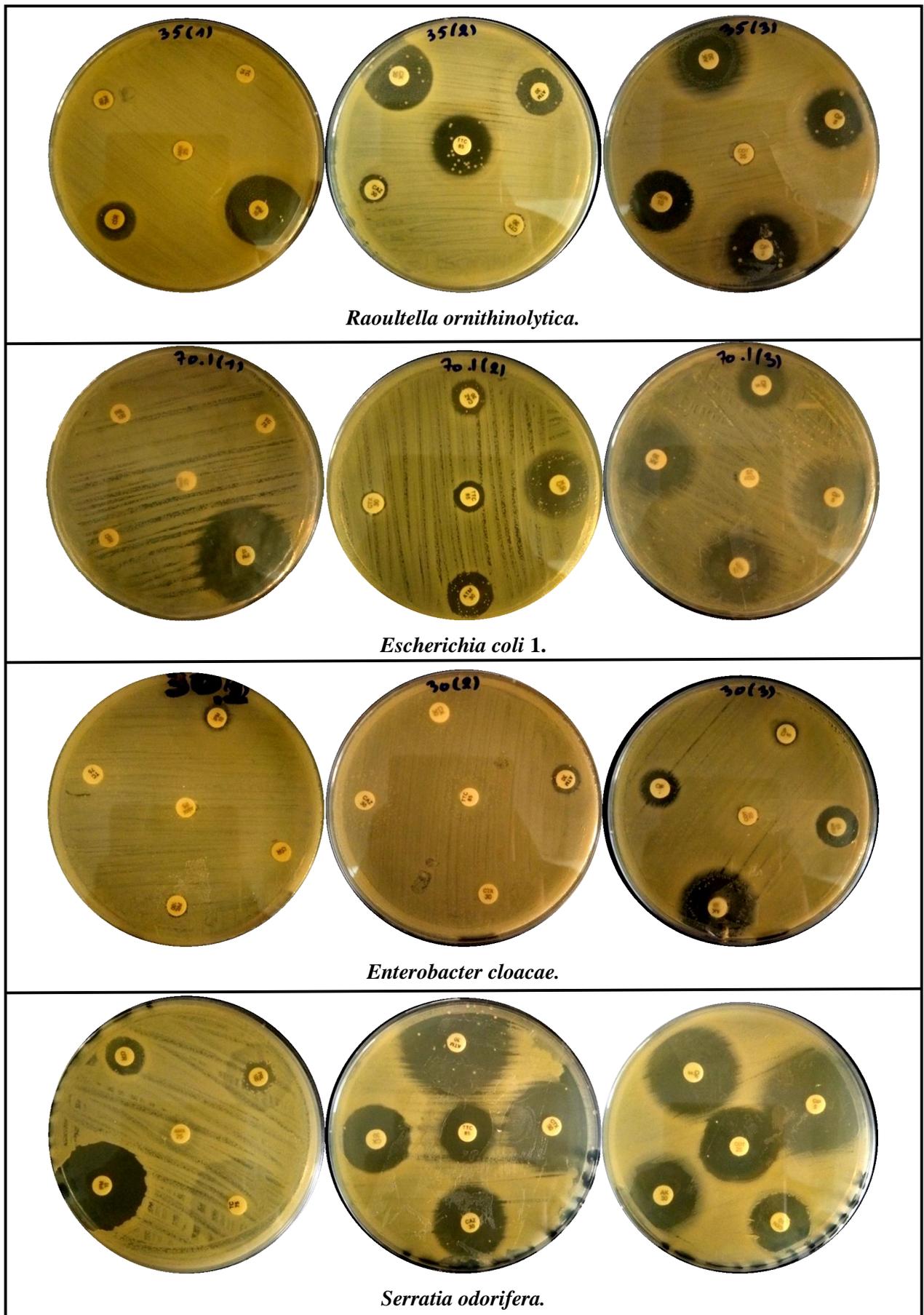
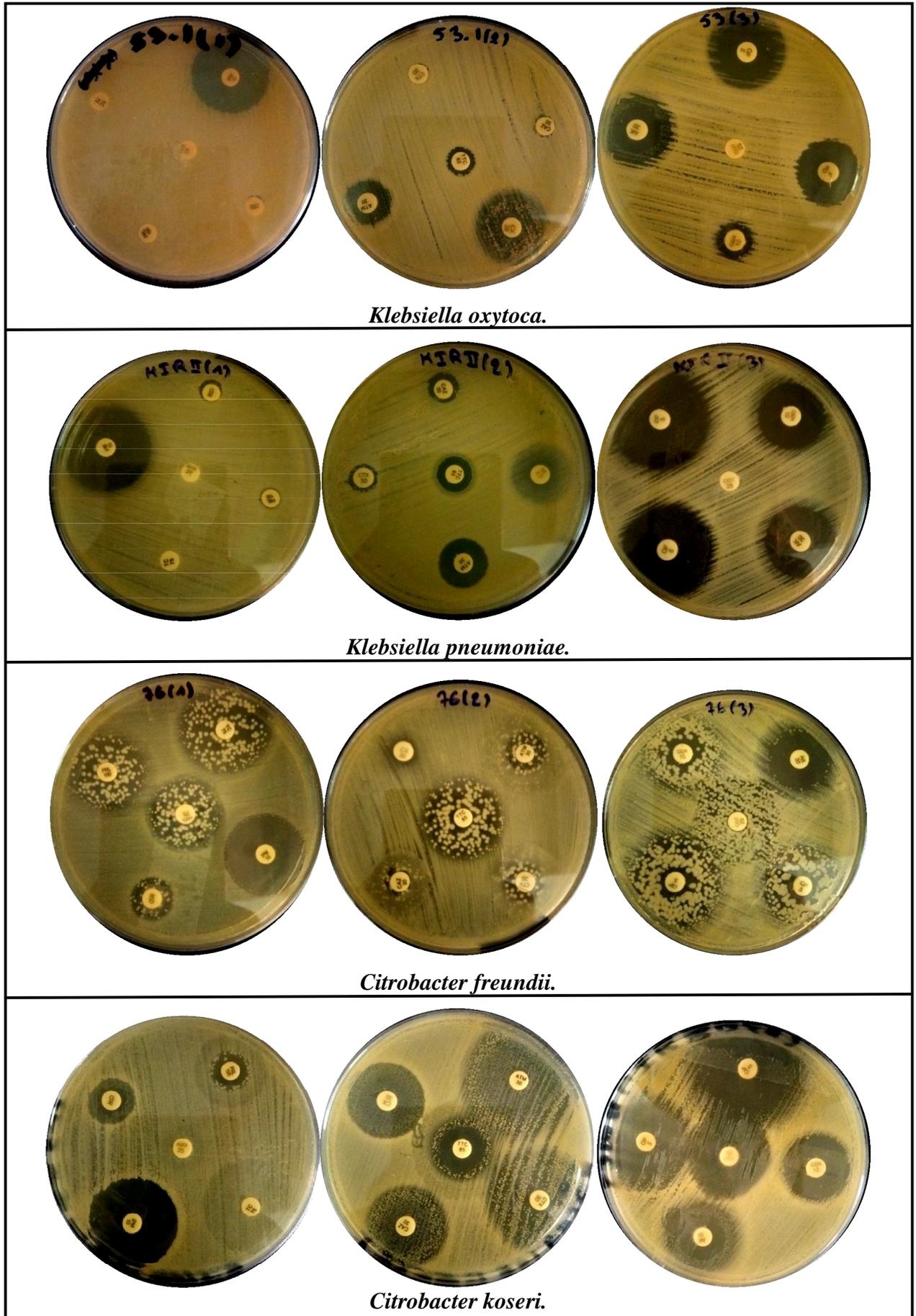
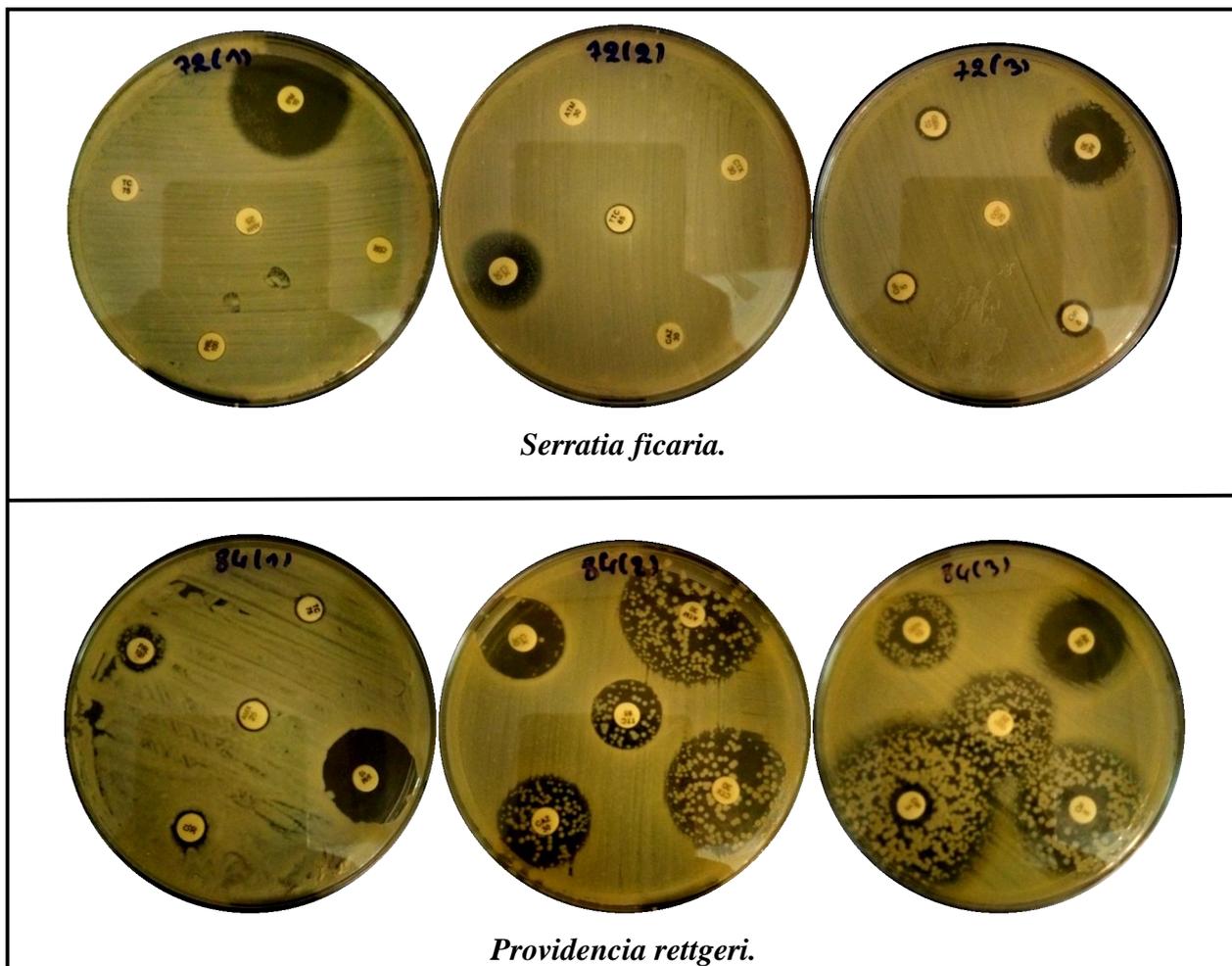


Figure 13 : Illustration de l'antibiogramme des espèces d'entérobactéries isolées.



Suite de la figure 13.



Serratia ficaria.

Providencia rettgeri.

Suite de la figure 13.

Chapitre III

Discussion

La fréquence des bactéries multirésistantes aux antibiotiques a atteint, partout dans le monde, des proportions inquiétantes et est devenue un problème majeur de santé publique.

Au cours des dernières décennies, une attention particulière dans le domaine des agents pathogènes multirésistants a été accordée aux staphylocoques dorés résistant à la méthicilline (SARM). Récemment, les bactéries à Gram négatif, ont gagné une importance croissante. Actuellement, le traitement des infections causées par ces organismes affiche un plus grand défi pour le clinicien par rapport aux infections à SARM (**Belbel, 2014**).

L'objectif de cette étude a porté sur l'évaluation de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées des sondes urinaires des malades hospitalisés au niveau des différents établissements hospitaliers de la Wilaya de Tébessa.

Durant notre étude nous avons identifié les souches isolées en utilisant la galerie API 20E qui permet de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des entérobactéries, puis nous avons testé leur résistance aux 15 antibiotiques appartenant aux β -lactamines, aminoglycosides, triméthoprime-sulfamide et fluoroquinolones, en utilisant le milieu Mueller Hinton et des disques des antibiotiques.

Le profil de résistance aux antibiotiques des 35 souches des entérobactéries étudiées à montre leurs résistances à la plupart des β -lactamines sauf l'imipénème, qui reste actif sur toutes les souches étudiées, cela indiquant sa place en premier choix dans le traitement des infections sévères aux bactéries multirésistantes. Pour les aminoglycosides (l'amikacine et la gentamicine) ; nos souches sont 100 % sensibles à l'amikacine et faiblement résistantes à la gentamicine. Ainsi les entérobactéries présentent une faible résistance vis-à-vis les fluoroquinolones (l'ofloxacine et la ciprofloxacine) contrairement à la co-trimoxazole où le taux de résistance (60 %).

Nos résultats se concordent avec ceux rapportés dans l'étude de **Lagha (2015)** qui a montré que les souches d'entérobactéries étaient également sensibles à l'imipénème, de même nos résultats se rapportent à ceux de **Ayad (2017)** où les souches sont 100 % sensibles à l'amikacine.

Toutefois nos résultats sont proches de ceux rapportés dans l'étude de **Debabza (2015)** où les taux de résistance les plus élevés ont été marqués à l'égard des différents β -lactamines ; l'amoxicilline (99 %), la ticarcilline (89 %) et les taux de sensibilité étaient très élevés notamment à l'égard de la gentamicine (70 %), l'imipénème (94 %) et l'amikacine (88 %). Par contre dans la même étude, les taux de résistance à la céftazidime (92 %) et la céfotaxime (72 %) rapportés par **Debabza (2015)**, sont supérieurs à ceux trouvés dans notre étude 65 % et 49 % respectivement, et le taux de résistance à la ciprofloxacine (6 %) est inférieur à celui trouvé dans notre étude (40 %).

III. 1. La résistance des *Raoultella ornithinolytica* aux antibiotiques :

Dans notre étude, *R. ornithinolytica* représente l'espèce la plus fréquente par rapport aux autres espèces des entérobactéries isolées des sondes urinaire avec une fréquence de 30 %. Le test de résistance aux antibiotiques a révélé une résistance très importante des souches de *R. ornithinolytica* aux β -lactamines à l'exception de l'imipénème où le taux de sensibilité était de 91 %. Par contre ces souches sont très sensibles aux aminoglycosides où le taux de sensibilité était 91 % à la gentamicine et 100 % à l'amikacine. Pour les fluoroquinolones sont moins actifs sur *R. ornithinolytica* où le taux de résistance était 54 % vis-à-vis la ciprofloxacine et l'ofloxacine. Elles résistent également la co-trimoxazole avec un taux de résistance (54 %).

III. 2. La résistance des *Escherichia coli* 1 aux antibiotiques :

Escherichia coli représente l'agent principal des infections urinaires. Elle est caractérisée par une aptitude particulière à acquérir des mécanismes de résistance à des antibiotiques habituellement actifs, pouvant parfois survenir en cours d'antibiothérapie (**Ayad, 2017**). La présente étude souligne le caractère inquiétant de la résistance des souches d'*E. coli* 1 à la plupart des β -lactamines testés sauf l'imipénème où le taux de résistance ne dépasse pas 11 %, les antibiotiques les plus actifs sur nos souches sont : l'amikacine, la gentamicine et la ciprofloxacine avec des taux de sensibilité 100 %, 89 %, 67 % respectivement. Ainsi la résistance à la co-trimoxazole (57 %).

La comparaison du profil de résistance de nos souches avec ceux de **Jalalpoor (2011)** montre que le taux de sensibilité à la gentamicine (89 % dans notre travail) est très proche au taux obtenu par **Jalalpoor** (88 %). Cependant, le taux de sensibilité à la co-trimoxazole (57 %) est supérieur à ceux trouvés dans notre travail (43 %).

Nos souches d'*E. coli* sont également montrées moins sensibles (67 %) à la ciprofloxacine en comparaison avec les souches isolées (80 %) dans l'étude de **Debabza (2015)**.

III. 3. La résistance des *Enterobacter cloacae* aux antibiotiques :

Enterobacter cloacae représente l'espèce le plus fréquemment retrouvée parmi les souches d'origine clinique responsables des infections et des épidémies hospitalières particulièrement dans les unités des soins intensifs. Cette espèce pose un grand problème en pratique clinique qui réside dans la diffusion de souches multirésistantes aux antibiotiques (**Khennouchi, 2016**).

L'étude de la résistance aux antibiotiques par la méthode de diffusion des disques a révélé que les souches d'*E. cloacae* sont résistantes aux β -lactamines avec un taux de résistance (67 %) sauf à l'imipénème, l'association ticarcilline et A. clavulanique, la céfotaxime, l'ofloxacine où le taux de résistance était très faibles (37 %). En outre, les souches d'*E. cloacae* ne présentent aucune résistance à l'amikacine (sensibilité 100 %), ainsi elles résistent la gentamicine et la ciprofloxacine avec un taux de résistance (37 %) et à la co-trimoxazole avec un taux de résistance (67 %).

Nos résultats se concordent avec ceux rapportés dans l'étude de **Khennouchi (2016)** où il a enregistré que les souches d'*E. cloacae* présentent une résistance à l'amoxicilline et une sensibilité à l'imipénème.

III. 4. La résistance de *Serratia* aux antibiotiques :

Serratia est le genre le plus résistant aux agents physiques et chimiques (**Debabza, 2015**). Dans notre travail deux espèces de *Serratia* ont été identifiées puis testées par leur profil d'antibiogramme, elles sont *S. odorifera* et *S. ficaria*.

Les souches de *S. odorifera* sont 100 % résistantes à l'amoxicilline, la ticarcilline et la pipéracilline et 100 % sensibles à l'imipénème, les aminosides (la gentamicine, l'amikacine) et aux fluoroquinolones (l'ofloxacine, la ciprofloxacine). Ainsi elles présentent une faible résistance vis-à-vis la co-trimoxazole. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Diouara (2007)** où les souches de *S. odorifera* sont également sensibles aux aminosides et fluoroquinolones.

Les souches de *S. ficaria* sont également résistantes à toutes les β -lactamines avec un taux de résistance (100 %) sauf l'imipénème et la céfoxitine où le taux de sensibilité (100 %), pour l'amikacine reste toujours l'antibiotique le plus actif sur toutes les souches d'entérobactérie avec un taux de sensibilité (100 %). Par contre Les souches de *S. ficaria* résistent à 100 % la gentamicine, la ciprofloxacine, l'ofloxacine et la co-trimoxazole.

III. 5. La résistance des *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques :

Klebsiella pneumoniae se distingue comme un agent pathogène opportuniste important causant des infections nosocomiales surtout au sein des populations ayant un système immunitaire affaibli. Elle constitue une cause fréquente d'infections urinaires, de pneumonies et de bactériémies.

De nombreuses épidémies nosocomiales causées par cette bactérie ont été décrites, notamment dans des unités de soins intensifs adulte ou pédiatrique (Belbel, 2014).

Dans la présente étude, les souches de *K. pneumoniae* résistent (100%) l'amoxicilline, la ticarcilline, la pipéracilline, l'association ticarcilline et A. clavulanique, la co-trimoxazole. Par contre elles ne présentent aucune résistance vis-à-vis l'imipénème, l'amikcine, la gentamicine, l'ofloxacine, la ciprofloxacine et la céfoxitine, pour la céfalexine, l'aztréonam, la céftazidime et la céfotaxime, la moitié des souches sont résistantes.

Nos souches de *K. pneumonia* sont également montrées plus sensibles en comparaison avec les souches isolées dans l'étude de Belbel (2014), qui a rapporté des taux de sensibilité moindres à la gentamicine (44 % contre 100 % dans notre étude) et à l'amikacine (49 % contre 100 % dans notre travail).

III. 6. La résistance des *Klebsiella oxytoca* aux antibiotiques :

Klebsiella oxytoca est l'espèce la plus souvent rencontrées. Elle est fréquemment isolée des eaux, du sol et des végétaux. Elle est présente dans la flore fécale de l'homme et est souvent commensale de la peau, des muqueuses et des voies respiratoires. Les malades s'infectent soit avec leurs propres souches, soit avec des souches responsables de petites épidémies hospitalières. Elles sont alors manuportées de malade à malade (Debabza, 2015).

Les résultats de l'antibiogramme ont montré que les souches de *K. oxytoca* ont exprimées une résistance vis-à-vis la plupart des β -lactamines testés où le taux de résistance enregistré était 100 % sauf l'imipénème et la céfoxitine où le taux de sensibilité était 100 %. Pour les aminosides, nos souches ne présentent aucune résistance à l'amikacine par contre elles résistent la gentamicine avec un taux de résistance (100 %), aussi les souches de *K. oxytoca* sont (100 %) résistante à l'ofloxacine, la ciprofloxacine et la co-trimoxazole, et résistent l'ofloxacine avec un taux de résistance (50 %). Nos résultats sont proches de ceux rapportés dans l'étude de **Beaudoux (2009)** où les taux de résistance les plus élevés ont été marqués à l'égard de la plupart des β -lactamines.

III. 7. La résistance des *Citrobacter freundii* aux antibiotiques :

C. freundii sont des agents pathogènes nosocomiaux opportunistes rares, qui entraînent normalement des infections des voies urinaires, des bactériémies, des sepsis abdominaux et des abcès cérébraux ainsi que des pneumonies et d'autres infections néonatales, comme la méningite, le sepsis néonatal, l'infection articulaire et la bactériémie (**Lagha, 2015**).

Nos souches de *C. freundii* présentent des taux de résistance très importants aux β -lactamines sauf à l'imipénème qui reste toujours actif sur tous les souches d'entérobactéries étudiées, pour les aminoglycosides la moitié des souches est résistante à la gentamicine par contre aucune souche résiste à l'amikacine. *C. freundii* résiste à 100 % la co-trimoxazole. Nos résultats similaire avec ceux obtenus par **Lagha (2015)** où les souches de *C. freundii* sont également sensibles à 100 % vis-à-vis l'amikacine et résistantes à la gentamicine.

III. 8. La résistance des *Citrobacter koseri* aux antibiotiques :

Les *Citrobacter* sont essentiellement responsables d'infection nosocomiale, surtout chez les patients présentant une immunodépression, pneumopathies, surinfections de plaies chirurgicales, bactériémies essentiellement associées à des infections sur cathéter. À côté de ce type de pathologies, les bactéries du genre *Citrobacter*, surtout *C. koseri*, sont associées de façon significative à des abcès et des méningites néonatales (**Debabza, 2005**).

Les souches de *C. koseri* résistent seulement à trois antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines qui sont l'amoxicilline, la ticarcilline, la pipéracilline, avec un taux de résistance (100 %). Par contre elles sont également sensibles (100 %) aux restes des antibiotiques.

III. 9. La résistance des *Providencia rettgeri* aux antibiotiques :

Providencia rettgeri présente l'espèce le plus identifiés dans la pathogénicité humaine, il est particulièrement efficace dans la colonisation des cathéters urinaires augmentant ainsi leur capacité à provoquer une bactériurie ultérieures de la vessie et est un facteur de risque important de bactériémie. Les infections urinaires à *P. rettgeri* chez les patients cathétérisés et autres sont également difficiles à traiter en raison de la résistance multiple aux antibiotiques (Leulmi, 2015).

Les souches de *P. rettgeri* présentent une résistance très importante vis-à-vis l'amoxicilline, la ticarcilline, la pipéracilline, l'association ticarcilline + A. clavulanique, où le taux de résistance (100 %). Ainsi elles sont sensibles aux autres antibiotiques testés.

Conclusion

Conclusion

L'antibiorésistance bactérienne devient aujourd'hui un problème majeur de santé publique extrêmement préoccupant, dont les conséquences se mesurent en termes de difficultés thérapeutiques accrues.

Notre étude a été réalisée dans une période de trois mois allant de 03/02/2019 jusqu'à 30/04/2019, pour l'objectif d'évaluer la résistance des souches d'entérobactéries isolées des sondes urinaires des malades hospitalisés dans différents services hospitaliers de la région de Tébessa.

Pendant les 3 mois d'étude, 37 souches d'entérobactéries ont été identifiées sur la base des caractéristiques biochimiques et physiologiques en utilisant la galerie miniaturisée API 20E. Dans notre étude, sur 89 prélèvements effectués à partir des sondes urinaire, nous avons constaté que 40 cultures ont été positives, donc presque la moitié des patients sondés présentent certains facteurs de risque d'une infection urinaire par les entérobactéries qui ont montré une résistance vis-à-vis des différents antibiotiques.

L'étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques a montré la présence des taux de résistance élevés à la plupart des β -lactamines testés sauf l'imipénème qui reste actif sur toutes les souches étudiées. D'autre part, nous avons constaté des faibles taux de résistance aux aminosides, fluoroquinolones et aux triméthoprime-sulfamides, avec un pourcentage de sensibilité enregistré à 100 % vis-à-vis l'amikacine pour toutes les souches d'entérobactéries étudiées.

L'analyse des résultats obtenus nous ont permis de conclure que la diffusion des entérobactéries multirésistants dans nos hôpitaux constitue une menace de santé publique, réduisant de manière importante les alternatives thérapeutiques pour le traitement des infections sévères. La gestion de ce risque infectieux exige une collaboration étroite entre les différents acteurs de santé concernés (Médecins cliniciens, Infectiologues, Bactériologistes, Hygiénistes, Personnels soignants...). Des mesures d'hygiène strictes restent indispensables au sein des services pour limiter la diffusion de ces souches multirésistantes, la détection précoce des porteurs lors de leur admission à l'hôpital et le renforcement des mesures d'hygiène autour des patients porteurs (application des précautions contact).

En fin, la lutte contre l'émergence et la diffusion de ces souches multirésistantes aux antibiotiques passe par une utilisation rationnelle des antibiotiques. Ainsi, nous proposons les perspectives suivantes :

- ❖ Réaliser des enquêtes sur la consommation des antibiotiques dans les établissements de la Wilaya de Tébessa.

- ❖ Etudier la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries dans les milieux hospitaliers.

- ❖ Etudier les mécanismes de transmission de la résistance entre les bactéries.

- ❖ Etudier le potentiel de virulence des bactéries multirésistantes.

- ❖ Etudier l'environnement génétique des gènes de résistance aux antibiotiques pour mieux comprendre leurs mécanismes de diffusion.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abs G., Asquier P., Boucher M. et al. (2011). Recommandations pour la réalisation de l'examen cytot bactériologique urinaire. Fiche technique de recommandation. Arlin. (Consulté le 02/05/2019).

Ajdakar S. (2015). Les entérobactéries productrices de bêta lactamases à spectre élargi (BLSE) : Profil épidémiologique actuel et conséquences thérapeutiques. Thèse de Doctorat : Médecine. Marrakech à : Université Cadi Ayyad, 80p. (Consulté le 01/06/2019).

Allassem D. (2013). Pratique de sondage urinaire dans les services de médecine du CHU du point G. Thèse de Doctorat : médecine. Mali à : Faculté de médecine et d'odontostomatologie, 87p. (Consulté le 01/10/2018).

Anglaret X, Mortier E. (2003). Maladies infectieuses. 3eme édition. France : Estem, 291p. (Consulté le 17/03/2019).

Astrid M. (2014). Evaluation des pratiques professionnelles concernant l'utilisation du sondage vésical chez les personnes âgées aux urgences du chu de Toulouse et du centre hospitalier du val d'Ariège. Thèse de Doctorat : Médecine générale. Toulouse à : Université Toulouse III – Paul Sabatier, 62p. (Consulté le 17/03/2019).

Ayad A. (2017). Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Tlemcen à : Université Abou Bekr Belkaid, 147p. (Consulté le 12/05/2019).

B

Battraud P. (2017). La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ? Thèse de Doctorat : Pharmacie. Lille à : Université de Lille 2, 128p. (Consulté le 12/05/2019).

Beaudoux O. (2009). Epidémiologie et caractérisation moléculaire des souches de *Klebsiella oxytoca* isolées en 2006-2007 au CHU de Nantes. Thèse de Doctorat : Médecine. Nante à : Université de Nante, 95p. (Consulté le 03/06/2019).

Belbel Z. (2014). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Annaba à : Université Badji Mokhtar Annaba, 146p. (Consulté le 11/02/2019).

Ben Moussa A. (2016). Profile de sensibilité des entérobactéries aux fluoroquinolones au CHU de Rabat. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Rabat à : Université Mohammed V, 77p. (Consulté le 02/06/2019).

Biokar 1 Diagnostics. (2010). Gélose de MacCONKEY. Fiche technique. France. (Consulté le 05/05/2019).

Biokar Diagnostics. (2009). Gélose de MUELLER-HINTON. Fiche technique. France. (Consulté le 05/05/2019).

Biokar Diagnostics. (2010). Gélose nutritive à 2%. Fiche technique. France. (Consulté le 05/05/2019).

Biokar Diagnostics. (2011). Bouillon nutritif. Fiche technique. France. Consulté le 05/05/2019).

BioMerieux SA. (2010). Système d'identification des *Entérobactériaceae* et autres bacillus à Gram négatif fastidieux. Fiche technique. France. (Consulté le 28/04/2019).

Bouklia O. (2014). Evaluation de la formation de biofilm par *Klebsiella pneumoniae* isolée de sondes urinaires. CHU de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude de MASTER : Biologie moléculaire et cellulaire. Tlemcen à : Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, 37p. (Consulté le 01/10/2018).

Boutoille D. (2011). Infections urinaires : Maladies infectieuses et tropicales. Fiche technique. (Consulté le 17/03/2019).

Brahimi L. (2013). Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires : Place de la fosfomycine et de la nitrofurantoïne. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Rabat à : Université Mohammed V - Souissi, 96p. (Consulté le 12/03/2019).

Bucourt C., Clerembault E., Chouaid C. et al. (1996). Le sondage urinaire. Fiche technique : Médecin. Paris à : Assistance Publique Hôpitaux de Paris, 24p. (Consulté le 03/06/2019).

C

Cattoir V. (2012). Quinolones : De l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. Rev Francoph Lab 445: 79-87. (Consulté le 12/05/2019).

D

Debabza M. (2015). Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : Etude bactériologique et moléculaire. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Annaba à : Université Badji Mokhtar, 217p. (Consulté le 12/05/2019).

Denis F., Ploy M., Martin C. et al. (2007). Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. 2eme édition. Paris : Elsevier masson, 135p. (Consulté le 19/03/2019).

Diouara M. (2007). Sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques dans le district de Bamako en 2006. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Mali à : Université de Bamako, 87p. (Consulté le 03/06/2016).

E

El Bouamri M (2017). Etude épidémio-moléculaire des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi au CHU de Marrakech. Thèse de Doctorat : Médecine. Rabat à : Université Mohammed V, 144p. (Consulté le 02/06/2019).

Elodie M., Boillat C., Kherad O. et al. (2017). Sonde urinaire : respecter les indications pour éviter les infections. Rev Med Suisse 13 : 273-5. (Consulté le 26/05/2019).

G

Gangoue J. (2007). Caractérisation des Beta- lactamases et leur inhibition par les extrait de plantes médicinales. Thèse de Doctorat : Biochimie. Liège à : Université de Liège, 105p. (Consulté le 12/05/2019).

H

Hnich H. (2017). La résistance bactérienne : mécanismes et méthodes de détection au laboratoire. Thèse de Doctorat : Médecine. Maroc à : Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, 39p. (Consulté le 12/03/2019).

Hounane N. (2011). Facteurs de risque des infections urinaires nosocomiales étude cas témoins. Thèse de Doctorat : Médecine. Agadir à : Université Cadi Ayyad, 135p. (Consulté le 01/06/2019).

J

Jalalpoor S. (2011). Study of the antibiotic resistance pattern among the bacterial isolated from the hospital environment of Azzahra Hospital, Isfahan, Iran. African Journal of Microbiology Research, Vol 5(20), 3317-3320. (Consulté le 15/05/2019).

K

Khennouchi N. (2016). Evaluation de l'antibiorésistance du genre *Enterobacter* aux antibiotiques. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Annaba à : Université Badji Mokhtar, 137p. (Consulté le 13/05/2019).

L

Lagha N. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de Doctorat : Sciences. Tlemcen à : Université Abou Bekr Belkaïd, 84p. (Consulté le 12/05/2019).

Lecomte M. (2011). Fuchsine de ZIEHL. Fiche technique. (Consulté le 05/05/2019).

Leulmi Z (2015). Les *Proteus* incriminés dans l'infection communautaire et hospitalière : étude moléculaire de la résistance aux antibiotiques. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Canstantine à : Université des Frères Mentouri. (Consulté le 01/06/2019).

Livermore, DM. 2003. "Bacterial Resistance: Origins, Epidemiology, and Impact" An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 36(1): 11-23. (Consulté le 12/05/2019).

M

Mamod A. (2016). Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération : quelles alternatives aux carbapénèmes ? : Etude prospective de la sensibilité in vitro du céfépime, du mécilinam et de la témocilline au CHU de Poitiers. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Poitiers à : Université de Poitiers, 84p. (Consulté le 15/12/2018).

N

Ndir A. (2015). Epidémiologie et impact médico-économique des infections hospitalières causées par les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu au Sénégal. Thèse de Doctorat : Epidémiologie. Sénégal à : Université Pierre et Marie Curie, 135p. (Consulté le 10/12/2018).

P

Pierson A. (2008). Coloration de gram. Fiche technique. (Consulté le 05/05/2019).

S

Solano C. (2014). Infection urinaire : Symptômes et traitements de l'infection urinaire. Canada. (Consulté le 19/03/2019).

T

Teleflex. (2018). Profilcath preconnected . Fiche technique. (Consulté le 28/01/2019).

V

Vasseur M. (2014). Détermination de nouvelle modalité d'utilisation des bêtalactamines en médecine vétérinaire par approche PK/PD en vue de protection de la santé: implication de la taille de la charge bactérienne pathogène. Thèse de Doctorat : Pharmacologie. Toulouse à : Université Toulouse, 239p. (Consulté le 01/06/2019).

Annexes

Annexe 01**Prélèvements réalisés au cours de la période d'étude.**

Code	Etablissement hospitalier	Service	Sexe	Age	Renseignements cliniques
17.1	EPH Bouguerra Boulaares.	Service d'infectieux homme.	Homme.	56 ans.	- Brucellose. - Sonde placé depuis 12 h.
17.2					
18.1	EPH Alia Salah.	Service chirurgie femme.	Femme.	56 ans.	- Diabétique. - Imputation du pied droit. - Antibiothérapie (claforan 1g ; céfotaxime) pendant 4 jours. - Sonde placé depuis 06 h.
18.2					
19.1	EPH Bouguerra Boulaares.	Service médecine femme.	Femme.	48 ans.	- Diabétique. - Sonde placé depuis 12 h.
19.2					
20	EPH Bouguerra Boulaares.	Service médecine homme.	Homme.	60 ans.	- Greffe rénal. - Sonde placé depuis 16 h.
21	EHS Khaldi Abdelaziz.	Service de gynécologie.	Femme.	35 ans.	- Avortement. - Sonde placé depuis 24 h.
23	EHS Khaldi Abdelaziz.	Service de gynécologie.	Femme.	34 ans.	- Avortement. - Sonde placé depuis 48 h.
25	EHS Khaldi Abdelaziz.	Service de gynécologie.	Femme.	18 ans.	- Kystectomie ovarienne. - Sonde placé depuis 12 h.
26	EHS Khaldi Abdelaziz.	Service de gynécologie.	Femme.	28 ans.	- Accouchement par césarienne. - Infection urinaire aiguë. - Sonde placé depuis 24 h.

Prélèvements réalisés au cours de la période d'étude (Suite).

Code	Etablissement hospitalier	Service	Sexe	Age	Renseignements cliniques
27	EHS Khaldi Abdelaziz.	Service de gynécologie.	Femme.	28 ans.	- Accouchement par césarienne. - Infection urinaire aiguë. - Sonde placé depuis 18 h.
30	EPH Bouguerra Boulaares.	Service d'infectieux homme.	Homme.	52 ans.	- Infection pulmonaire. - Sonde placé depuis 48 h.
35	EPH Alia Salah.	Service de chirurgie homme.	Homme.	60 ans.	- Diabétique. - Antibiothérapie : Claforan 1g (céfotaxime), Flagyl 500 mg (Métronidazole) pendant 3 jours. - Sonde placé depuis 12 h.
42	EHS Khaldi Abdelaziz.	Service de GHR.	Femme.	34 ans.	- Gestation. - Problème rénal. - Sonde placé depuis 24 h.
44.1	EHS Khaldi Abdelaziz.	Service de GHR.	Femme.	32 ans.	- Accouchement par césarienne.
44.2					- Infection urinaire aiguë. - Sonde placé depuis 24 h.
46	EPH Bouguerra Boulaares.	Service pneumo-phtisiologie.	Homme.	43 ans.	- Asthme bronchique. - Sonde placé depuis 18 h.
49	EPH Alia Salah.	Service de réanimation.	Homme.	51 ans.	- polytraumatisme (chute). - Sonde placé depuis 72h.
53.1	EPH Alia Salah.	Service de réanimation.	Homme.	70 ans.	- Thrombose des membres inférieurs.
53.2					- Sonde placé depuis 24 h.

Prélèvements réalisés au cours de la période d'étude (Suite).

Code	Etablissement hospitalier	Service	Sexe	Age	Renseignements cliniques
60	EPH Bouguerra Boulaares.	Service médecine homme.	Homme.	63 ans.	- Problème rénal. - Colique néphrétique. - Sonde placé depuis 4 jours.
61	EPH Bouguerra Boulaares.	Service pneumo- phtisiologie .	Homme.	40 ans.	- Diabétique. - Infection pulmonaire grave. - Sonde placé depuis 12 h.
64	EPH Bouguerra Boulaares.	Service homme.	Homme.	44 ans.	- Cardiopathie. - Hypertension. - Sonde placé depuis 5 jours.
66.1	EPH Bouguerra Boulaares.	Service pneumo- phtisiologie .	Homme.	53 ans.	- Asthme bronchique. - Sonde placé depuis 18 h.
69	EPH Bouguerra Boulaares.	Service homme.	Homme.	72 ans.	- Cardiopathie. - Hypertension. - Sonde placé depuis 72 h.
70.1	EPH Bouguerra	Service	Homme.	56 ans.	- Brucellose.
70.2	Boulaares.	homme.			- Sonde placé depuis 48 h.
72	EPH Bouguerra Boulaares.	Service homme.	Homme.	56 ans.	- Diabétique. - Hypertension. - Sonde placé depuis 5 jours.
76	EPH Bouguerra Boulaares.	Service d'infectieu x homme.	Homme.	68 ans.	- Cardiopathie. - Hypertension. - Infection urinaire. - Sonde placé depuis 48 h.

Prélèvements réalisés au cours de la période d'étude (Suite).

Code	Etablissement hospitalier	Service	Sexe	Age	Renseignements cliniques
78	EPH Bouguerra Boulaares.	Service médecine homme.	Homme.	48 ans.	- Cardiopathie. - Hypertension. - Sonde placé depuis 4 jours.
84	EPH Bouguerra Boulaares.	Service médecine homme.	Homme.	70 ans.	- Cardiopathie. - Hypertension. - Sonde placé depuis 48 h.
85	EPH Bouguerra Boulaares.	Service d'infectieux homme.	Homme.	38 ans.	- Rougeole. - Sonde placé depuis 72 h.
86	EPH Bouguerra Boulaares.	Service d'infectieux homme.	Homme.	52 ans.	- Cardiopathie. - Hypertension. - Infection urinaire. - Sonde placé depuis 48 h.
KIRI	EPH Bouguerra Boulaares.	Service d'infectieux femme.	Femme.	30 ans.	- Rougeole. - Infection urinaire récurrente. - Sonde placé depuis 48 h.
KIRII	EPH Bouguerra Boulaares.	Service médecine homme.	Homme.	52 ans.	- Problème prostatique. - Sonde placé depuis 72 h.
EKIR	EPH Bouguerra Boulaares.	Service médecine homme.	Homme.	70 ans.	- Diabétique. - Complications urologiques. - Sonde placé depuis 72 h.

Annexe 02

Milieux de culture utilisés

1. Bouillon nutritif :

❖ Composition :

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone 10,0 g.
- Extrait de viande..... 5,0 g.
- Chlorure de sodium..... 5,0 g.

pH du milieu prêt à l'emploi à 25 °C : $7,2 \pm 0,2$.

❖ Préparation :

- Mettre en solution 20,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes (**Biokar, 2011**).

2. Gélose nutritive :

❖ Composition :

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....5,0 g.
- Extrait de viande3,0 g.
- Agar-agar bactériologique.....12,0 g.

pH du milieu prêt à l'emploi à 25 °C : $7,0 \pm 0,2$.

❖ Préparation :

- Mettre en suspension 20,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes (**Biokar, 2005**).

3. Gélose Mac Conkey :

❖ Composition :

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine17,0 g.
- Tryptone.....1,5 g.
- Peptone pepsique de viande1,5 g.
- Lactose10,0 g.
- Sels biliaires.....1,5 g.
- Chlorure de sodium.....5,0 g.
- Rouge neutre30,0 mg.
- Cristal violet1,0 mg.
- Agar-agar bactériologique.....13,5 g.

pH du milieu prêt à l'emploi à 25 °C : $7,1 \pm 0,2$.

❖ Préparation :

- Mettre en suspension 50,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes (**Biokar 1, 2010**).

4. Gélose Mueller-Hinton :

❖ Composition :

Pour 1 litre de milieu :

- Hydrolysât acide de caséine17,5 g.
- Infusion de viande.....2,0 g.
- Amidon soluble1,5 g.
- Agar-agar bactériologique.....17,0 g.

pH du milieu prêt à l'emploi à 25 °C : $7,3 \pm 0,2$.

❖ Préparation :

- Mettre en suspension 38,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes (**Biokar, 2009**).

Annexe 03**Réactifs utilisés****1. Réactif de Kovacs :****❖ Composition :**

- P-diméthyl aminobenzaldéhyde7,0 g.
- Alcool amylique 75,0 ml.
- Acide chlorhydrique concentré 20,0 ml (Debabza, 2015).

2. Réactifs de Voges-Proskauer (VP) :**VP I :****❖ Composition :**

- Hydroxyde de potassium 40,0 g.
- Eau 100 ml.

VP II :**❖ Composition :**

- α naphthol 6,0 g.
- Ethanol 100 ml (Debabza, 2015).

3. Réactifs de la recherche de la tryptophane désaminase (TDA) :**❖ Composition :**

- Perchlorure de fer3,4 g.
- Eau distillée stérile100 ml (Debabza, 2015).

4. Réactifs pour la recherche de la nitrate réductase (NIT) :**NIT I :****❖ Composition :**

- Acide sulfamilique0,8 g.
- Acide acétique 5N100 ml.

NIT II :**❖ Composition :**

- Naphtylamine.....0,5 g.
- Acide acétique 5N100 ml (Debabza, 2015).

Annexe 04

Solutions utilisées pour la coloration de Gram

1. Violet de gentiane :

❖ Composition :

Solution A :

- Violet de gentiane 2,0 g.
- Alcool à 95° 20 ml.

Solution B :

- Oxalate d'ammonium 0,8 g.
- Eau distillée 80 ml.

❖ Préparation :

Mélanger les solutions A et B, laisser reposer 24 heures avant l'emploi, verser à travers un papier filtre dans un flacon (Pierson, 2008).

2. Solutions de lugol :

❖ Composition :

- Iode 1,0 g.
- Iodure de potassium 2,0 g.
- Eau distillée 300 ml.

❖ Préparation :

- Dissoudre d'abord l'iodure de potassium dans environ 30 ml d'eau distillée, ajouter l'iode et mélanger jusqu'à dissolution.
- Ajouter le reste d'eau distillée, mélanger.
- Conserver dans un flacon en verre brun ou en plastique opaque (à l'abri de la lumière) (Pierson, 2008).

3. Solutions de fuchsine :

❖ Composition :

- Fuchsine basique 10,0 g.
- Alcool à 90° 100 ml.
- Eau bidistillée 25 ml.
- Acide phénique cristallisé 50,0 g.

❖ Préparation :

Mélanger longuement et filtrer (Lecomte, 2011).

Annexe 05

Protocole coloration de Gram

- ❖ Réaliser un frottis ou un étalement.
- ❖ Fixer la préparation à la flamme, sécher soigneusement puis laisser refroidir la lame.
- ❖ Immerger les lames dans la solution de Violet de gentiane pendant 1 mn.
- ❖ Lavage à l'eau en transvasant les lames.
- ❖ Immerger les lames dans du Lugol pendant 1 mn en les agitant.
- ❖ Laver à nouveau à l'eau.
- ❖ Décolorer jusqu'à disparition de la couleur violette dans l'alcool en faisant couler goutte à goutte sur la lame inclinée ou en immergeant les lames pendant une dizaine de secondes dans le décolorant.
- ❖ Laver à l'eau.
- ❖ Contre colorer avec la solution de fuchsine pendant 20 à 30 secondes.
- ❖ Laver à l'eau et sécher à l'air.
- ❖ Observer à l'objectif x 100, en immersion avec de l'huile (**Pierson, 2008**).

Annexe 06

Diamètres critiques d'antibiogramme.

ATB Codes	AMX	TC	PRL	CL	IPM	TTC	ATM	CX	CAZ	CTX	AK	GEN	CIP	OF	COT
17.1	00	00	00	00	08	00	12	00	00	00	23	15	00	11	00
17.2	20	30	31	20	44	55	49	38	37	41	37	34	44	36	35
18.1	00	00	00	20	41	55	00	21	32	34	30	34	52	50	46
18.2	00	00	00	00	28	13	13	00	00	00	20	21	23	19	00
19.1	00	00	13	19	21	22	34	24	25	30	20	24	35	25	30
19.2	00	00	10	15	35	22	35	29	26	30	20	25	40	39	33
20	00	00	12	16	29	20	36	25	26	35	25	22	38	32	27
21	00	00	10	12	27	19	36	22	29	31	23	19	32	30	25
23	00	00	10	15	29	12	30	22	27	17	28	21	31	26	29
25	00	00	08	16	25	20	25	26	24	32	22	21	38	25	00
26	00	00	11	16	30	19	31	29	18	30	25	27	35	30	31
27	00	00	17	16	30	10	28	20	25	30	22	16	30	28	00
30	00	00	00	00	08	13	10	12	15	00	24	14	08	13	00
35	00	00	00	12	25	20	11	22	10	00	20	18	23	20	00
42	00	00	00	00	12	09	09	00	00	19	20	14	00	11	00
44.1	00	08	00	00	24	12	25	00	09	16	14	16	08	00	26
44.2	00	00	12	00	26	15	30	00	10	19	20	22	09	00	30
46	00	00	00	00	30	15	17	24	08	08	24	22	25	22	00
53.1	00	00	00	00	26	10	15	25	00	00	21	11	20	25	00
60	00	00	14	16	30	16	32	26	20	28	22	25	38	33	00
61	00	00	10	00	27	11	00	00	00	17	22	20	27	25	30
64	00	00	09	00	28	00	30	00	10	22	20	19	30	22	30
66.1	00	00	00	08	30	12	00	19	00	00	26	10	00	08	00
69	00	00	00	00	30	15	00	20	00	00	20	08	00	00	00
70.1	00	00	00	00	30	10	14	20	10	00	24	20	21	19	00
70.2	00	00	00	00	30	00	00	13	00	00	22	09	00	10	00

Diamètres critiques d'antibiogramme (Suite).

ATB Codes	AMX	TC	PRL	CL	IPM	TTC	ATM	CX	CAZ	CTX	AK	GEN	CIP	OF	COT
72	00	00	00	00	30	00	00	17	00	00	20	08	07	07	00
76	23	24	23	13	25	24	13	11	00	14	23	25	30	26	00
78	00	00	00	00	33	10	14	20	10	07	22	20	25	19	00
84	00	00	10	00	23	16	33	20	21	29	20	18	37	28	24
85	00	00	08	00	25	10	16	00	07	12	22	21	26	25	30
86	00	00	12	00	27	14	20	14	12	13	16	13	07	00	00
KIRI	00	00	12	17	30	14	32	22	20	29	20	20	28	29	00
KIRII	00	00	00	00	28	12	17	20	09	08	24	22	32	29	00
EKIR	24	30	25	00	30	20	16	00	00	19	25	10	26	24	00

Annexe 07

Lecture de la galerie miniaturisée Api 20E (BioMérieux).

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-nitrophényl- β -galactoside.	β -galactosidase.	Lecture directe.	 Jaune.	 Incolore.
ADH	Arginine.	Arginine dihydrolase.	Lecture directe.	 Rouge.	 Jaune.
LDC	Lysine.	Lysine décarboxylase.	Lecture directe.		
ODC	Ornithine.	Ornithine décarboxylase.	Lecture directe.		
CIT	Citrate.	Utilisation du citrate.	Lecture directe.	 Bleu.	 Jaune.
				 Bleu-vert.	 Vert pâle.
H ₂ S	Thiosulfate de sodium.	Thiosulfate réductase « production d'H ₂ S ».	Lecture directe.	 Noir.	 Incolore.
URE	Urée.	Uréase.	Lecture directe.	 Rouge.	 Jaune.
				 Orangé.	

Lecture de la galerie miniaturisée Api 20E (BioMérieux) (Suite).

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte	Résultat +	Résultat -
TDA	Tryptophane.	Tryptophane désaminase.	Lecture indirecte. Test : Perchlorure de Fer / immédiat.	 Marron.  Rougeâtre.	 Jaune.
IND	Tryptophane.	Tryptophanase « production d'indole ».	Lecture indirecte. Test : Kovacs / immédiat.	 Rose.	 Jaune.
VP	Pyruvate de sodium.	Production d'acétoïne.	Lecture indirecte. VP1 (KOH) + VP2 (α -naphthol) / 10min.	 Rouge.  Rose.	 Incolore.  Rose pâle.
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase.	Lecture directe.	 Noir.	 Incolore.
GLU	Glucose.	Fermentation / Oxydation.	Lecture directe.	 Jaune.	 Bleu.
MAN	D-mannitol.		Lecture directe.		
INO	Inositol.		Lecture directe.		
SOR	D-sorbitol.		Lecture directe.		
RHA	L-rhamnose.		Lecture directe.		
SAC	D-saccharose.		Lecture directe.		
MEL	D-melibiose.		Lecture directe.		
AMY	Amygdaline.		Lecture directe.		
ARA	L-arabinose.		Lecture directe.		

Lecture de la galerie miniaturisée Api 20E (BioMérieux) (Suite).

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte	Résultat +	Résultat -
NO ₂ ⁻ / N ₂ Microtube GLU	Potassium nitrate « KNO ₃ ».	Nitrate réductase.	Nit 1 + Nit 2 / 5min.	 Rouge.	 Jaune.
			La poudre zinc en cas de résultat négatif.	 Jaune.	 Rouge.  Orangé.



Université Larbi Tébessi - Tébessa



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : *NEGRICH MABROUKA*

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : *Biologie Appliquée*

N° de carte d'étudiant : *14 134016869 / 2014*

Année universitaire : *2018/2019*

Domaine: *Sciences de la Nature et de la Vie*

Filière: *Sciences Biologiques*

Spécialité: *Microbiologie Appliquée*

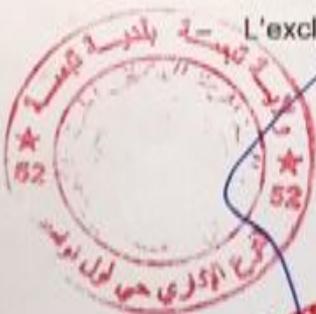
Intitulé du mémoire : *Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'Enterobactéries isolées de sondes urinaires*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.



12 جويلية 2019
امضاء السيدة: زياتي الهادي
فيل مفتاح

Fait à Tébessa, le : *11/06/2019*

Signature de l'étudiant(e) :



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : M. Maghroui, Ibtissam

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : biologie appliquée

N° de carte d'étudiant : 14134016183 / 2014

Année universitaire : 2018 / 2019

Domaine : science de la nature

Filière : science biologique

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé du mémoire : évaluation de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques isolés de nosobes primaires

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 11/06/2019

Signature de l'étudiant(e) :

عن رئيس المجلس العلمي
وتمثلت بحضور
مضام: عزقة بن عزقة
كتيب: رفسن التيمسي



Université Larbi Tébessi - Tébessa

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : DAQUADI ABDERRAZEK

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 6.01.675/2002

Année universitaire : 2018-2019

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Microbiologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé du mémoire : Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées de sondes urinaires

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 13 جوان 2019

Signature de l'étudiant(e) :

13 جوان 2019

شخصي البلدي
المستشار
الكلية
القلمية
كتيب راسين