



République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Larbi Tébessi-Tébessa

Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie

Département : Biologie appliquée.

Domaine : science de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER



كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES
ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

**Caractérisation phénotypique de la résistance aux
 β -lactamines à large spectre des souches cliniques
d'Entérobactéries isolées des prélèvements urinaires**

Présenté par : **BOUAKKAZ Souhaib** et **BENHADDA Ahmed**

Devant le jury :

Présidente de jury : **Mme. BENHADJ M.** MAA. Université Laarbi Tébessi (Tébessa)

Promoteur : **Mr. MECHAI A/B.** MCA. Université Laarbi Tébessi (Tébessa)

Co-Promoteur : **Mme. DEBABZA M.** MCB. Université Laarbi Tébessi (Tébessa)

Examinatrice : **Mme. AZIZI N.** MAA. Université Laarbi Tébessi (Tébessa)

Date de soutenance : 24 juin 2020

Note.....Mention :.....

ANNEE UNIVERSITAIRE: 2019-2020

ملخص:

تعتبر البكتيريا المعوية المنتجة لإنزيم البتالاكتماز واسع الطيف (EBLSE) حاليا مشكلة هامة في القطاع العام للصحة في جميع أنحاء العالم بسبب الصعوبات العلاجية للعدوى التي تنتسبب فيها هذه البكتيريا متعددة المقاومة.

يهدف عملنا إلى البحث عن البكتيريا المعوية المنتجة لإنزيم البتالاكتماز واسع الطيف (EBLSE) في عينات البول التي تم جمعها من مختلف أقسام المؤسسة الإستشفائية العمومية العوينات ، ولاية تبسة.

من بين 55 عينة تم جمعها، تم تحديد 22 بكتيريا معوية من إجمالي 22 عزلة بكتيرية بتردد عزل 100٪ (22/22).

البكتيريا السائدة هي اشريشيا كولي *Escherichia coli* بثمانية (08) سلالات (30.36٪) ، تليها انتروباكتر كلوكاي *Enterobacter cloacae* بثلاث (03) سلالات (13.36٪) ، كلبسيلا اوكسييتوكا *Klebsiella oxytoca* بثلاث (03) سلالات (13.63) ، و كلويفيرا سيب *Kluyvera spp* بسلالتين 02 (09.09٪).

الكلمات المفتاحية: التهابات المسالك البولية ، المضادات الحيوية ، المقاومة ، BSLE.

Résumé :

Les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (EBLSE) posent actuellement un problème majeur de santé publique, dans le monde entier, à cause de la difficulté thérapeutique des infections dues à ces bactéries multi résistantes.

L'objectif de notre travail consiste à rechercher les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (EBLSE) des prélèvements urinaires collectés à partir de différents services de l'établissement public hospitalier El Eouinat, wilaya de Tébessa.

Des 55 prélèvements collectés, 22 entérobactéries ont été identifiées parmi un total de 22 isolats avec une fréquence d'isolement de 100% (22/22).

Les bactéries prédominantes sont *Escherichia coli* avec 8 souches (30.36%), suivie d'*Enterobacter cloacae* avec 3 souches (13.36%), de *Klebsiella oxytoca* avec 3 souches (13.63), de *Kluyvera spp* avec 2 souches (09.09%).

Mots clés : Infections urinaires, antibiotiques, résistance, BLSE.

Abstract :

Extended-spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae ESBL constitutes currently a major public health problem worldwide, due to the infection's therapeutic difficulties caused by these multi-resistant bacteria.

Our work aims to look for Extended-spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae ESBL in urine samples collected in different wards of the public health hospital El Eouinat, Tebessa.

Among the 55 collected samples, 22 enterobacteria were identified from a total of 22 isolates with a 100%(22/22) isolation frequency .

The predominant bacteria are *Escherichia coli* with 8 strains (30.36%), followed by *Enterobacter cloacae* with 3 strains (13.36%), *Klebsiella oxytoca* with 3 strains (13.63), *Kluyvera spp* with 2 strains (09.09%).

Keywords: Urinary tract infections, antibiotics, resistance, ESBL.

REMERCIEMENTS :

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination. Notre cursus en biologie nous a permis de le réaliser. Alors, avant de faire quelconque développements au sujet de cette expérience, il est opportun de remercier tous ceux qui y ont contribué.

*Nous remercions **Allah** Le Tout Puissant pour nous avoir guidé vers le droit chemin et nous avoir permis de mener ce travail à bien.*

*Nous tenons à remercier notre encadreur **Mr.Mechai A.** et lui témoigner notre gratitude pour sa patience, son soutien, sa gentillesse et surtout ses encouragements sans lesquels ce travail n'aurait pas pu être mené à bon port.*

*Nous tenons à remercier également notre Co-encadreur **Mme.Debabza** qui a eu l'amabilité de répondre à nos questions et nous fournir les explications nécessaires.*

*Nous tenons également à remercier **Mme.Benhadj** pour nous avoir fait l'honneur de présider notre jury.*

*Nous tenons également à remercier **Mme.Azizi** pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nous tenons à remercier aussi l'université pour nous avoir donné l'opportunité de vivre une expérience tellement enrichissante sur le plan humain et professionnel.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants et professeurs de l'école primaire à l'université qui nous ont enseigné, formé et soutenu durant nos années d'études.

Et enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon acheminement de cette formation en biologie.

DEDICACES :

Je dédie ce travail ;

À "Allah" le Tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce travail ..

À ma mère « Fouzia », qui a œuvré pour ma réussite, de par son soutien, tous les sacrifices et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie...

À mon père « Hocine », qui peut être fier de trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie...

À mes très chers frères Sallah, Saad, Moussab et ma chère sœur Farah, Puisse Allah le Tout puissant vous réjouir, vous combler d'avantage, vous apporter du bonheur et vous protéger.

À tous mes amis Alla, Charaf, Saad, Aymen, Islam, Ilyas, Ayoub, Zidan, Kheiri, Mouhcen, Abdou, Hichem, Zaki, Djelloul et à tous mes amis que je n'ai pu citer, pour leurs amours et leurs encouragements.

Je veux dédier aussi un grand merci à mon binôme Ahmed.

À notre chère doctorante Roufaïda pour son amabilité et son aide très précieuse.

À tous mes collègues de promotion de master 2 microbiologie appliquée et tous mes collègues des autres spécialités. Merci pour votre amour et votre amitié vous êtes les meilleurs...

À tous ceux qui ont été à mes côtés jusqu'à aujourd'hui.

Dédicace :

A Dieu le Tout puissant qui a béni mon travail et m'a permis d'arriver là où je suis aujourd'hui.

A la mémoire de mes grands-parents...

A ma famille qui a toujours été là pour moi, et qui m'a donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Pour votre soutien moral et vos sacrifices le long de mes études:

*A ma chère mère **Meriem** pour ton amour car tu n'as jamais cessé de m'encourager, de prier pour moi et de te sacrifier. Jamais les mots ne te fieront ton droit. Puisse Dieu, le Tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur...*

*A mon cher père **Zoubir**, pour tes efforts fournis jours et nuits pour mon éducation et mon bien être...*

*A mon très cher frère **Amine**, tu t'es dépensé pour moi sans compter. En reconnaissance de tous tes sacrifices, ton soutien, ton temps, ta disponibilité et ta patience...*

*A ma très chère sœur **Chahinez** qui s'est donné pour moi et qui a veillé des nuits pour m'aider dans mes études (et parfois même étudier à ma place)...*

*A ma chère sœur **Nadjette**, pour tout ton amour, tes encouragements ...*

*A ma belle sœur **Aya** pour ta gentillesse, ainsi que mes adorables **sirine** et **zakaria***

*A mes tantes **Halima** et **Abla** pour leurs soutiens et bienveillance, mes oncles et mes amis et tous ceux que je n'ai pu citer...*

*A mon binome **Souhaib** pour sa persévérance et sa gentillesse..*

*A notre chère doctorante **Roufaïda** pour son amabilité et son aide très précieuse...*

Je vous dédie ce travail et j'espère que vous y trouverez toute ma reconnaissance et mon amour.

Liste des tableaux

N°	Titre du tableau	Page
01	Les principaux constituants de l'urine	4
02	Caractères généraux de l'urine saine et d'une urine contaminée	4
03	Caractères biochimiques de quelques entérobactéries	12
04	Lecture de la galerie miniaturisée Api 20E	35
05	Liste des antibiotiques utilisés	37
06	Répartition des résultats d'ECBU	42
07	Répartitions des résultats positifs en fonction du sexe	44
08	Répartition des résultats positive selon la tranche d'âge et le sexe	44
09	Répartition des souches isolées selon le service	44
10	Les résultats de l'identification des souches par la galerie API 20E	48-49
11	Répartition des espèces d'Entérobactéries isolées	50

Liste des figures

N°	Titre de la figure	Page
01	Anatomie de l'appareil urinaire	5
02	Forme topographique de types d'infection urinaire	7
03	Structure de la paroi des bactéries à Gram négatif	11
04	Site d'action des différents types d'antibiotiques	18
05	Structure des bêta-lactamines	19
06	Structures de quelques β -lactamines	21
07	Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame	24
08	Galerie API20E	33
09	Schéma explicatif de la disposition des disques d'antibiotiques	39
10	Description de l'image de synergie	41
11	Schéma explicatif du test du double disque	42
12	Répartition des résultats d'ECBU	43
13	Aspect macroscopique de quelques isolats	45
14	Aspect microscopique de deux souches isolées	46
15		
16	Répartition des espèces d'Entérobactéries isolées	47
17	Quelques résultats de l'identification par la galerie miniaturisée API 20E	50

Liste des abréviations

- **ADH**: arginine dihydrolase
- **AMC** : amxiciline + acide clavulanique
- **AMY**: amygdaline
- **ARA**: arabinose
- **ATM** : Aztréonam
- **API 20E** : Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries)
- **BES** : brazilian extended spectrum
- **BGN** : Bacilles Gram négatif
- **BLSE** : β -lactamases à spectre étendu
- **β -lactamase**: Bêta-lactamases.
- **C1G** : céphalosporines première génération
- **C2G** : céphalosporines deuxième génération
- **C3G** : céphalosporines troisième génération
- **C4G** : céphalosporines quatrième génération
- **CAZ** : ceftazidime
- **CIT** : Citrate
- **cm** : centimètre
- **CMI** : concentration minimale inhibitrice
- **CTX** : Céfotaxime
- **CTX-M** : Céfotaximase-Muenchen
- **C°** : Degré Celsius
- **ECA** : Enterobacterial Common Antigen
- **ECBU** : examen cytobactériologique des urines
- **FEC** : fécale *Escherichia coli*
- **GEL** : Gélatinase
- **GES** : Guyana extended spectrum
- **GLU** : glucose
- **GN** : gélose nutritive
- **h** : heure
- **H₂S** : Sulfure d'hydrogène

- **INO:** inositol
- **IND:** production d'indole
- **IU :** infection urinaire
- **kg :** kilogramme
- **Lac :** Lactose
- **LDC :** lysine décarboxylase
- **MAN:** mannitol
- **MC :** Mac Conkey
- **MEL:** melibiose
- **MH :** Mueller-Hinton
- **min :** minute
- **ml :** millilitre
- **mm :** millimètre
- **Mob :** Mobilité
- **NIT :** nitrate
- **NO2 :** dioxyde d'azote
- **ODC :** ornithine décarboxylase
- **ONPG :** Orthonitrophénol-bêta-galactosidase
- **OXA :** oxacillinase
- **PER :** Pseudomonas extended resistance
- **PLP:** protéines liant pénicilline
- **RHA :** rhamnose
- **SAC :** D-saccharose
- **SFO :** Serratia fonticola
- **SHV :** SulfiHydroxyl Variable
- **SNC :** Les infections du système nerveux central
- **SOR :** D-sorbitol
- **TDA :** Tryptophane désaminase
- **TEM :** Temnoniera
- **TLA :** Tlahuicas, tribu mexicaine
- **URE :** uréase
- **µl :** microlitre

- **μm** : Micromètre.
- **VEB** : Vietnam extended spectrum
- **VP** : Voges-Proskauer.
- **Zn** : zinc

Table de matière

	Page
RÉSUMÉ (en Arabe)	i
RÉSUMÉ (en Français)	ii
RÉSUMÉ (en Anglais)	iii
REMERCIEMENTS	iv
DEDICACES	v
LISTE DES TABLEAUX	vii
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES ABREVIATIONS	ix
TABLE DES MATIÈRES	xii

INTRODUCTION	1
---------------------------	----------

Partie I : Revue bibliographique

Chapitre 01 : Les infections urinaires

I. Généralités	3
1. L'urine	3
1.1 Définition	3
1.2 Caractères physicochimiques de l'urine	3
1.3 Constitution physiologique de l'urine	3
1.4 Comparaison entre urine normal et contaminé	4
2. Définition de l'appareil urinaire	5
II. Epidémiologie	5
1. Les infections urinaires (IU)	5
1.1. Définition	5
1.2. Les types d'infections urinaires	6
1.2.1. La cystite	6
1.2.2. L'urétrite infectieuse	7
1.2.3. La pyélonéphrite	7
1.2.4. La prostatite aiguë	7
1.3. Transmission de l'IU	8

1.3.1. Contact direct.....	8
1.3.2. Contact indirect	8
1.4. Contact facteurs favorisant l'infection urinaire	9

Chapitre 02 : Les Entérobactéries

1. Entérobactérie	10
1.1. Habitat et pouvoir pathogènes.....	10
1.2. Paroi des entérobactéries	11
1.3. Caractères culturels.....	11
1.4. Caractères biochimiques.....	12
1.5. Caractères antigéniques.....	12
2. Les genres d'entérobactéries.....	13
2.1 <i>Escherichia coli</i>	13
2.2 <i>Klebsiella</i>	14
2.3 <i>Proteus</i>	14
2.4 <i>Enterobacter</i>	15
2.5 <i>Citrobacter</i>	15
2.6 <i>Serratia</i>	16

Chapitre 03 : Résistance aux antibiotiques

1. Les antibiotiques	17
2. Les β -lactamines.....	18
2.1. Structure	19
2.2. Classification	19
3. Résistance aux antibiotiques	21
3.1. Définition	22
3.2. Type de résistance bactérienne	22
4. Mécanismes de résistance aux β -lactamines	22
4.1. Imperméabilité	22
4.2. Système d'efflux	23
4.3. Modification des PLP	23
4.4. Production de β -lactamases	23
5. β -lactamases :	23
5.1. Définition	23

5.2. Classification	24
6. β -lactamases à spectre étendu (BLSE) :.....	25
6.1. Définition	25
6.2. Différents types de BLSE	26
6.3. Épidémiologie	28

Partie II : Etude Experimentale

Matériel et Méthodes

I. Cadre d'étude et objectif	29
II. Matériel	29
1. Appareillages	29
2. Verrerie	29
3. Outils	29
4. Réactifs et autres substances	30
5. Milieux de culture	30
III. Méthodologie de travail	30
1. Réalisation des prélèvements	30
2. Technique de prélèvement des urines	31
3. Ensemencement	31
4. Isolement	31
5. Purification	31
6. Conservation	32
7. Identification biochimique par galerie API 20E	32
8. Test de l'antibiogramme	36
Étude de la sensibilité aux antibiotiques	36
8.1. Définition	36
8.2. Principe	36
8.3. Choix des antibiotiques	37
8.4. Technique	38
8.5. Incubation des boîtes de Pétri	38
8.6. Lecture et interprétation	39
9. Recherche d'une BLSE	40
9.1. Le test de synergie	40

9.2. Test de double disque	41
---	-----------

Résultats et discussion

I. Résultats	43
1. Isolats bactériens	43
1.1. Caractéristiques de la population étudiée	43
1.2. Répartition des résultats d'ECBU exécutés pendant la durée d'étude.	43
1.3. Répartitions des résultats positifs en fonction du sexe	44
1.4. Répartition des résultats positive selon la tranche d'âge et le sexe	44
1.5. Répartition des souches isolées selon le service	44
2. Aspects macroscopiques des isolats	45
3. Aspects microscopiques des isolats	46
4. Identification biochimique	46
II. Discussion.....	51
Conclusion.....	53
Références bibliographiques.....	54

Annexes

L'infection urinaire (IU) représente, partout dans le monde, l'un des principaux motifs de consultation, d'explorations microbiologiques et l'utilisation intensive des antibiotiques. Cette dernière a pour conséquences l'augmentation du coût des soins et l'émergence de souches multi résistantes aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire (**Pitout et al., 2005**).

Les bacilles à Gram négatif occupent une place très importante parmi les micro-organismes responsables d'infections nosocomiales. Ces bactéries ont un niveau de résistance naturel élevé, en relation avec différents mécanismes de résistance. Elles peuvent acquérir des résistances qui peuvent être le fait d'une mutation chromosomique ou de l'acquisition de plasmides de résistance (**Lagha, 2015**).

L'augmentation et la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif, représente un problème majeur de santé publique. Les infections nosocomiales causées par ces bactéries multirésistantes conduisent à l'augmentation des coûts des soins, à des hospitalisations prolongées, à des échecs thérapeutiques et à un taux élevé de morbidité et de mortalité (**Belbel, 2014**).

Il est clair que depuis plusieurs années la résistance bactérienne est d'incidence croissante dans le monde entier. En effet, dès le début de l'utilisation extensive des β -lactamines dans les années 1940, celles-ci ont été confrontées au contre-poids de la résistance. Dans un premier temps, on a pu observer l'émergence de mutants résistants aux pénicillines par production de pénicillinase, puis aux associations de β -lactamines et inhibiteurs de β -lactamases (**Abderrahim, 2018**).

Les β -lactamines représentent la principale famille d'antibiotiques la plus développée et la plus administrée dans les traitements des infections bactériennes dans le monde. Cette large utilisation est due à leur spectre d'action élargie, ainsi que leur faible toxicité, leur efficacité et à leur faible coût par rapport à certaines molécules (**Debabza, 2015**).

Chez les bactéries, il existe 4 types de mécanismes de résistance aux β -lactamines: la faible affinité pour les PLP, l'imperméabilité, l'efflux et l'inactivation enzymatique par les β lactamases (**Poole, 2004**). Les β -lactamases constituent le principal mécanisme de résistance

aux β -lactamines, des bactéries à Gram négatif (**Jacoby et Munoz-Price, 2005**). Ces enzymes peuvent être chromosomiques ou plasmidiques et produites d'une manière inductible ou constitutive. Elles sont sécrétées dans l'espace périplasmique chez les bactéries à Gram négatif ou dans le liquide extracellulaire chez les bactéries à Gram positif (**Essack, 2001**).

Alors que les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) étaient observées essentiellement en milieu hospitalier, la diffusion de ces germes multi-résistants en milieu communautaire est de plus en plus inquiétante. La transmission, principalement plasmidique, des gènes codants pour les BLSE est responsable de leur dissémination rapide et ainsi de l'augmentation de la prévalence des bactéries productrices de BLSE partout dans le monde (**Arpin et al., 2003**). Dans notre pays, bien que la maîtrise de la diffusion de ces bactéries multi-résistantes constitue une priorité, peu de données actualisées permettent de définir l'ampleur de ce phénomène.

Notre étude a donc été réalisée afin d'atteindre les objectifs suivants :

- ✓ L'obtention de souches gram négatives pures à partir de prélèvement urinaires de patients d'un établissement hospitalier ;
- ✓ Identification et isolement des entérobactéries de ses souches pures ;
- ✓ Evaluation de la résistance et multi-résistance des entérobactéries aux antibiotiques plus précisément la famille des bêtalactamines à spectre élargi ;
- ✓ Discuter du mécanisme de la multi-résistance et des EBLSE ;
- ✓ Discuter de l'émergence des entérobactéries multi-résistantes responsables de pathologies humaines et déterminer leurs profils de résistance.

Ce mémoire de fin d'étude sera composé de deux parties. La première partie de ce document est la partie théorique ,constituée de trois chapitres , elle portera sur les infections urinaires , la revue de la littérature sur l'étude bactériologique des entérobactéries et les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques et les données épidémiologiques. La deuxième partie est la partie pratique ; elle présentera le matériel et les méthodes expérimentales utilisés, ainsi que l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent. Finalement, une synthèse d'une conclusion générale des différents résultats et discussions abordés au cours de ce travail sera présentée, avant de conclure par quelques perspectives.



PARTIE I :
REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE 1 :
LES INFECTIONS
URINAIRES

I. Généralités :**1. L'urine :****1.1 Définition :**

L'urine est un liquide biologique composé des déchets de l'organisme, elle est secrétée par les reins par filtration du sang, qui sera expulsée hors du corps par le système urinaire (Zerari et Kouadio, 2014).

1.2 Caractères physicochimiques de l'urine :

L'urine d'un sujet sain présente plusieurs paramètres :

- **Volume** : 1000-1600 ml en 24h. Ce volume peut être réduit de moitié environ à la suite de grandes chaleurs ou de divers exercices corporels.
- **Couleur** : jaune ambrée liée aux pigments qu'elle contient tels l'urochrome et l'uroerythrine.
- **Limpidité** : l'urine normale fraîchement émise renferme toujours des cellules épithéliales, du mucus de sédiment, et constitue le dépôt floconneux. Les leucocytes qu'elle contient peuvent également de façon légère diminuer sa clarté.
- **Odeur** : légère, cependant des bactéries peuvent transformer l'urée en carbonate d'ammonium (cas de cystite) et donner une odeur ammoniacale.
- **Poids** : déterminé à l'aide d'un pycnomètre l'urine recueillie 24h pèse environ 1,020 kg (Lavigne., 2007).

1.3 Constitution physiologique de l'urine :

L'urine est composée de 95% d'eau dans laquelle les déchets du métabolisme sont dissous. Les principaux constituants sont mentionnés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Les principaux constituants de l’urine (Bouakkaz et Boucherbit, 2017).

Principaux constituants d’urine	Volume habituelles
Eau	950 g/l
Urée	20à30 g/l
Chlorure	6à10 g/l
Sodium	5à6.5g/l
Phosphates	1.5à3g/l
Sulfate	2g/l
Créatinine	1à1.5g/L
Ammoniaque	0.5à1g/l
Acide hippurique	0.5g/l
Acide urique	0.4 à 0.8g/l
Calcium	0.008à 0.3g/l

1.4 Comparaison entre urine normal et contaminé :

Le tableau 2 suivant donne un aperçu général entre les urines saines et contaminées :

Tableau 2 : Caractères généraux de l’urine saine et d’une urine contaminée (Bekheira, 2018).

Caractères	Etat normal	Etat anormal	
		Diminution	Augmentation
Volume	20 ml/kg de poids corporel, soit 1300 à 1 500 ml par 24h.	<500 ml constitue l’oligurie : s’observe dans toutes les maladies infectieuses.	> 2 000 ml Constitue la polyurie : tous les diabètes (sucrés, rénaux, et insipides ainsi que dans les néphrites interstitielles).
Couleur	Jaune citron plus ou moins foncé.	Jaune paille ou incolore : néphrite interstitielle chronique.	Brun acajou dans le cas d’un ictère, rouge sanglant dans l’hématurie.
Odeur	Peu prononcée.	/	Odeur de pomme au cours de l’acétonurie.
Ph	5 à 8	S’abaisse (acidité augmentée) chez les diabétiques.	Augmente (acidité diminuée) dans les insuffisances rénales.

2. Définition de l'appareil urinaire :

C'est un ensemble d'organes assurant l'épuration du sang ainsi que la production et l'élimination de l'urine. L'appareil urinaire se compose de deux reins, des uretères, d'une vessie, d'un urètre et d'un méat urinaire (**figure 1**). Il se forme et commence à fonctionner avant la naissance (**Kouta, 2009**).

Le rôle de ce système est de former l'urine qui sera évacuée. L'urée est excrétée par les reins qui fabriquent l'urine ; cette urine est acheminée par l'uretère jusqu'à la vessie, une poche retenant l'urine, ensuite rejetée à l'extérieur de l'organisme lors de la miction par l'urètre s'abouchant au méat urinaire (**Ellatifi, 2011**).

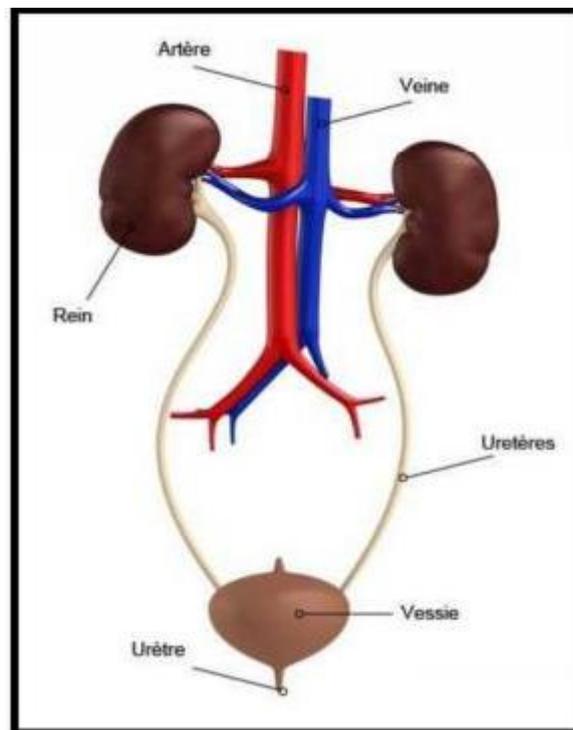


Figure 1 : Anatomie de l'appareil urinaire (**Ellatifi, 2011**).

II. Epidémiologie :

1. Les infections urinaires (IU) :

1.1 Définition :

Une infection urinaire (IU) 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. 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 (**Banacorsi, 2007**).

Les infections urinaires sont une des plus fréquentes infections bactériennes (**Foxman et al., 2000**). Elles sont principalement causées par des entérobactéries, dont en premier lieu (*E.coli*), qui représente 70 à 80 % des bactéries isolées en cas de prélèvement urinaire (**Baerheim et al., 1999**).

Deux types d'IU sont identifiés :

a) Infections urinaires simples : Ce sont des IU qui sont identifiées chez des patients ne présentant pas des facteurs de risque. En pratique, elles ne concernent que la femme sans complications particulières (**Silveira, 2009**).

b) Infections urinaires compliquées : Ce sont des IU survenant chez des patients ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe (**Silveira, 2009**). Parmi les facteurs de risque majeurs nous pouvons citer :

- Les anomalies organiques ou fonctionnelles de l'arbre urinaire, qu'elles soient : résidu vésical, reflux, lithiase, tumeur, acte récent.
- Certaines situations pathologiques (diabète, immunodépression, insuffisance rénale, etc.)
- Certains terrains physiologiques (homme, sujet âgé avec comorbidité, grossesse).

1.2 Les types d'infections urinaires :

Il existe quatre types d'infection urinaires (**Figure2**).

1.2.1 La cystite :

La cystite ne s'accompagne jamais de fièvre, la symptomatologie associée à des degrés divers : (**Anglaret et Mortier, 2003**).

- 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 (cas fréquent pendant la grossesse).

1.2.2 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 et Mortier, 2003).

1.2.3 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), mais s'accompagne souvent de : Douleurs lombaires et Douleurs abdominales (Anglaret et Mortier, 2003).

1.2.4 La prostatite aigue :

Est une inflammation de la prostate causée par des agents infectieux (bactéries, champignons, mycoplasmes) ou par une affection (par exemple rétrécissement de l'urètre, hyperplasie de la prostate). Le germe en cause : *Escherichia coli*. (Anglaret et Mortier, 2003).

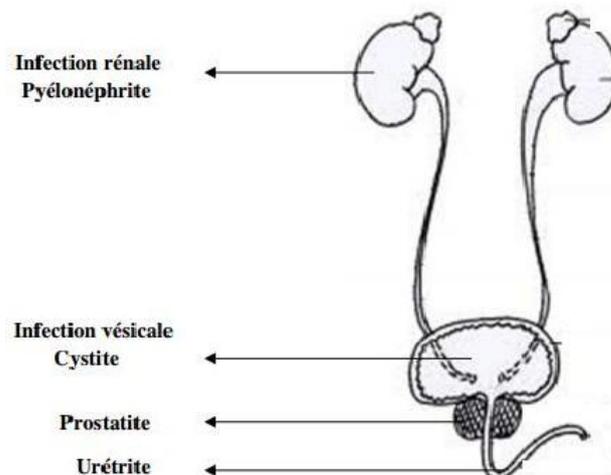


Figure 2 : Forme topographique de types d'infection urinaire (Bouarroudj,2015).

1.3 Transmission de l'IU :

La transmission de l'agent infectieux à l'organisme hôte constitue toujours la première étape de l'infection, car l'agent pathogène doit entrer en contact physique avec son hôte potentiel (**Bousseboua, 2005**). La transmission peut être directe ou indirecte :

1.3.1 Contact direct :

Le contact du corps contaminé au corps sain peut se faire de plusieurs façons comme à travers des lésions ou des muqueuses. Les mains du personnel soignant porteur de germes provenant d'autres malades. Les bactéries étant introduites dans la vessie à l'occasion de différentes mauvaises manipulations : lavages vésicaux, déconnexions intempestives du montage entre la sonde et le système de drainage (**Bousseboua, 2005**).

- **Transmission interhumaine (interpersonnelle) :**

La transmission interhumaine est la propagation d'un microorganisme pathogène par contact physique entre une personne abritant le pathogène et un hôte réceptif, sans qu'un objet agisse comme intermédiaire. Les relations sexuelles sont des exemples courants de contacts directs par lesquels des infections peuvent être transmises. La transmission interhumaine peut aussi se faire par l'exposition directe à des excréments ou à des liquides biologiques provenant d'une personne souffrant d'une infection (**Bousseboua, 2005**).

- **Auto-infection :**

Certaines infections sont de type endogène, c'est-à-dire qu'elles sont causées par des microorganismes qui font partie de la flore normale, mais qui peuvent devenir des pathogènes opportunistes. Lorsque les circonstances leurs sont favorables, ces espèces parviennent à se multiplier et à perturber l'homéostasie de la personne qui les héberge (**Bousseboua, 2005**).

1.3.2 Contact indirect :

Les objets contaminés, les aliments, les liquides de perfusions et les solutions d'antiseptiques contaminés peuvent être une grande source de contamination (**Bouarroudj et Boutebza, 2015**).

1.4 Les facteurs favorisant l'infection urinaire :

a) Facteurs liés à l'hôte

Ces facteurs sont surtout représentés par : **(Bouvenot, 2012)**

- Les modifications hormonales chez la femme (ménopause ; périodes pré- et post menstruelles).
- Les infections gynécologiques à chlamydia ou à mycoplasmes, qui fragilisent la muqueuse vaginale et modifient la flore bactérienne vaginale.
- L'insuffisance ou surtout les excès d'hygiènes périnéales.
- Les anomalies anatomiques ou fonctionnelles de l'appareil urinaire (tumeurs, lithiase, reflux vésico-urétéral, diverticules vésicaux).
- La stase urinaire par compression extrinsèque (grossesse, prolapsus génital, hypertrophie prostatique).
- Les corps étrangers (sondage ou endoscopie).
- Certains terrains (diabète, immunodépression).

b) Facteurs liés à la bactérie :

Certaines bactéries en particulier *E.coli* possèdent des facteurs de virulence particuliers, liés à la présence pili, de certains antigènes O ou de polysaccharides capsulaires (antigènes K1), à la production d'hémolysine, etc. **(Bouvenot, 2012)**.



CHAPITRE 2 :
LES
ENTÉROBACTÉRIES

1. Entérobactérie :

Etymologiquement, le terme *Enterobacteriaceae* vient de deux mots grecs : enteron « intestin » et baktérion « petit bâton ». Il signifie bacilles intestinaux. Le nom d'Entérobactéries a été donné parce que ces bactéries sont généralement des hôtes commensaux ou pathogènes du tube digestif de l'homme et des animaux (**Oussadi et Bounneche, 2010**).

La classification des entérobactéries est la suivante :

- Règne : *Bacteria*,
- Embranchements : *Proteobacteria*,
- Classe : *Gamma-proteobacteria*,
- Ordre : *Enterobacteriale*,
- Famille : *Enterobacteriaceae* (**Bergey's, 2012**)

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

- Bacilles à Gram négatif ;
- Dépourvus d'oxydase ;
- Mobiles grâce à une ciliature péritriche ou immobiles ;
- Facilement cultivables sur des milieux usuels Fermentent le glucose avec ou sans production de gaz ;
- Réduisent les nitrates en nitrites (**Brahimi, 2013**).

Les entérobactéries sont parmi les souches les plus fréquemment isolées chez les patients hospitalisés, elles sont souvent responsables d'infections urinaires, pulmonaires, de septicémies mais également d'autres infections intra-abdominales (**Baba Ahmed et al., 2014**).

1.1 Habitat et pouvoir pathogènes :

a) Habitat :

Les entérobactéries sont des bactéries ubiquitaires avec un habitat très large : eau douce, sol, végétaux, animaux (insectes jusqu'à l'homme) et peuvent contaminer des denrées alimentaires. Certaines espèces sont responsables de diarrhées et/ou d'infection opportunistes (infection urinaires, infection respiratoires, surinfections des plaies, septicémies, méningites).

b) Virulence :

- **Capsule** : elle est de nature polysaccharidique, rend la phagocytose plus difficile et inhibe l'action du complément.
- **Adhésines** : elles peuvent induire une adhésion aux globules rouges ou à des cellules épithéliales. La plupart des adhésines se présentent sous forme de fimbriae.
- **Résistance** : Certaines entérobactéries sont naturellement résistantes aux β -lactamines par la production de divers β -lactamase. Les entérobactéries peuvent acquérir une résistance aux antibiotiques à large spectre (Abdelmalek et Lezzar, 2016).

1.2 Paroi des entérobactéries :

Les entérobactéries sont des BGN et possèdent donc une paroi dont la structure en trois couches est particulière à ces bactéries. Cette paroi est constituée de l'extérieur vers l'intérieur : d'une membrane externe, d'une couche mince de peptidoglycane et d'un espace périplasmique qui entoure la membrane cytoplasmique (**Figure 03**).

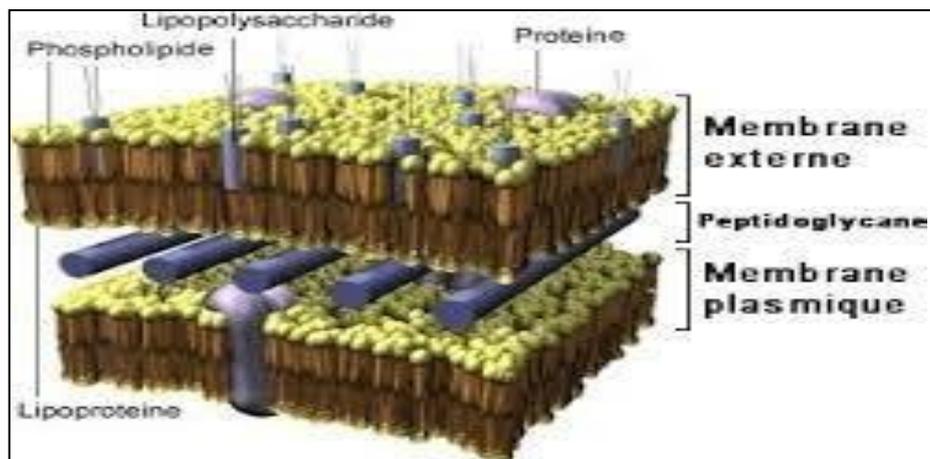


Figure 03 : Structure de la paroi des bactéries à Gram négatif (Bouazza et Bouakka, 2016).

1.3 Caractères cultureux :

Les entérobactéries se développent rapidement in vitro sur des milieux ordinaires. La température optimale de croissance est 37°C, mais la culture est possible entre 20° et 40°C. Leur temps de division varie de 20 à 40 minutes. Pour la plupart des espèces, les colonies formées après 18-24 heures d'incubation à 35-37 °C sont bombées, rondes et régulières, leur surface est lisse et brillante, il s'agit des formes S « Smooth » (Joly et Reynaud, 2002).

1.4 Caractères biochimiques :

Le tableau ci-dessous résume les caractères d'identification des genres des entérobactéries le plus fréquemment rencontrés (**Bouazza et Bouakka, 2016**).

Tableau 03 : Caractères biochimiques de quelques entérobactéries.

	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
Glu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lac	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
Cit	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mob	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
H2S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

Glu : Glucose. **Lac** : Lactose. **ONPG** : Orthonitrophénol-bêta-galactosidase.

VP : Voges-Proskauer. **Cit** : Citrate. **Mob** : Mobilité. **H2S** : Sulfure d'hydrogène.

1.5 Caractères antigéniques :

Les entérobactéries possèdent différents antigènes :

a) L'antigène de Kunitz : c'est un antigène commun dénommé ECA (pour Enterobacterial Common Antigen). Il n'existe que chez les entérobactéries et, de ce fait, a un intérêt taxonomique. Sa présence chez les *Yersinia* a permis d'inclure ce genre dans la famille des entérobactéries.

b) Les antigènes O ou somatiques : ces antigènes correspondent aux polysaccharides fixés sur les LPS. Ils sont thermostables et résistent à l'alcool.

c) L'antigène R : il correspond au polysaccharide du core central, auto agglutinables dans l'eau physiologique, plus sensibles aux substances bactéricides du sérum, plus facilement phagocytés et donc moins pathogènes.

d) Les antigènes H ou flagellaires : ils n'existent que chez les souches mobiles, constitués de protéine spécifique dénommée flagelline. Ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool.

e) Les antigènes de surface : ils comprennent :

- **Les antigènes K ou capsulaires** : ils sont de nature polysaccharidique. Lors d'un sérotypage, chez les *Escherichia coli*, les *Shigella* ou chez certaines *Salmonella* et *Citrobacter* (alors appelés Vi), ces antigènes masquent l'agglutination par les anticorps anti O qui peut être restituée après chauffage de la souche car ils sont détruits par ébullition.
- **Les antigènes d'adhérence ou adhésines** : ils sont de nature protéique, portés par des pili communs (encore appelés fimbriae) (**Bouazza et Bouakka, 2016**).

2. Les genres d'entérobactérie :

2.1. *Escherichia coli* :

Escherichia coli, isolée par Escherich en 1885, est l'espèce type du genre *Escherichia* qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est un Bacille à Gram négatif, assez grand ($1-1.5 \times 2-6 \mu\text{m}$), aéro-anaérobie facultatif, oxydase négatif, nitrate positif et qui fermente le glucose (**Farmer et al., 2007**). Les principaux caractères distincts de *E.coli* vis à vis les autres entérobactéries sont : la fermentation du lactose, la production d'une β -galactosidase, la production d'indole à partir du tryptophane, l'absence d'uréase et l'absence d'utilisation du citrate (Simmons) comme source d'énergie et de carbone.

Concernant l'habitat, on trouve *Escherichia coli* en abondance dans la flore commensale, en particulier dans le tube digestif. Par ailleurs, elle est très répandue dans l'environnement : eau, sols, et dans les aliments (**Baraduc et al., 2000**).

Chez l'homme, la colonisation par *E.coli* est précoce, et peut être responsable d'un nombre varié de pathologie. Toutefois, trois types de syndromes majeurs résultent de l'infection par de souches *E.coli* pathogènes : infections urinaires (impliqué dans 80 % des infections urinaires), les infections digestives (diarrhées, infections hépatobiliaires et autres), et les méningites néonatales et septicémies (**Jaureguy, 2009**).

2.2. *Klebsiella* :

Les bactéries du genre *Klebsiella* sont des bacilles à Gram négatif d'un diamètre de 3 à 4 µm, immobiles, capsulées, de dimensions comparables à celles d'*E.coli*. En général ils ont une culture très facile sur tous les milieux usuels. Sur les milieux classiques d'isolement pour entérobactéries (**Sougakoff et Trystam, 2003**).

Elles sont très répandues dans la nature (ubiquiste) : eaux de surface, eaux usées, effluents industriels, sols, le bois, les végétaux divers, les aliments. Ce sont aussi des commensales du tube digestif des animaux et de l'homme. On peut les rencontrer aussi à l'état commensal sur la peau et les muqueuses, notamment les muqueuses respiratoires (**Euzéby, 2010**). Le portage digestif de *Klebsiella* est plus important chez les malades hospitalisés que dans la population normale. Sur les mains du personnel et sur les objets de l'environnement dans les services hospitaliers, la présence de *Klebsiella* est très fréquente (**Boughachiche et Sebais, 2016**).

Elles sont responsables d'infections urinaires au 2ème rang après *E.coli*, aussi responsables d'infections spontanées dans 25 % des cas, mais surtout d'infections nosocomiales notamment chez des patients hospitalisés, d'infections respiratoires de bactériémies et d'infections neuro-méningés post traumatiques ou post chirurgicales. Les isollements sont beaucoup plus fréquents à l'hôpital, et particulièrement dans les services de réanimation (**Souna, 2011 ; Sekhri, 2011**).

2.3. *Proteus* :

Ont une morphologie des petits bacilles à Gram négatif en forme de bâtonnet, généralement très mobiles, polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1,0 µm à 80 µm de longueur, très flagellé en alternance entre les nageurs végétatives et cellules grouillantes hyper- flagellé (**Hamdouche et Tabai, 2016**). Elle se développe en aéro-anaérobiose. Elle n'a pas d'exigence particulière, elle pousse bien sur milieux ordinaires (c'est une Entérobactérie) à 37°C.

Elles sont largement répandues dans l'environnement naturel, y compris l'eau polluée, le sol et le fumier, on les rencontre aussi dans la viande putride, des abcès. Elles sont pour la plupart des habitants de voies urinaires de l'homme. (**Hamdouche et Tabai, 2016**).

Proteus mirabilis est une espèce qui provoque une infection urinaire avec une fréquence la plus élevée parmi toutes les espèces de *Proteus*. Elle est impliquée dans les

infections compliquées et les infections chez les patients cathétérisés pendant une longue durée. *Proteus mirabilis* est plus fréquemment isolée à partir des échantillons cliniques. Elle est l'un des principaux agents pathogènes de l'appareil urinaire humain chez les patients hospitalisés. Ces infections urinaires peuvent donner lieu à des bactériémies hautement mortelles et qui sont difficiles à traiter et souvent fatale. Qui peuvent être opportunistes et causer des lésions septiques sur d'autres sites du corps (**Hamdouche et Tabai, 2016**)

2.4. *Enterobacter* :

Les espèces rencontrées en bactériologie médicale sont : *E.cloacae*, *E.aerogenes*, *E.agglomerans*, *E.gergoviae*, *E.sakazakii*, *E.asburiae* et *E.intermedius* (**Avril et al., 1992**). Ce sont des bacilles à Gram négatif, mobile, mesurant 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur (**Hart, 2006 ; Paterson et al., 2001**).

Les *Enterobacter* 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 (**Avril et al., 1992**).

Concernant le pouvoir pathogène, les *E.cloacae* sont des germes qui colonisent souvent les patients hospitalisés et plus particulièrement ceux traités par antibiotiques. Ils ont été associés à des épidémies nosocomiales et sont considérés comme des pathogènes opportunistes (**Hart, 2006 ; Pagotto et al., 2003**). Ils peuvent causer de nombreux types d'infections, y compris abcès cérébraux, pneumonie, méningite, septicémie et infection de plaies, infection des voies urinaires et des infections de la cavité abdominale ou des intestins (**Farmer et al., 2007**).

2.5. *Citrobacter* :

On reconnaît actuellement sept espèces appartenant au genre *Citrobacter* : *C.freundii*, *C.koseri*, *C.farmeri*, *C.youngae*, *C.braakii*, *C.werkmanii*, *C.sedlkaki*. Seules les deux premières espèces sont retrouvées fréquemment en pratique clinique (**Brenner et al., 2005**).

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, 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 % (**Holmes et al., 1998**).

Les *Citrobacter freundii* sont des agents pathogènes nosocomiaux opportunistes rares (Ryan, 2004), 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 (Pepperell *et al.*, 2002). Les infections du système nerveux central (SNC) sont plus courantes chez les nourrissons de moins de 2 mois que chez les enfants plus âgés et les adultes immunodéprimés, cependant, certains cas rares ont été signalés (Lagha, 2015).

2.6. Serratia :

Les espèces du genre *Serratia* sont des bacilles Gram négatif parfois assez fins, dont la longueur est intermédiaire entre celle des *E.coli* et celle des *Proteus*, ce sont des bactéries généralement mobiles. La plupart des espèces produisent un pigment rouge à rose, appelé prodigiosine (Vaaje-Kolstad *et al.*, 2010).

D'une manière générale, les espèces du genre *Serratia* sont isolées des plantes (légumes, champignons, mousses), on les trouve aussi dans le tube digestif de l'homme, des rongeurs, des insectes, ainsi que dans le sol et l'eau. Elles sont capables aussi de se développer sur des aliments tels que le pain, la viande et le lait (Vaaje-Kolstad *et al.*, 2010).

Les espèces de *Serratia* sont des agents pathogènes opportunistes. Elles sont à l'origine d'une multitude d'infections, dont la bactériémie, la pneumonie, les infections liées aux cathéters intraveineux, l'ostéomyélite, l'endocardite, mais elles sont rares. En médecine vétérinaire, *Serratia marcescens* est un agent des mammites chez la vache laitière (Van *et al.*, 2007).



CHAPITRE 3 :
RÉSISTANCE AUX
ANTIBIOTIQUES

1. Les antibiotiques :

Les antibiotiques sont des substances antimicrobiennes d'origine biologique, qui agissent à faible concentration sur les microorganismes en bloquant des étapes métaboliques indispensables à leur survie ou à leur croissance. Ce mode d'action ne se traduit pas forcément par la mort de l'agent infectieux, mais la multiplication en est toujours interrompue. Dans ce cas, l'organisme a le temps d'édifier sa réponse et ce sont les mécanismes de défense qui éliminent le germe. (Michel, 1981).

Les antibiotiques se différencient des antiseptiques par leur mécanismes d'action, ils agissent à un niveau précis des structures bactériennes, dénommé site d'action. L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactéries d'autre part. Pour résumer ces dernières, on peut dire que pour être actif, un antibiotique doit :

- Pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne ;
- Ne pas être inactivé ;
- Être capable de se lier à sa cible.

Ce sont les conditions nécessaires à l'activité antibactérienne. L'antibiotique exercera son action qui pourra être de deux types de modalité :

- Bactériostatique : s'il n'y a qu'une simple inhibition de la croissance bactérienne.
- Bactéricide : s'il y a mort de la bactérie.

Les quatre cibles principales sont :

- **La paroi** : inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (β -lactamines, glycopeptides, fosfomycine) empêchent la réaction de transpeptidation qui est une étape importante dans l'assemblage du peptidoglycane. Ceci entraîne la fragilisation de la paroi cellulaire, notamment chez les Gram positif, les bactéries Gram négatives ont tendance à être moins sensibles à la pénicilline car leurs enveloppes externes empêchent l'antibiotique d'atteindre la couche de peptidoglycane de la cellule.
- **La membrane cytoplasmique** : inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines non actifs sur les Gram +). La polymyxine et la tyrocidine sont tous deux, des antibiotiques polypeptidiques qui altèrent les membranes cellulaires.

- **Le chromosome** : inhibition de la synthèse de l'ADN (quinolones). Les quinolones inhibent l'ADN gyrase et interfèrent ainsi avec la réplication, la réparation et la transcription de l'ADN.
- **Le ribosome** : inhibition de la synthèse protéique (cyclines, aminosides, macrolides). Les antibiotiques antibactériens qui inhibent la synthèse protéique, le font par fixation au ribosome bactérien (Abdelmalek et Lezzar, 2016).

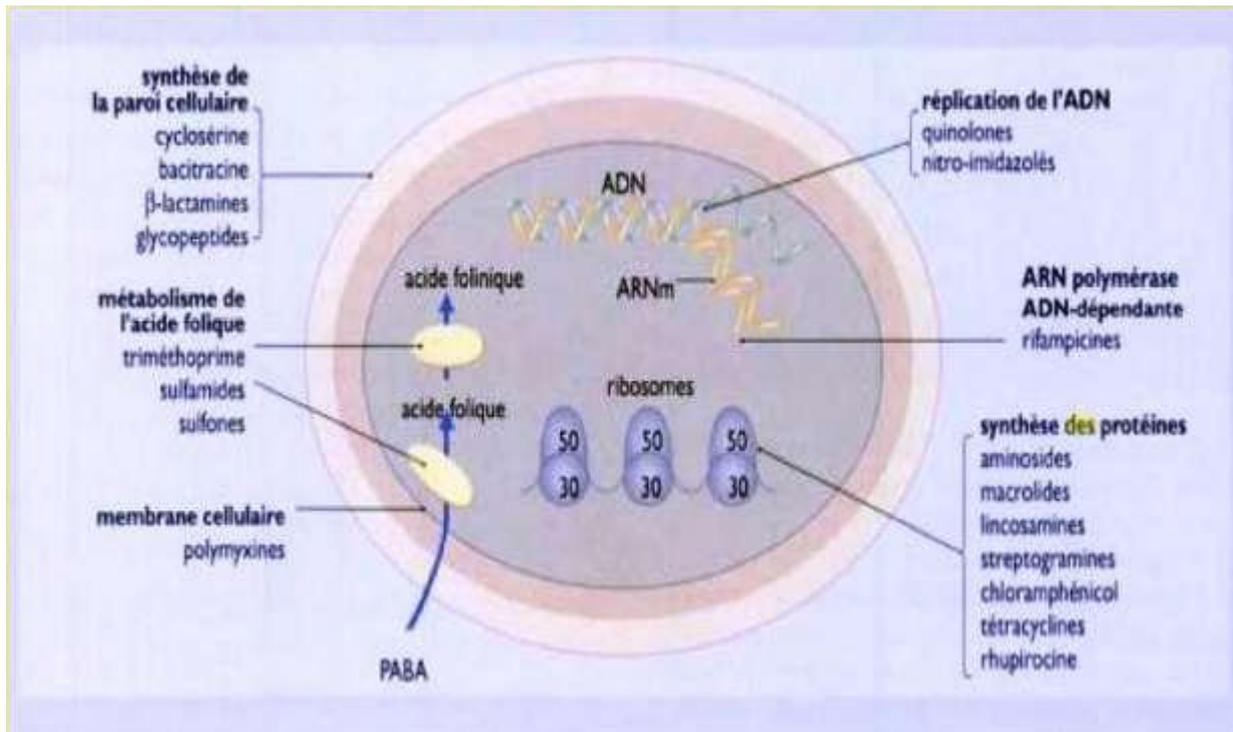


Figure 04 : Site d'action des différents types d'antibiotiques (Batah, 2016).

2. Les β -lactamines :

Ce sont des antibiotiques caractérisés par la présence constante du cycle β -lactame associé à des cycles et des chaînes latérales variables. L'ensemble des β -lactamines forme une large classe d'antibiotiques qui comprend les dérivés de la pénicilline, les céphalosporines, les monobactames, les carbapénèmes et les inhibiteurs de β -lactamases. Ce sont des acides relativement forts et franchissent parfois difficilement les membranes bactériennes (Cattoir, 2004).

Les antibiotiques formant la famille des β -lactamines, sont utilisés pour le traitement d'environ 55 % de toutes les infections bactériennes, en raison de leur grande efficacité et au peu d'effets secondaires qui leur sont attribués (Lagha, 2015).

2.1 Structure :

Les β -lactamines ont en commun une structure appelée l'anneau β -lactame, qui est formée de quatre membres : trois atomes de carbone et un atome d'azote. Cet anneau constitue la portion responsable de l'activité de ces molécules (Fisher *et al.*, 2005).

La structure de base des pénicillines, l'acide 6-aminopénicillanique, est constituée d'un cycle thiazolidine lié au cycle β -lactame. Par contre, les céphalosporines se distinguent chimiquement des pénicillines par le remplacement du cycle thiazolidine par un cycle dihydrothiazine (noyau « céphème ») avec un atome de soufre en position 1. Leur noyau céphème est beaucoup plus stable que le noyau pénème des pénicillines, ce qui permet aux céphalosporines de mieux résister globalement à l'action diverse des β -lactamases bactériennes (Figure 05) (Lagha, 2015).

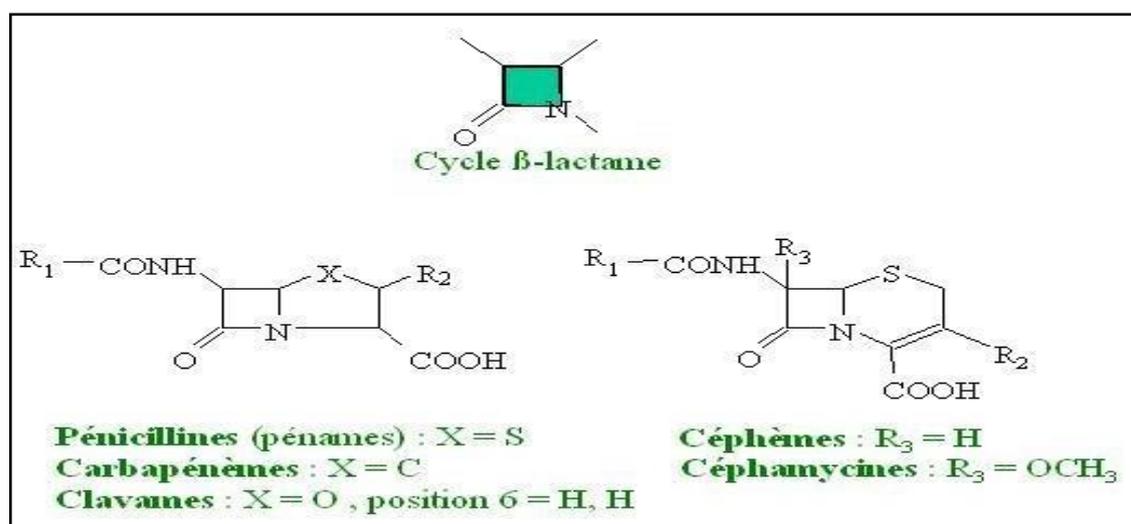


Figure 05 : Structure des bêta-lactamines (Lagha, 2015).

2.2 Classification :

Les β -lactamines sont classées en quatre groupes

a) Pénicillines (noyau pénème) :

Les pénicillines naturelles sont des molécules synthétisées par certains champignons microscopiques de la famille des *Penicillium* (Moussa et Moussaoui, 2016). Trois groupes de pénicillines sont utilisés pénicilline G et pénicilline V dont le spectre est essentiellement limité aux bactéries Gram(+) et à certains anaérobies, les aminopénicillines, dont le spectre est élargi à certaines bactéries Gram (-) (Repertoire commente des médicaments ausag veterinaire., 31 mars 2014, www.cbipvet.be.)

b) Céphalosporines (noyau céphème) :

Elles sont produites par un mycète du genre *Cephalosporium*. Ces β -lactamines sont toutes à large spectre et leur intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif (**Lagha, 2015**).

c) Les carbapénèmes (noyau pénème) :

Qui sont les plus efficaces actuellement, exemples : imipénème, méropénème (**Cavallo et al., 2004**). Ils sont très actifs sur un grand nombre d'espèces bactériennes à Gram (+) et à Gram (-). L'imipénème est résistant à la plupart des β -lactamases, y compris les β -lactamases à spectre élargi. De très rares souches d'entérobactéries sont apparues capables de dégrader l'imipénème ont été décrites (**Lagha, 2015**). Ils sont utilisés en première ligne au cours du traitement initial des infections nosocomiales sévères (**Wolff et al., 2008**).

d) Les monobactames (noyau azétidine) :

Représentés par l'aztréonam, sont inactifs sur les bactéries Gram (+) et les anaérobies. Par contre, ils sont très actifs sur les entérobactéries et sur *Pseudomonas aeruginosa* (**Lagha, 2015**). Ils constituent une alternative de choix pour le traitement des infections graves aux bactéries Gram (-) chez les patients allergiques aux autres types de β -lactamines ou ne pouvant recevoir d'aminoglycosides (par exemple, les insuffisants rénaux) (**Chemelle, 2010**).

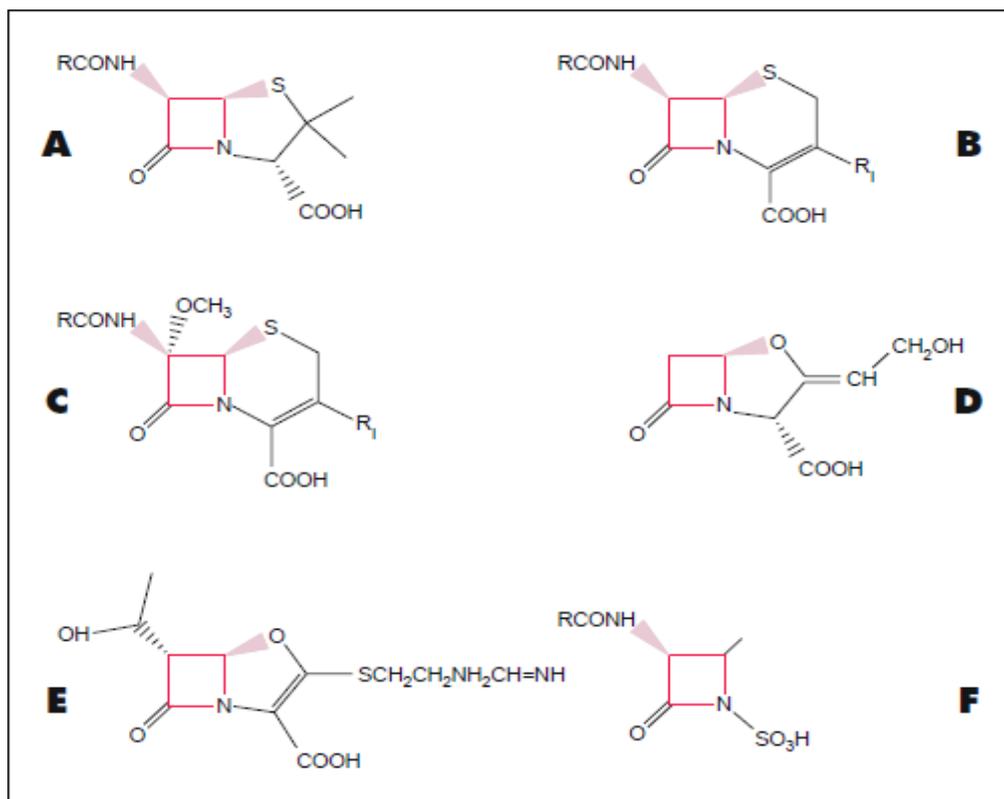


Figure 06 : Structures de quelques β -lactamines (Lagha, 2015).

A : Pénicillines. B : Céphalosporines. C : Céphamycines. D : acide Clavulanique.

E : Imipénème (Carbapénème). F : Monobactames.

3. Résistance aux antibiotiques :

Les antibiotiques constituent un important groupe de médicaments pour la médecine, par rapport à leurs propriétés de lutter contre les infections humaines dues aux bactéries pathogènes (Emmanuel, 2011). Le succès fulgurant des premiers traitements anti-infectieux a fait considérer un peu hâtivement le problème des maladies infectieuses comme définitivement réglé. Mais, rapidement, l'enthousiasme a décliné avec l'apparition des premières résistances des bactéries aux antibiotiques. À chaque nouvel antibiotique introduit en thérapeutique, les bactéries ont su s'adapter et résister plus ou moins vite (Ploy *et al.*, 2005). Ces résistances peuvent avoir un spectre étroit, limité à un ou quelques antibiotiques de structure voisine (Walsh, 2000).

De manière générale, les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux antibiotiques : il peut s'agir de troubles de perméabilité pour les antibiotiques, de systèmes d'efflux qui permettent d'évacuer les antibiotiques ou de

modification de la cible bactérienne de l'antibiotique. Mais le plus fréquemment, il s'agit d'enzymes détruisant les bêtalactamines ; les bêta-lactamases (**Pitout et Laupland, 2008**).

3.1 Définition :

Une souche est dite résistante à un antibiotique lorsqu'elle supporte une concentration plus élevée que celle qui inhibe le développement des autres souches de la même espèce (**Benmedakhen et al., 2016**).

3.2 Type de résistances bactériennes :

➤ Résistance naturelle :

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle est due à la présence de gènes chromosomiques communs à toutes les bactéries d'une même espèce et transmise à la descendance. La résistance naturelle détermine les phénotypes « Sauvages » des espèces bactériennes vis-à-vis les antibiotiques (**Mayer et al., 2000**).

➤ Résistance acquise :

Ce type de résistance (représente 90%) n'apparaît que chez quelques souches d'une espèce donnée naturellement sensible à un antibiotique. Elle résulte de la modification de son patrimoine génétique soit par mutation chromosomique, soit par acquisition de gènes portés par des plasmides ou des transposons qui rendent la bactérie insensible à l'antibiotique. (**Benmedakhen et al., 2016**).

4. Mécanismes de résistance aux β -lactamines :

Les entérobactéries peuvent résister aux β -lactamines selon différents mécanismes :

4.1 Imperméabilité :

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux molécules hydrophobes et de masse moléculaire élevée (pénicillines G, V et M). Des résistances acquises dues à une diminution de perméabilité de la paroi ont été rapportées chez *Ecoli*, *Klebsiella*, *Proteus* et *Enterobacter* suite à une altération quantitative ou qualitative des porines (**Ramoul, 2013**).

4.2 Système d'efflux :

L'exportation active est un mécanisme de résistance de certaines bactéries aux antibiotiques grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux. Chez les bactéries à Gram (-), les systèmes d'efflux sont souvent des complexes protéiques ternaires avec une pompe transmembranaire, une protéine périplasmique de jonction et une porine de la membrane externe (Yang *et al.*, 2009 ; Cattoir, 2004).

4.3 Modification des PLP :

Les PLP sont des cibles physiologiques des β -lactamines. Chez les entérobactéries, des souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipénème ont été observées suite à une perte d'affinité de la PLP2 et une diminution de la quantité de la PLP. Ce mécanisme de résistance est très rare chez les entérobactéries (Faure, 2009).

4.4 Production de β -lactamases :

Chez les entérobactéries, la production de β -lactamases est le mécanisme prédominant de résistance aux β -lactamines (Livermore, 2003).

5. β -lactamases :

5.1 Définition :

Les β -lactamases sont des enzymes bactériennes capables d'inactiver de nombreuses β -lactamines par ouverture du cycle bêta-lactame. Elles hydrolysent la liaison amide du cycle β -lactame pour donner un acyl-enzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (figure 07). L'hydrolyse irréversible du noyau β -lactame entraîne alors l'inactivation de l'antibiotique et la perte totale de son activité antibactérienne. Les β -lactamases sont la cause la plus fréquente de résistance chez les bactéries à Gram (-). Les gènes de résistance de ces enzymes se situent soit au niveau du chromosome bactérien, soit sur des éléments extra-chromosomiques (Moussa et Moussaoui, 2016).

La présence de ce type de mécanisme de résistance au sein de souches pathogènes fait peser un risque majeur d'inadéquation thérapeutique et donc d'échec thérapeutique et également un facteur de diffusion (Schwaber et Carmeli, 2007).

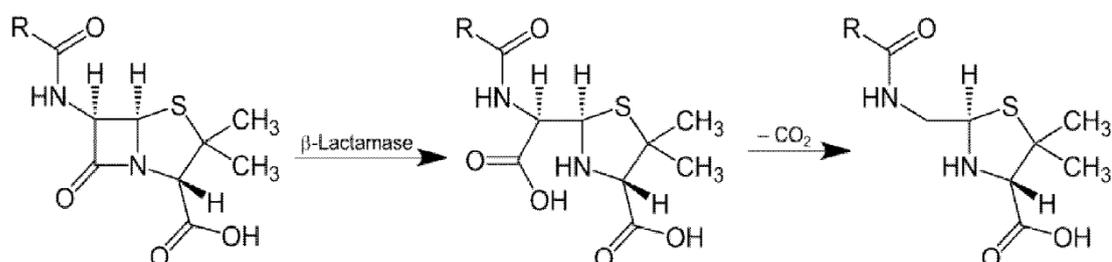


Figure 07 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β-lactame (Moussa et Moussaoui, 2016).

5.2 Classification :

Les β-lactamases sont classées suivant plusieurs propositions, deux d'entre elles sont actuellement utilisées : la classification structurale proposée par Ambler et la classification fonctionnelle de Bush (Doi *et al.*, 2004).

a) Classification d'Ambler :

Initialement proposée par Ambler (Ambler, 1980), cette classification repose sur la similarité des séquences entre les différents membres des β-lactamases. De plus, elle reflète les relations fondamentales de chaque β-lactamase et ne change pas à cause des mutations. Cette nomenclature se compose de quatre groupes, soit les β-lactamases de classe A, B, C et D. Les enzymes de classe A, C et D sont dites à sérine active tandis que celles de classe B sont appelées métallo-β-lactamases (carbapénèmases) (Jacoby et Munoz-Price, 2005).

- **Classe A :**

Les β-lactamases de classe A, d'origine chromosomique ou plasmidique, se caractérisent par leur capacité à hydrolyser l'amide cyclique lié à la molécule de β-lactame. (Lagha, 2015)

Les principaux représentants de ce groupe sont les β-lactamases du type TEM, SHV et récemment le type CTX-M (Doi *et al.*, 2004).

- **Classe B :**

Les β-lactamases de classe B sont des métallo-β-lactamases et utilisent un ion de zinc (Zn²⁺) comme cofacteur permettant ainsi la décomposition de l'anneau β-lactame (Ambler, 1980 ; Bando *et al.*, 1991). Ces enzymes ont émergés depuis une dizaine d'années, d'abord chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, puis ensuite chez les entérobactéries et d'autres bacilles Gram (-). L'importance clinique des métallo-bêta-

lactamases est liée au fait qu'elles hydrolysent les carbapénèmes, composés qui échappent à l'activité des bêta-lactamases à sérine active. La plupart des métallo-bêta-lactamases hydrolysent une variété de pénicillines et de céphalosporines, et sont insensibles aux inhibiteurs suicides classiques (**Bebrone, 2007**).

- **Classe C :**

Les β -lactamases de classe C, ont longtemps été ubiquitaires aux chromosomes de différentes espèces bactériennes entériques. Dans cette classe, on retrouve les céphalosporinases Amp C qui sont codées par des gènes qui étaient primitivement situés sur le chromosome de nombreuses bactéries à Gram (-). Ces enzymes sont résistantes à l'acide clavulanique. Au départ à médiation chromosomique, les β -lactamases de la classe C sont aussi, aujourd'hui, à médiation plasmidique (**Philippon et al., 2002**).

- **Classe D :**

Elle regroupe les β -lactamases qui hydrolysent les isoxazolylpénicillines comme la cloxacilline et l'oxacilline. Ces dernières sont réfractaires à l'hydrolyse par les autres classes de β -lactamases et possèdent une certaine activité inhibitrice. On les appelle des oxacillinasés et sont représentées par les β -lactamases du type OXA. Ces enzymes sont plus ou moins résistantes à l'action de l'acide clavulanique, mais sont bien inhibées par le tazobactame (**Moussa et Moussaoui, 2016**).

b) Classification de Bush-Jacobi-Medeiros :

Établie selon les propriétés fonctionnelles de l'enzyme définies par son substrat préférentiel et son profil d'hydrolyse, dans laquelle les auteurs divisent ces enzymes en quatre groupes (1 à 4) avec plusieurs sous-groupes. Cette classification phénotypique de β -lactamases pose un certain problème puisque différentes mutations ponctuelles peuvent influencer leur susceptibilité à ces substrats et inhibiteurs (**Lagha, 2015**).

6. β -lactamases à spectre étendu (BLSE) :

6.1 Définition :

Le terme BLSE a été proposé pour la première fois en 1988 pour distinguer les β -lactamases plasmidiques donnant la résistance aux céphalosporines à large spectre d'où le nom « β -lactamases à large spectre » (**Bouazza et Bouakka, 2016**). Les BLSE engendrent une résistance à l'ensemble des β -lactamines à l'exception des céphamycines et des

carbapénèmes. Elles sont inhibées in vitro par l'acide clavulanique. Le plus souvent, elles sont d'origine plasmidique à rapidité de diffusion et d'évolution.

Les BLSE sont définies comme des enzymes appartenant à la classe A ou D de la classification d'Ambler, capables d'hydrolyser les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (C1G, C2G, C3G et C4G) et l'aztréonam. Les gènes de structure sont portés par des éléments génétiques mobiles tels que de grands plasmides (100 kb ou plus), intégrons ou transposons. Ces éléments sont transférables entre souches de la même espèce ou entre espèces (**Rodriguez-Villalobos et Sturelens, 2006**).

Les BLSE ont aujourd'hui une répartition mondiale. Leur apparition dans les bactéries à Gram (-) et leur dissémination coïncident avec l'utilisation d'antibiotiques à large spectre tels que les céphalosporines et les quinolones. Les bactéries productrices de BLSE peuvent occasionner des infections hospitalières et communautaires.

1. Actuellement plus de 400 BLSE naturelles ont été décrites ; elles ont été classées en 11 familles différentes sur la base de leur séquence d'acides aminés : TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES, TLA, BES, SFO, FEC et OXA (**Bouazza et Bouakka, 2016**).

6.2 Différents types de BLSE :

a) BLSE de type TEM (Temoneira - nom du patient)

Les BLSE de types TEM dérivent de TEM-1 et TEM-2 par substitution d'un ou de plusieurs acides aminés (**Bush et al., 1995**). De nombreux dérivés de TEM-1/2 (>150) ont été décrits à ce jour. Bien que fréquemment retrouvées chez *E.coli* et *K.pneumoniae*, les BLSE de type TEM ont aussi été rapportées parmi les autres membres de la famille des entérobactéries ainsi que *P.aeruginosa* (**Faure, 2009 ; Fisher et al., 2005**). La majorité des BLSE de ce type dérivent par mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 ou TEM-2). Les substitutions les plus courantes sont entre un ou plusieurs acides aminés qui peuvent entraîner une importante modification de l'affinité de l'enzyme (**Lagha, 2015**).

Jusqu'à 90% de la résistance à l'ampicilline chez *E.coli* est due à la production de TEM-1, qui est capable d'hydrolyser l'ampicilline, et à un degré moindre l'oxacilline ou la céfalotine (**Doi et al., 2004**).

b) BLSE de type SHV : (Sulphydryl variable)

Les enzymes BLSE de type SHV dérivent par mutations ponctuelles de l'enzyme originale SHV-1, caractérisée par la substitution d'acides aminés (**Lagha, 2015**).

Les BLSE de ce type se retrouvent plus fréquemment mais pas exclusivement, dans le genre *Klebsiella*. La majorité de ces enzymes ont été décrites chez les souches de *K.pneumoniae*, mais peut aussi se trouver chez *Citrobacter freundii*, *E.coli*, *Enterobacter cloacae* et *P.aeruginosa* (**Bradford, 2001**).

c) BLSE de type OXA :

Les BLSE de type OXA (oxacillinase) sont comparativement rares, et ont été trouvés la plupart du temps chez *P.aeruginosa*. Les BLSE de type OXA portent typiquement des mutations multiples, Ces BLSE peuvent être plasmidiques ou chromosomiques (**Poole, 2004**).

d) BLSE de type CTX-M :

Les BLSE de type CTX-M (Céfotaximase-Muenchen) sont les plus fréquentes, mondialement, au sein des entérobactéries après une diffusion rapide depuis le milieu des années 90. Au niveau de leur spectre d'activité, elles hydrolysent préférentiellement le céfotaxime, d'où leur nom de céfotaximase. Certaines d'entre elles ont évolué plus récemment par mutation (ponctuelle ou non). Générant un haut niveau de résistance à la ceftazidime telles les enzymes CTX-M-15, CTXM-16, CTX-M-19, CTX-M-23 ou encore très récemment CTX-M-32 (**Philippon et al., 2006**).

e) Autres types de BLSE :

D'autres BLSE ont une distribution moins large qui sont individualisées en BES-1 (brazilian extended spectrum), GES-1 (Guyana extended spectrum), PER-1 (Pseudomonas extended resistance), SFO-1 (*Serratia fonticola*), TLA-1 (Tlahuicas, tribu mexicaine), et VEB-1 (Vietnam extended spectrum). Enfin, l'OXA-1 qui a une grande activité catalytique pour la cloxacilline, l'oxacilline et la méticilline (**Lagha, 2015**).

6.3 Épidémiologie :

Les BLSE sont retrouvées essentiellement dans la famille des entérobactéries, principalement *Escherichia coli* et *Klebsiella*, plus rarement *Serratia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella* ou des bactéries à Gram négatif non fermentatives comme *Pseudomonas*, *Acinetobacter*.

Depuis la première découverte des bactéries productrices de BLSE, on observe une augmentation du nombre de patients colonisés et du nombre d'infections à ces germes, ainsi qu'une très grande hétérogénéité de ces enzymes avec une nomenclature complexe. Les BLSE type TEM et SHV ont été décrites en premier dans le milieu hospitalier, en particulier chez *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et d'autres entérobactéries.

Indépendamment, en milieu communautaire, ce sont les BLSE type CTX qui sont apparues dans *E. coli*, liées à des infections urinaires. Au cours des dernières années, on a observé une circulation des souches entre les milieux hospitalier et communautaire. Il est clairement établi que le développement et la propagation de BLSE sont liés à l'utilisation des bêta-lactamines, que la colonisation du tube digestif joue un rôle important, mais le mode de transmission n'est pas clairement établi (contact cutané, consommation d'aliments) .

Les souches productrices de BLSE étaient souvent associées à des épidémies nosocomiales. A partir de 1995, de nouvelles BLSE notamment les CTX-M ont émergé de façon rapide chez les entérobactéries. Contrairement aux BLSE de type TEM et SHV, les mécanismes de diffusion de CTX-M semblent plus complexes, mettant en jeu la diffusion des plasmides et/ou d'autres éléments génétiques (Coque *et al.*, 2008).



PARTIE II :
ETUDE
EXPÉRIMENTALE



*MATÉRIEL ET
MÉTHODES*

I. Cadre d'étude et objectif :

Notre étude s'est déroulée durant une période de 01 mois (15 février au 15 mars) au niveau du laboratoire de Microbiologie, Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, Université Cheikh Larbi Tébessi, cette étude a porté sur des patients hospitalisés dans différents services de l'établissement public hospitalier El Aouinat la wilaya de Tébessa, pour évaluer la résistance aux antibiotiques des Entérobactéries isolées des prélèvements urinaires.

II. Matériel :

1. Appareillages :

- ✓ Autoclave 120°C.
- ✓ Balance électrique de précision.
- ✓ Etuve à 37°C.
- ✓ Microscope optique.
- ✓ Plaque chauffante.
- ✓ Réfrigérateur (-20°C à 5°C).

2. Verrerie :

- ✓ Bêchers (1000 ml, 500 ml).
- ✓ Flacons stériles 250 ml.
- ✓ Lames.
- ✓ Pipettes graduées 10ml.
- ✓ Pipettes Pasteur.
- ✓ Tubes à essai.

3. Outils :

- ✓ Mortier.
- ✓ Spatules.
- ✓ Anse de platine.
- ✓ Bec Bunsen.
- ✓ Boîtes de Pétri.
- ✓ Ecouvillons.
- ✓ Pince.
- ✓ Portoirs.
- ✓ Micropipette 1000µl.
- ✓ Micropipette 200µl.

4. Réactifs et autres substances :

- ✓ Colorants de Gram (Violet de Gentiane, Lugol, Fuschine).
- ✓ Ethanol 95%.
- ✓ Disques d'antibiotiques.
- ✓ Eau distillée stérile.
- ✓ Eau physiologique stérile.
- ✓ Huile à immersion.
- ✓ Huile de vaseline stérile.
- ✓ Réactif de Kovacs.
- ✓ Réactif TDA.
- ✓ Réactifs VP1 et VP2.
- ✓ Réactifs nitrate réductase I et II.
- ✓ Poudre de zinc.

5. Milieux de culture :

- ✓ Gélose Mac Conkey (MC).
- ✓ Gélose nutritive (GN).
- ✓ Galerie biochimique miniaturisée API 20 E.
- ✓ Gélose Mueller-Hinton (MH).

III. Méthodologie de travail :

1. Réalisation des prélèvements :

Les prélèvements sont réalisés à partir de patients hospitalisés au niveau des différents services ou à partir des patients internes faisant leurs analyses au niveau du laboratoire de l'hôpital (consultation avec hospitalisation).

Dans tous les cas, les données de chaque patient doivent être fournies par la fiche de renseignement accompagnant l'échantillon, pour les patients hospitalisés, ou sur le registre du labo (ou sur l'ordonnance orientant le patient vers le laboratoire pour les patients externes). Les informations qui doivent être fournies sont : âge, sexe, service, motif de consultation, (patients hospitalisés) antécédents médicaux chirurgicaux, antibiothérapie en cours.

2. Technique de prélèvement des urines :

L'urine doit être recueillie dans un récipient stérile. Après lavage hygiénique des mains et toilette soignée au savon ou antiseptique doux de la région vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme suivi d'un rinçage, éliminer le premier jet (environ les 20 premiers millilitres) d'urines pour ne recueillir dans le récipient stérile que les urines du deuxième jet en prenant soin de ne pas toucher les bords supérieurs du récipient. Le transport au laboratoire doit être effectué dans des conditions adéquates, en respectant la durée et la température (moins de 2 heures et à température ambiante) afin d'éviter une éventuelle contamination qui par la suite gênera l'interprétation. Pour éviter la multiplication bactérienne, la mise en culture doit être adressée rapidement au laboratoire, la durée maximum de conservation de l'échantillon est de 24h à 4°C.

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignements [Nom et prénom du malade, Age et sexe, Service d'hospitalisation, Nature de prélèvements, Date et heure du prélèvement, Antibiothérapie éventuelle (nature et durée), Renseignements cliniques], ensuite le prélèvement subit un enrichissement avec du Bouillon Nutritif.

3. Ensemencement :

Ensemencer (après homogénéisation des urines) à partir de l'échantillon des urines sur gélose Mac conkey, selon la méthode des stries (à l'aide de l'anse de platine).

4. Isolement :

- Après incubation, l'isolement se fait à partir des cultures positives (présente un trouble) l'ensemencement se fait à l'aide de l'anse de platine ou pipette pasteur selon la méthode de stries sur gélose Mac Conkey (MC).

- Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition des colonies.

5. Purification :

- On procède à l'examen macroscopique de la culture à partir des colonies isolées sur MC en se basant sur les caractères cultureux des bactéries (forme de colonie, taille, aspect et la couleur) et examen microscopique par coloration de Gram.

- Repérer les colonies suspectes et les coder sur le revers de la boîte en attribuant deux chiffres pour chaque code par exemple :

(1.1 Colonie type 1 échantillon 1) / (1.2 Colonie type 2 échantillon 1)

Premier chiffre : numéro de l'échantillon. Deuxième chiffre : numéro du type de colonie

Ensuite, procéder directement à la coloration de Gram et sélectionner les bacilles Gram négatifs. La purification se fait en poursuivant le repiquage en faisant des stries éloignées sur le même type de milieu jusqu'à l'obtention d'un isolat pure présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement, dans ce cas procéder à la conservation sur GN inclinée.

6. Conservation :

- A partir de chaque isolat pur, repiquer en stries sur la pente d'une gélose nutritive (GN) inclinée en tube.

- Après incubation à 37°C pendant 24 h, conserver les cultures au réfrigérateur à 4°C.

- Chaque isolat doit être codé selon le code de la colonie à partir de laquelle il a été obtenu, noter sur le tube de conservation : code étudiant, code de l'isolat et la date de conservation.

7. Identification biochimique par galerie API 20E :

a) Principe et description de galerie :

API 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'identification en fin de notice.

La galerie API 20 E comporte 20 micro tubes contenant des substrats déshydratés (**Figure 08**). Les micro tubes 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 de 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 (**Biomerieux**).



Figure 08 : Galerie API20E.

b) Mode opératoire :

➤ Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

➤ Préparation de l'inoculum :

Préparer une suspension bactérienne dense dans 10 ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 h, faite sur GN.

➤ Ensemencement de la galerie :

- Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles d'air.
- Pour les caractères soulignés : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE, ensemercer le tubule par la suspension et la cupule par l'huile de vaseline stérile.
- Pour les caractères encadrés VP, CIT, Gel, ensemercer le tubule et la cupule par la suspension.
- Pour les caractères non encadrés, non soulignés ensemercer uniquement le tubule par la suspension.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18 à 24 heures.

c) Lecture de la galerie :

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (tableau 04).

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

- **Test TDA** : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- **Test IND** : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- **Test VP** : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. 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.
- **Test Glu** : Ajouter une goutte des réactifs NIT 1 et NIT 2 dans le tube GLU. Attendre 2-5 minutes, une coloration rouge indique une réaction positive (NO₂). Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote : ajouter 2-3 mg de poudre de zinc dans la cupule GLU. Après 5 minutes, un tube resté jaune indique une réaction positive à noter sur la fiche des résultats. Si la cupule devient orange-rouge, la réaction est négative, les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le Zn.

Remarque : le test de la recherche de production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de la galerie. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif.

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

- Réincuber la galerie 24 heures (plus ou moins 2 heures) de plus sans rajouter les réactifs.

- Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

Tableau 04 : Lecture de la galerie miniaturisée Api 20E (Biomerieux).

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-Galactosidase	Beta- galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	L-tryptophane	Production d'indole	James/ 2 mn	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2/ 10mn	
			Incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D-mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
Nitrate réductase Tube GLU	Potassium nitrate	Production de NO ₂	NIT1 + NIT2 / 2-3 mn	
			Jaune	Rouge
		Réduction au stade N ₂	Zinc / 5mn	
			Rouge/orangé	Jaune

ONPG: orthonitrophényl-bêta-D-galactopyranoside. **ADH:** arginine dihydrolase. **VP:** Réaction de Voges-Proskauer. **LDC:** lysine décarboxylase. **ODC:** ornithine décarboxylase. **CIT:** Utilisation du citrate. **H₂S:** recherche d'un thiosulfate réductase. **URE:** uréase. **TDA:** Tryptophane désaminase. **IND:** production d'indole. **GEL:** Gélatinase. **GLU:** glucose. **MAN:**

mannitol. **INO:** inositol. **SOR:** D-sorbitol. **RHA:** rhamnose. **SAC:** D-saccharose. **MEL:** melibiose. **AMY:** amygdaline. **ARA:** arabinose.

d) Interprétation et identification :

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres, la réaction de l'oxydase qui constitue le 21ème test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive (**Biomerieux**).

- L'identification a été réalisée à l'aide d'un logiciel d'identification **apiweb TM**.

8. Test de l'antibiogramme :

Étude de la sensibilité aux antibiotiques:

Au cours de notre étude nous avons déterminé la sensibilité des souches d'entérobactéries vis-à-vis de 15 antibiotiques (Tableau 03) appartenant à différentes familles d'antibiotiques par la technique d'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2019 (**CA-SFM, 2019**).

8.1 Définition :

L'antibiogramme est l'examen biologique destiné à mesurer l'interaction entre chacune des molécules antibactériennes utilisables et une souche bactérienne. Le résultat contribue à évaluer la sensibilité de la souche bactérienne examinée ou sa résistance, ce qui signifie que la molécule sera probablement active au sens thérapeutique où le traitement sera un échec : résistant, sensible, intermédiaire (**Doi et al., 2004**).

8.2 Principe :

La méthode des disques consiste à déposer à la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablementensemencée 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 heures, 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 (Delarras, 1998).

8.3 Choix des antibiotiques :

Le choix des antibiotiques utilisés dans cette étude a été fait selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie, 2020 (CA-SFM, 2020). La liste des antibiotiques testés est présentée dans le tableau 05 .

Tableau 05 : Liste des antibiotiques utilisés

Famille	Antibiotique	Sigle	Charge Du disque	Diamètres critiques		
				R (d)	I S (D)	
β- Lac tam ine	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	<17	≥22
	Clavams	Ticarcilline+Acide clavulanique	TTC	75-10 µg	<20	≥23
	Monobactames	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
Ceftazidime		CAZ	30 µg	<19	≥22	
Aminoglycosides	Amikacine	AK	30 µg	<18	≥18	
	Gentamicine	GN	10 µg	<17	≥17	
Fluoroquinolones	Ofloxacine	OF	5 µg	<22	≥24	
	Ciprofloxacine	CIP	5 µg	<22	≥24	
Triméthoprime-sulfamides	Co-Trimoxazole	COT	1,25-23,75 µg	<11	≥14	

8.4 Technique :

➤ **Préparation de la gélose**

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

➤ **Préparation de l'inoculum :**

Préparer une suspension bactérienne (à partir d'une culture jeune de 18 heures), prélever au moins 03 colonies et émulsionner dans 05 ml d'eau physiologique stérile (L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation).

Bien homogénéiser la suspension bactérienne.

➤ **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.
- Écouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions
- Laisser sécher.

➤ **Application des disques et incubation :**

Appliquer les disques à l'aide d'une pince préalablement flambée, en appuyant légèrement. Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement. Une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte, et chaque disque doit être éloigné au minimum de 30 mm des autres. Les disques d'antibiotiques sont répartis sur trois boîtes de Pétri selon la (figure 08).

8.5 Incubation des boîtes de Pétri :

- Les incuber 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 24 h couvercle en bas.

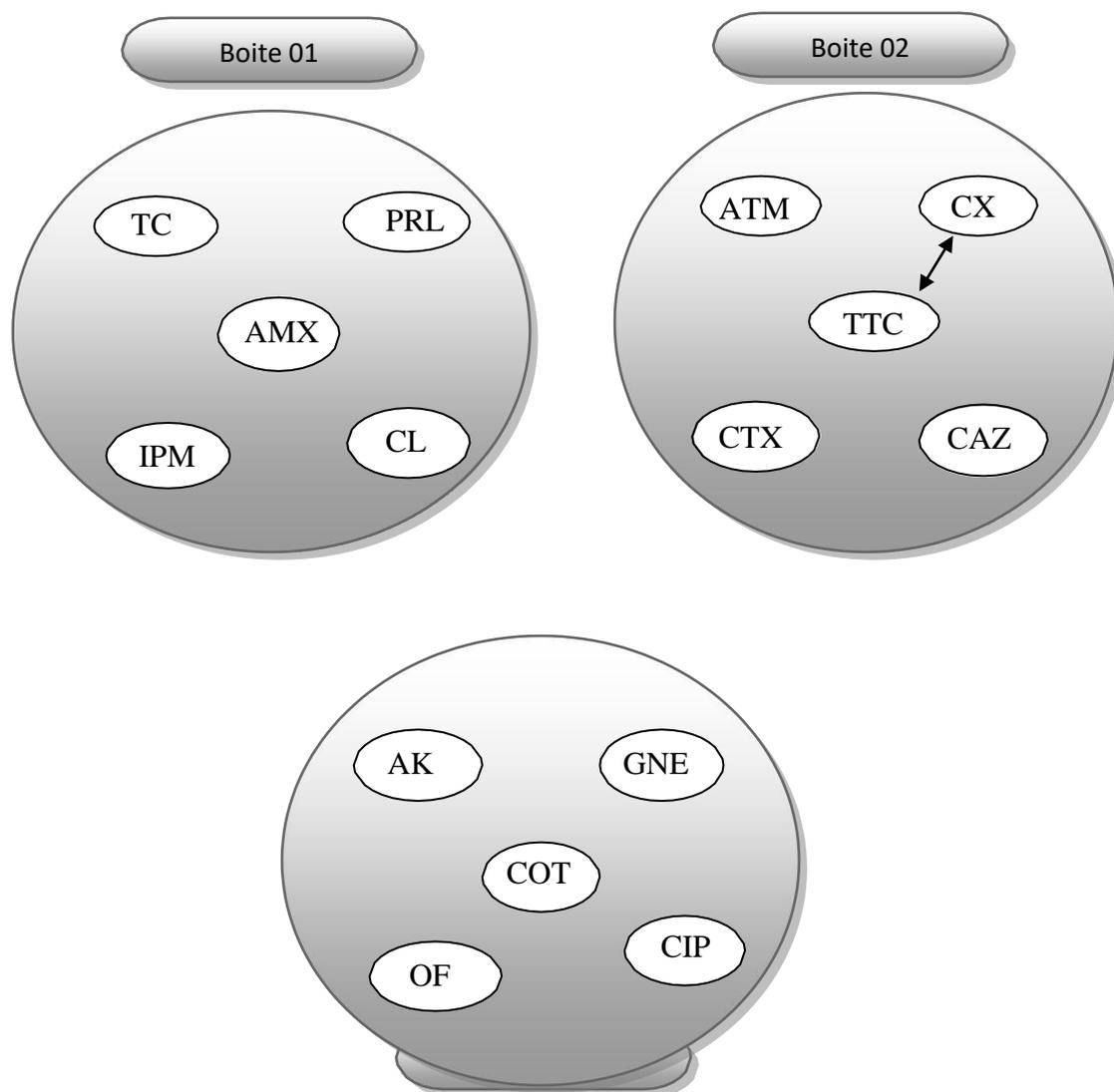


Figure 09 : Schéma explicatif de la disposition des disques d'antibiotiques.

8.6 Lecture et interprétation :

La bordure de la zone d'inhibition doit être lue à l'œil nu et au niveau de la complète inhibition de la culture, la boîte étant placée à 30 cm de l'œil. Mesurer les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche avec une règle ou un pied à coulisse.

Interpréter les diamètres des zones d'inhibition par référence aux tableaux où figurent les diamètres critiques : 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) (CA-SFM, 2019).

9. Recherche d'une BLSE :

La détection de BLSE est réalisée selon deux tests : le test de synergie et le test de double disque.

9.1 Le test de synergie :

a) Principe :

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de B-lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam). Le test consiste donc à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de bêta-lactamase : amoxiciline + acide clavulanique (AMC) et un disque de C3G ou un monobactam (aztréonam) (Rahal, 2005).

b) Technique :

Un inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18 à 24 h. La gélose Muller-Hinton estensemencée par la méthode d'écouvillonnage. Un disque d'amoxiciline/acide clavulanique est placé au centre de la boîte de Pétri distant de 3 cm de disques de céfotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ) et aztréonam (AO) (figure 09). Les boîtes sont incubées pendant 18 h à 37°C (Rahal, 2005).

c) Lecture :

La production des BLSE peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie en « Bouchon de champagne » entre le disque AMC et CTX/ CAZ/ ATM (figure 10).

En l'absence d'une image de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques C3G ou de monobactam. On recherchera donc une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes : CTX = 27 mm, CAZ = 22 mm et ATM = 27 mm. Dans ce cas, il faut pratiquer un test de confirmation de production de BLSE (Rahal., 2005).

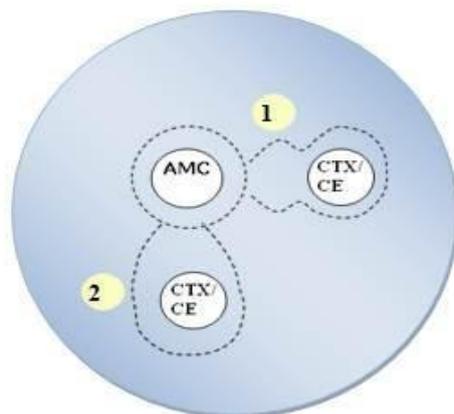


Figure 10 : Description de l'image de synergie.

1 : synergie en entonnoir

2 : synergie en bouchon de champagne.

9.2 Test de double disque :

a) Principe :

Ce test consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de C3G, précédé par l'application d'un disque contenant l'AMC, comparé à un autre disque portant la même céphalosporine et placé côte à côte sur la gélose de Mueller-Hinton (Rahal, 2005).

b) Technique :

- Préparer une suspension à partir d'une culture de 18 ou 24 h.
- Ensemencer la gélose Mueller-Hinton selon la technique de l'antibiogramme.
- Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX) à une distance de 25mm (centre à centre).

- Laisser diffuser les antibiotiques à la température ambiante du laboratoire pendant une heure de temps. - Après une heure d'incubation sur la paillasse, ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de C3G (**figure 11**).
- Incuber pendant 18 heures à 37°C (**Rahal., 2005**).

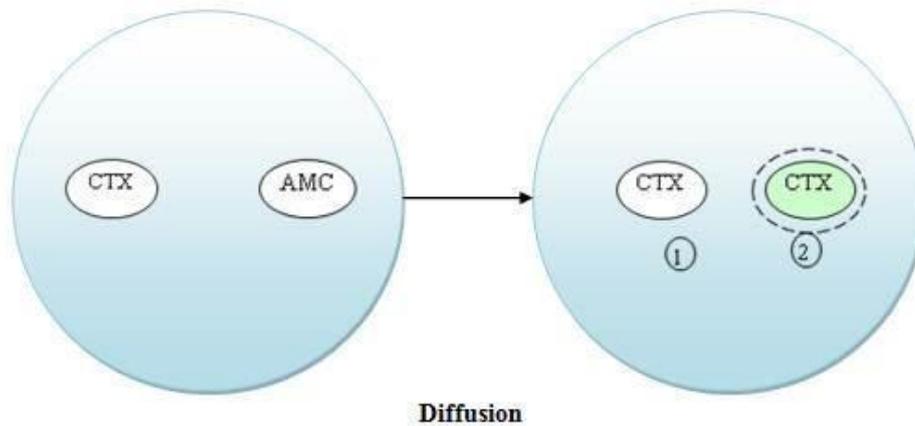


Figure 11: Schéma explicatif du test du double disque.

c) Lecture :

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de C3G appliqué après diffusion du disque AMC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de C3G, ce qui indique une production d'une BLSE (**Rahal, 2005**).



*RÉSULTATS ET
DISCUSSION*

I. Resultats :

1. Isolats bactériens :

Durant la période d'étude allant du 15 janvier au 15 février 2020, 55 prélèvements urinaires ont été collecté à partir de différents services de l'établissement public hospitalier El Eouinat la wilaya de Tébessa. Dans notre travail, on a pu établir que la majorité des infections urinaires sont causé par des entérobactéries, nous avons obtenu 22 isolats.

1.1 Caractéristiques de la population étudiée :

Au cours de notre étude, 55 prélèvements d'urines ont été analysées, 45 sont du sexe féminin et 10 sont du sexe masculin. La catégorie d'âge allant de 15 à 45 ans renferme le plus de patients.

1.2 Répartition des résultats d'ECBU exécutés pendant la durée d'étude :

Tableau 06 : Répartition des résultats d'ECBU

	ECBU positif	ECBU négatif	Contaminé	Total
Effectif	22	30	03	55
Pourcentage	40%	54,55%	5,45	100%

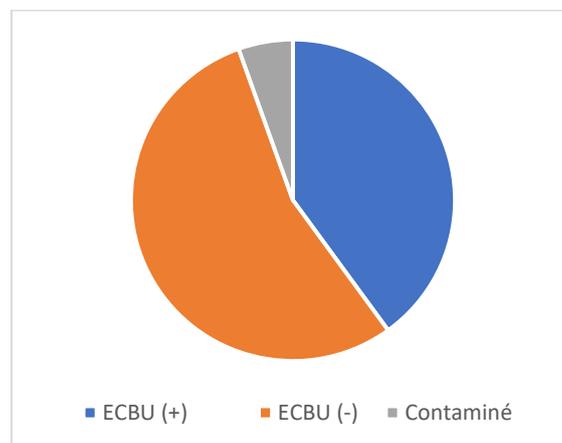


Figure 12 : Répartition des résultats d'ECBU

Durant la période d'étude 55 prélèvements ECBU ont été réalisée dans les différents services de l'EPH EL Eouinat, Tébessa. Parmi ces prélèvements, 40% des cas se sont révélés positifs, 54.5% cas se sont montrés négatifs et 5.5% des cas sont jugés contaminés suite à un mauvais prélèvement ou ensemencement.

1.3 Répartitions des résultats positifs en fonction du sexe :

Tableau 07 : Répartitions des résultats positifs en fonction du sexe

	Femme	Homme
Effectif	15	7
Pourcentage	68%	32%

Nos résultats montrent une prédominance des souches isolées chez les patients du sexe féminin avec 68 % (15/22) contre 32% (7/22) des souches sont isolées chez les patients du sexe masculin. Ceci correspond à un sexe ratio (Femme/ Homme) = 2,14

1.4 Répartition des résultats positive selon la tranche d'âge et le sexe :

Tableau 08 : Répartition des résultats positive selon la tranche d'âge et le sexe

Tranche d'âge	≤ 15			15-45			45-65		
	F	H	T	F	H	T	F	H	T
Effectif	01	02	03	10	04	14	04	01	05
pourcentage	4,45%	9,09%	13,63%	45,45%	18,18%	63,63%	18,18%	4,45%	22,72%

La tranche d'âge la plus touchée est celle des sujets adultes « 15– 45 » ans, avec une légère prédominance féminine (45,45%).

1.5 Répartition des souches isolées selon le service :

Tableau 09 : Répartition des souches isolées selon le service

		Effectif	Pourcentage
Service hospitalier	Chirurgie femme	04	18,18%
	Pédiatrie	02	09,09%
	Réanimation	02	09,09%
	Médecine femme	03	13,63%
	Médecine homme	04	18,18%
	GHR	07	31,81%
Total		22	100%

Les résultats ont montré que certains services hospitaliers sont apparus plus concernés par la présence des malades infectés, notamment les services GHR, Chirurgie femme et

médecine homme d'où revenaient respectivement de 31% et 18%, suivi par le service de médecine femme avec un taux de 13%.

2. Aspects macroscopiques des isolats :

Les isolats bactériens ont montré divers aspects culturaux, en fonction du milieu de culture utilisé (Mac conkey et gélose nutritive) permettant de suspecter leur appartenance à un groupe bactérien ou à un autre (entérobactéries, *Pseudomonas* ou autre).

Aspect macroscopique	La figure
Colonies rose (lactose +), ronde, lisse, bombé, brillanté, forme régulier de 01 mm de diamètre.	
Colonie rose (lactose+), ronde, bombé, muqueuse , forme régulier de 0,1 à 0,5 mm de diamètre.	
Colonie rouge, ronde, matte, aplatis, forme irrégulier de 1 à 2 mm de diamètre.	

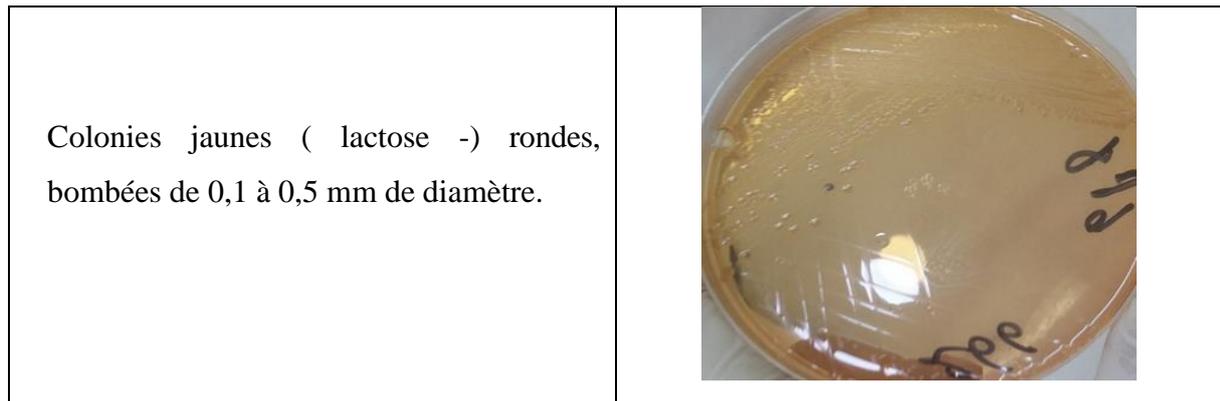


Figure 13 : Aspect macroscopique de quelques isolats

3. Aspects microscopiques des isolats :

Dans notre étude seulement 22 échantillons ont donné des cultures de BGN. Après coloration de Gram, l'observation microscopique a montré des bacille Gram négatif courts ou moyens, isolés ou regroupés en paires ou en courtes chainettes, et des coccobacilles isolés ou regroupés en paires.

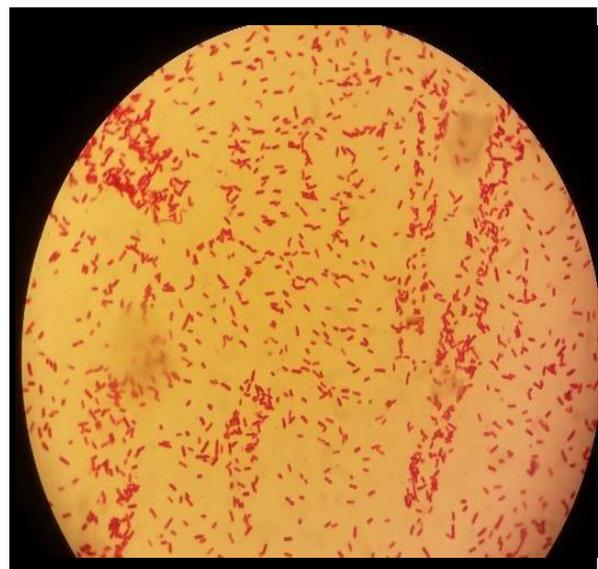
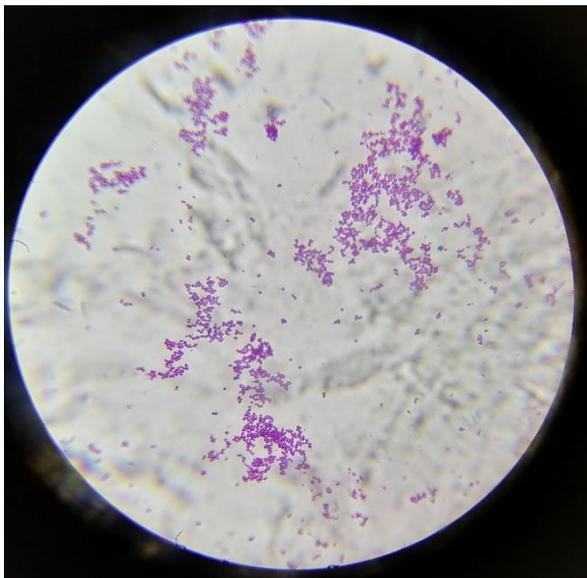


Figure 14/15 : Aspect microscopique de deux souches isolées

4. Identification biochimique :

L'identification biochimique réalisée par la galerie API 20E (figure 05 et 06) a permis d'identifier 22 souches qui appartiennent au groupe des entérobactéries (**Tableau 10**).

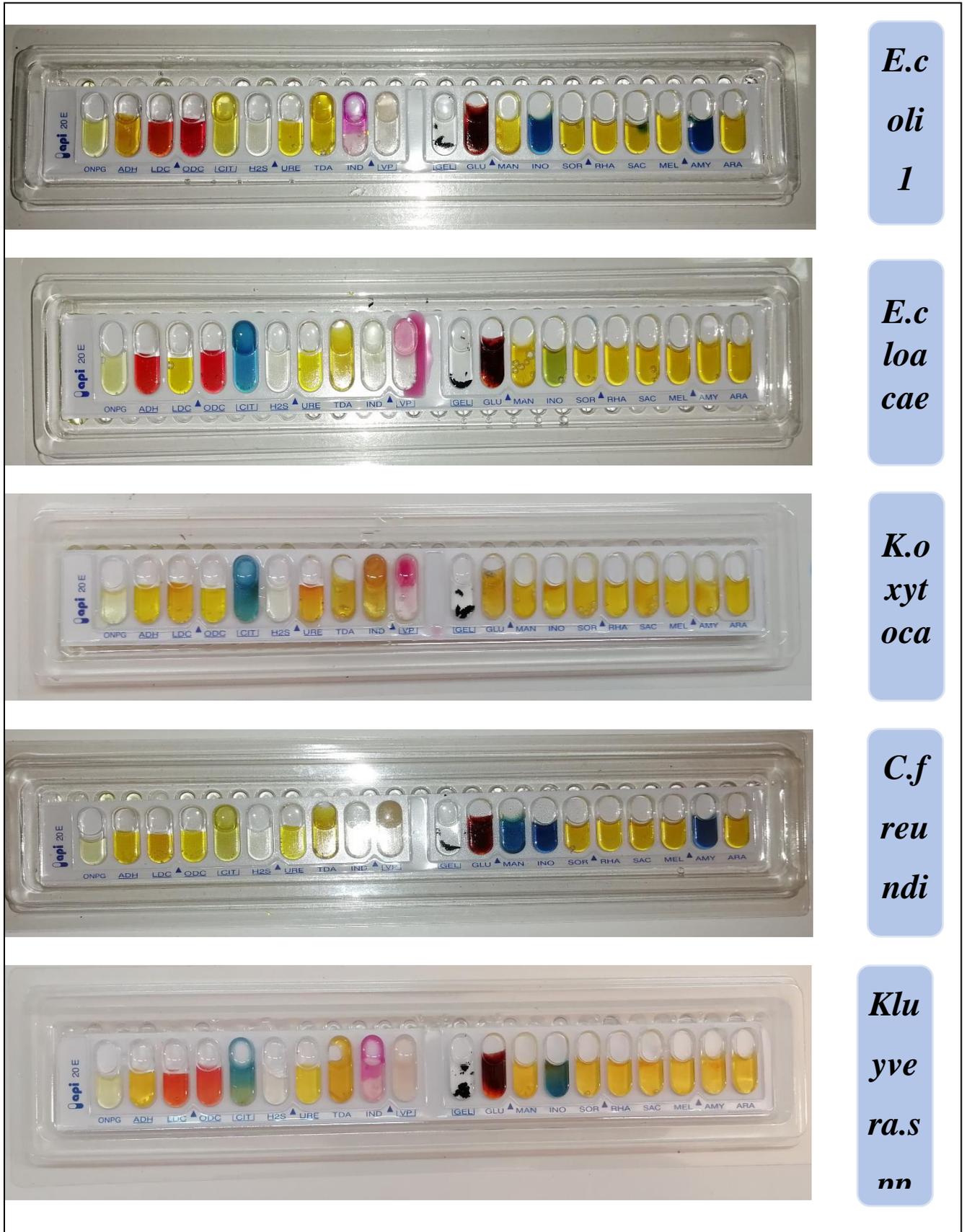


Figure 16 : Quelques résultats de l'identification par la galerie miniaturisée API 20E

Tableau 10 : Les résultats de l'identification des souches par la galerie API 20E

TEST Code d'isolats	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO ₂	N ₂	Espèces
P1	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		<i>Serratia marcescens</i>
P2	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+		<i>E. coli 1</i>
P3	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+		<i>E. coli 1</i>
P4	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		<i>E. coli 1</i>
P5	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
P6	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
P7	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		<i>Citrobacter freundii</i>
P8	+	+	+/-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Klebsiella oxytoca</i>
P9	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		<i>E. coli 1</i>
P10	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		<i>E. coli 1</i>
P11	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		<i>E. coli 1</i>

Résultats et Discussion

P12	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Klebsiella oxytoca</i>
P13	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		<i>E. coli 1</i>
P14	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Serratia fonticola</i>
P15	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		<i>E. coli 1</i>
P16	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+		<i>Proteus mirabilis</i>
P17	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Kluyvera spp</i>
P18	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Klebsiella ornitholytica</i>
P19	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Kluyvera spp</i>
P20	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		<i>Citrobacter koseri</i>
P21	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
P22	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Klebsiella oxytoca</i>

Tableau 11 : Répartition des espèces d'Entérobactéries isolées

Genre	Espèce	Effect if	% de l'espèce	% du genre
<i>E. coli</i>	<i>E. coli 1</i>	08	36.36%	36.36%
<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	03	13.63%	18.17%
	<i>Klebsiella ornitholytica</i>	01	4.54%	
<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	03	13.63%	13.63%
<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	01	4.54%	9.08%
	<i>Citrobacter koseri</i>	01	4.54%	
<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>	01	4.54%	9.08%
	<i>Serratia fonticola</i>	01	4.54%	
<i>Kluyvera</i>	<i>Kluyvera spp</i>	02	9.09%	9.08%
<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	01	4.54%	4.54%

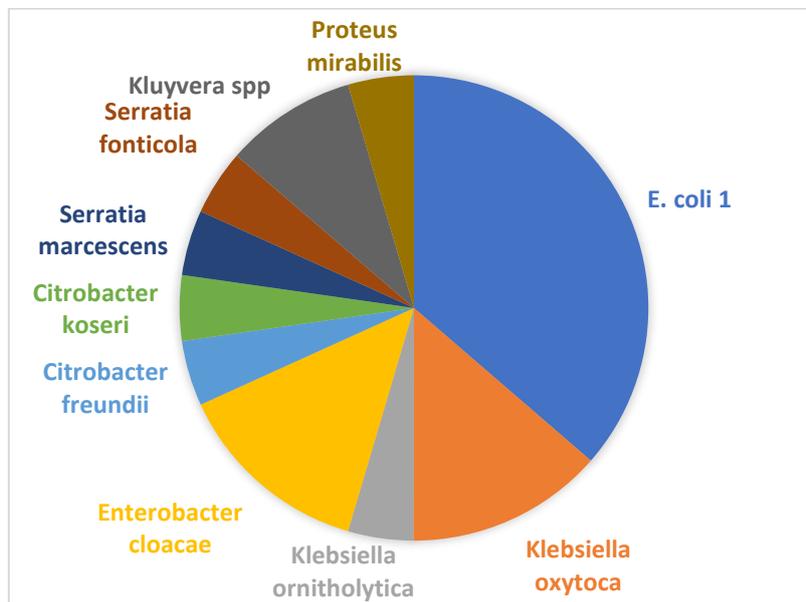


Figure 17 : Répartition des espèces d'Entérobactéries isolées

II. Discussion :

Tout isolat pur donnant des BGN a été retenu pour une éventuelle identification biochimique par la galerie API 20E ,22 entérobactéries ont été identifiées parmi un totale de 22 isolats avec une fréquence d'isolement 100% (22/22). Les bacilles à Gram négatif, dont les entérobactéries restent les bactéries les plus isolées dans les infections, particulièrement dans les pays en voie de développement, dont on fait partie.

L'habitat naturel de la plupart des entérobactéries est le tube digestif, qui reste le pourvoyeur des différentes infections, directement ou indirectement par les mains, les matériels hospitaliers contaminés et par les aliments (**Denton, 2007 ; Sekhsokh et al., 2002**). Toutes les souches isolées dans notre travail sont d'origine des prélèvements urinaire. Une étude réalisée en France en (2000), a montré que (91,1%) des prélèvements communautaires sont des prélèvements urinaires (**Péan et al., 2001**). L'analyse des résultats des tests d'identification des isolats nous a permis de constater que:

- une prédominance d'*Escherichia coli* avec 8 souches (30.36%), suivi de *Enterobacter cloacae* avec 3 souches (13.36%), de *Klebsiella oxytoca* avec 3 souches (13.63), de *Kluyvera spp* avec 2 souches (09.09%).
- Les autres espèces viennent en dernière position avec 1 seule souche chacune et des Pourcentages moindres (4.54%) : *Klebsiella ornitholytica*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Serratia fonticola*, *Citrobacter koseri*.
- *Escherichia coli* vient en première position, c'est un des germes les plus incriminés avec des fréquences d'isolement allant de 65 à 85% (**Ben Abdallah et al., 2005**). On trouve *Escherichia coli* en abondance dans la flore commensale, en particulier dans le tube digestif. Par ailleurs, elle est très répondeuse dans l'environnement : eau, sols, et dans les aliments (**Baraduc et al., 2000**). De plus, l'IU est en général ascendante, et il existe une forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive, et en particulier *E. coli*. A cela s'ajoutent des facteurs spécifiques d'uropathogénicité, *E. coli* possède des adhésines, capables de lier la bactérie à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges viscérales, *Klebsiella* et *Proteus* secrètent une uréase qui alcalinise l'urine, dont le pH naturellement acide empêche la prolifération des germes (**Sekhsokh, 2002**).
- *Enterobacter cloacae* est fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales. C'est une bactérie pathogène opportuniste responsable en milieu hospitalier d'infections urinaires,

de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses (**Iabadene et al., 2009**). Cette espèce est devenue un agent pathogène opportuniste important chez les patients hospitalisés, en particulier chez les nouveau-nés (**Gbaguidi-Haore et al., 2008**). Selon le rapport d'enquête sur la surveillance et le contrôle des pathogènes d'importance épidémiologique (SCOPE) des Etats-Unis, *Enterobacter* spp. (principalement *E. cloacae*) représentaient 3,9% de toutes les bactériémies nosocomiales se classant au huitième rang parmi tous les micro-organismes causant une bactériémie (**Wang et al., 2009**).

- Dans une étude rétrospective sur une période de trois années portant sur 253 patients présentant une infection urinaire à l'hôpital de Rabat, *Klebsiella* spp a été impliquée dans 28% (72/253) de l'ensemble des cas d'infections urinaires recensés. Cependant, *Klebsiella pneumoniae* *Klebsiella oxytoca* ont représenté 86 et 14% de l'ensemble des *Klebsielles* respectivement (**Tlamcani et al., 2009**).

- *Kluyvera* spp est un bacille Gram négative flagellé et mobile, qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est rarement décrite en association avec des infections cliniquement significatives. Au début des années 1980, ce germe était principalement considéré comme un saprophyte bénin colonisant principalement les voies respiratoires, gastro-intestinales ou les voies urinaires (**Juan et al., 2001**).



CONCLUSION

Conclusion et perspectives

La diffusion des entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques (MDR) à l'échelle mondiale constitue une menace de santé publique majeure. Résistantes à au moins trois classes d'antibiotiques, les entérobactéries (MDR) entraînent des infections échappant aux traitements de première intention qui peuvent entraîner de grandes difficultés de prise en charge pour les patients, avec des situations d'impasse thérapeutique.

En Algérie, le problème se pose essentiellement pour les entérobactéries productrices de BLSE qui posent, pratiquement, trois types de problèmes médicaux au monde :

- ✓ Un problème thérapeutique : pour le clinicien qui doit prescrire un antibiotique efficace, éviter les échecs thérapeutiques et la sélection de mutants résistants.
- ✓ Un problème microbiologique : une détection difficile, nécessitant la mise en œuvre de méthodes spécifiques.
- ✓ Un problème épidémiologique : pour les équipes de contrôle de l'infection qui doivent limiter la dissémination des souches multi-résistantes.

Face à cette épidémie qui évolue à bas bruit et constitue une menace majeure pour la santé publique, une mobilisation déterminée et durable de l'ensemble des acteurs impliqués est indispensable.

L'objectif de notre travail consiste à rechercher les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (EBLSE) des prélèvements urinaires collectés à partir des différents services de l'établissement public hospitalier El Eouinat, wilaya de Tébessa.

Durant notre étude nous avons pu identifier 22 espèces d'entérobactéries. Les espèces les plus dominantes appartiennent aux genres *E. coli*, *Klebsiella* et *Enterobacter*.

Malheureusement à cause des circonstances malencontreuses qui sont survenues dans notre pays et dans le monde, c'est à dire la pandémie du COVID-19, nous n'avons pas pu terminer notre étude et donc nous ne pouvons pas établir une conclusion définitive pour notre document.

1. Abdelmalek A, Lezzar A. (2016). Les bactéries du groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* responsables des bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistances aux antibiotiques. Mémoire de Master. Écologie Microbienne. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 56 P.
2. Abderrahim A (2018). Recherche des microorganismes antibio-résistants dans l'environnement hospitalier et impact sur la santé publique. Thèse de doctorat université Badji-Mokhtar. Annaba. 263 P.
3. Ambler R.P. (1980). The structure of β -lactamases. *Phil Trans R Soc Lond Biol Sci.* 16;289 (1036):321-331.
4. Anglaret X et Mortier E. (2003). Maladies infectieuses. Estem (Editions). 3ème édition. 291 P.
5. Arpin C, Dubois V, Coulange L, Andre C, Fischer I, Noury P et al.(2003). Extended-spectrum betalactamase-producing Enterobacteria-ceae in community and private health care centers. *Antimicrob Agents Chemother.* . 47(11): 3506-3514.
6. Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H. Bactériologie clinique. 2ème édition. Ellipses, Paris, 1992, 511 P.
7. Baba Ahmed-Kazi Tani Z. et Arlet G. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *J. Path. Bio.* 62 : 169–178.
8. Baerheim A, Digranes A et Hunskar S. (1999). Are resistance patterns in uropathogens published by microbiological laboratories valid for general practice. *APMIS.* 107(7):676-680.
9. Banacorsi S. (2007). Bactériologie médicale, 2ème édition. Edi MASSON. Paris. 272 P.
10. Bandoh K, Muto Y, Watanabe K, Katoh N and Ueno K. (1991). Biochemical properties and purification of metallo- β -lactamase from *Bacteroides fragilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35(2): 371-372.
11. Baraduc R, Darfeuille-Michaud A, Forestier C, Jallat C, Joly B, and Livrelly D. (2000). *Escherichia coli* et autres *Escherichia*, *Shigella*. Précis de bactériologie clinique. 3ème édition, Editions ESKA: pp 1115-1126.
12. Batah R. (2016). Identification et profil de résistance de *Serratia marcescens* aux antibiotiques. Thèse de doctorat : Microbiologie appliquée. Annaba : Université Badji Mokhtar, 171 P.
13. Bebrone C. (2007). Metallo-beta-lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. *Biochem Pharmacol.* 74: 1686-1701.
14. Bekheira H. (2018). Effet antimicrobien des extraits de *Mentha x piperita* chez *Candida albicans* responsable des infections urogénitales chez les femmes. Mémoire de Master : Biotechnologie et valorisation des plantes. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis, 65 P.
15. 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 université Badji-Mokhtar. Annaba. 162 P.
16. Ben Abdallah H, Sahnoun O, Ben Romdhane F, Loussaief S, Noomen M, Bouzouaia

- N ;et *al.* Profile de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries uropathogènes Isolées dans la région de Monastir. *Rev Tun Infetiol*, 2005, vol. 2, p. 5-8.
17. Benmedakhen A Benzine NEH, Gharbi TE. (2016). Les bactéries responsables de bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistance aux antibiotiques. Obtention du diplôme de docteur en Pharmacie. Constantine : Faculté de médecine département de Pharmacie. 44 P.
 18. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. (2012). Editors: Whitman W, Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo, M, Ludwig, W, Suzuki KI, Parte A. (Eds.). 2083 P.
 19. Bouakkaz H, Boucherbit S. (2017). L'examen cytobactériologique des urines chez l'adulte. Mémoire de Master : Ecologie Microbienne. Constantine : Université des Frères Mentouri, 47P.
 20. Bouarroudj Y et Boutebza F. (2015). Les infections urinaires Mémoire de Master Ecologie: Microbienne. Constantine : Université de Constantine 1, 42 P.
 21. Bouazza S, Bouakka N. (2016). Recherche des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi dans la viande rouge. Mémoire de Master : Microbiologie appliquée à la sante et à l'environnement. Université larbi tebessi, Tébessa : 57 P.
 22. Boughachiche R, Sebais S. (2016). Caractérisation morphologique, biochimique et Mutagénèse des Klebsiella pneumoniae au CHU de Constantine. Mémoire de Master en Génétique Moléculaire. Constantine : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 94 P.
 23. Bousseboua H. (2005). Eléments de microbiologie, 2^{ème} édition, Campus-Club, Algérie, Constantine. 363 P.
 24. Bouvenot C. (2012). Guide du bon usage du médicament, 2^{ème} édition, Edi Lavoisier MSP, Paris. 1273 P.
 25. Bradford P. (2001). Extended-Spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*. 14(4): 933–951.
 26. Brahimi L. (2013). Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires (Place de la Fosfomycine et de la Nitrofurantoin). Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V, 43 P.
 27. Brenner DJ, Farmer JJ, Noel R, Krieg JT. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (The *Proteobacteria*), Part B (The *Gammaproteobacteria*), 2^{ème} Edition vol. 2. Springer Verlag, New York, 2005, 1106 P.
 28. Bush kGA, Jacoby A, Medeciros A. (1995). A functional classification scheme for betalactamaes and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents chemother*. 39(6): 1211–1233.
 29. CA-SFM, 2019.
 30. CA-SFM, 2020.
 31. Cattoir V. (2004). Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathol Biol*. 52(10):607-616.
 32. Cavallo JD, Fabre R, Jehl F, Rapp C and Garrabé E. (2004). Bêta-lactamines. *EMC Maladies infectieuses*. 1(3): 129-202.

33. Chemelle JA. (2010). Etude par modélisation moléculaire de l'effet allergène des antibiotiques de la famille des bêta-lactamines, tant sur le plan immédiat que retardé. Thèse de doctorat. Ecole doctorale: Sciences-santé. Lyon : Université de Lyon. 208 P.
34. Coque T, Baquero F et al., (2008). Increasing prevalence of ESBL-producing enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill*;13.
35. Debabza M. (2015). Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire. Thèse de doctorat université Badji-Mokhtar. Annaba. 259 P.
36. Delarras C., (1998). Microbiologie. 90 heures de Travaux pratiques. Gaëtan Morin, France.276P.
37. Denton F (2007). Inhibitor sensitive AmpC β -lactamase variant produced by an *Escherichia coli* clinical isolate resistant to oxyiminocephalosporins and cephamycins. *Antimicrob Agents Chemother.* 48 : 2652-2658.
38. Doi Y, Wachino JI, Ishiguro M, Kurokawa H, Yamane K, Shibata N, Shibayama K, Yokoyama K, Kato H, Yagi T, Arakawa Y. (2004). Inhibitor sensitive AmpC β -lactamase variant produced by an *Escherichia coli* clinical isolate resistant to oxyiminocephalosporins and cephamycins. *Antimicrob Agents Chemother.* 48 (7): 2652-2658.
39. Ellatifi O. (2011). Place des fluoroquinolones dans le traitement des infections urinaires dans les établissements de santé lorrains. Thèse de doctorat : Pharmacie. Nancy : Université Henri Poincaré-nancy1. 82 P.
40. Emmanuel E. (2011). Évaluation des risques sanitaires et éco toxicologiques lies aux effluents hospitaliers. Thèse de doctorat : science et technique du déchet école doctoral de chimie. LYON. 246 P.
41. Essack SY. (2001). The development of beta-lactam antibiotics in response to the evolution of beta-lactamases. *Pharm Res.* 18 : 1391-1399.
42. Euzéby JP, (2010). List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47(2): 590-592.
43. Farmer JJ, Boatwright KD and Janda JM. (2007). Enterobacteriaceae: Introduction and identification. *Manual of Clinical microbiology.* Washington, DC, USA: ASM press. 9th ed: pp: 649-669.
44. Faure S. (2009). Transfert d'un gène de résistance aux β -lactamines *bla*CTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : Impact d'une antibiothérapie. Thèse de doctorat. Université Rennes. France. 190 P.
45. Fisher JF, Meroueh SO and Mobashery S (2005). Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *Chem Rev.* 105(2):395-424.
46. Foxman B, Barlow R, D'Arcy H, Gillespie B et Sobel JD. (2000). Urinary tract infection: self-reported incidence and associated costs. *Ann Epidemiol.* 10(8) : 509-515.
47. Gbaguidi-Haore H, Talon D, Thouverez M, Menget A, Bertrand X. (2008). Molecular epidemiology of *Enterobacter cloacae* in a neonatal department: a 2-year surveillance study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 27(8): 643-648.

48. Hamdouche C, Tabai A. (2016). *Proteus mirabilis* au niveau CHU Constantine Caractérisation biochimique, microbiologique et la mutagénèse. Mémoire de Master : Génétique Moléculaire. Constantine : Université des Frères Mentouri, 61 P.
49. Hart CA. (2006). *Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter* and *Serratia spp.* Principles and practice of Clinical Bacteriology. England, UK: John Wiley and Sons Ltd. 2nd ed: pp: 377- 386.
50. Holmes B, Aucken HM, Collier L, Balows A, Sussman M. *Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Serratia* and other members of the *Enterobacteriaceae*. In (Eds.), Microbiology and Microbial infections: Systematic Bacteriology 9^{ème} édition. London: Arnold, 1998, pp. 999-1033.
51. Iabadene H, Messai Y, Ammari H et al. Prevalence of plasmid-mediated Ampc β lactamases among *Enterobacteriaceae* in Algiers hospitals. International journal of Antimicrobial Agents, 2009, vol 34, p.340-342.
52. Jacoby GA, et Munoz-Price LS. (2005). The New β -Lactamases. *The new England journal of medicine*. 352(4) : 380-391.
53. Jaureguy F. (2009). Host and bacterial determinants of Escherichia coli extra intestinal infections. *Med Sci*. 25(3): 221-223.
54. Joly B. et Reynaud A. (2002). Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. Ed DOC et Ed médicales Inter Nationales. Paris. 356 P.
55. Juan C, Sarria Ana M, Vidal Robert C, Kimbrough. Infection caused by *Kluyvera* Species in Humans. *Clinical Infectious Diseases*, 2001, vol.33, p.69-74.
56. Kouta K. (2009). Infection urinaire chez les diabétiques adultes. Mémoire de Master : Microbiologie. Ouargla : Université Kasdi-merbah, 76 P.
57. 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. Université Abou bekr Belkaïd Tlemcen. 80,105 P.
58. Lavigne JP. (2007). Effet des antibiotiques, mécanismes de résistance. Thèse de doctorat en Médecine. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes Montpellier. 252 P.
59. 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.
60. Mayer K, Opal, S and Medeiros A. (2000). Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition, Churchill Livingstone. 4320 P.
61. Michel, C. (1981). Utilisation des antibiotiques en pisciculture. *Bulletin Français de Pisciculture*, (280), 125-127.
62. Moussa N et Moussaoui F., (2016). Recherche des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi dans les viandes de volaille. Mémoire de master : microbiologie appliquée à la sante et à l'environnement. Université Chikh larbi Tebessi Tébéssa : 57 P.
63. Oussadi M et Bounneche M. (2010). Isolement et identification des souches du groupes KES au CHU de Constantine et mise en évidence la résistance aux antibiotiques. Mémoire de Master : Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri, 92 P.

64. Pagotto FJ, Nazarowec-White M, Bidawid S and Farber JM. (2003). *Enterobacter sakazakii*: infectivity and enterotoxin production in vitro and in vivo. *J Food Protect.* 66 (3): 370-375.
65. Patterson JE. (2001). Antibiotic utilization: is there an effect on antimicrobial resistance. *Chest.* 119 (2 Suppl): 426S-430S.
66. Péan Y, Goldstein FW et De Bels F. (2001). Évolution de la sensibilité et épidémiologie de la résistance des entérobactéries de ville au cours des enquêtes Vigil'Roc. *Méd Mal Infect.* 31 : 609-621.
67. Pepperell C, Kus JV, Gardam MA, Humar A, and Burrows LL. (2002). Low-Virulence Citrobacter Species Encode Resistance to Multiple Antimicrobials. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46(11): 3555-3560.
68. Philippon A Arlet G. (2006). β -lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel. *Ann Biol Clin.* 64 (1) :37-51.
69. Philippon A, Arlet G., and Jacoby GA. (2002). Plasmid-determined AmpC-type β lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46 (1): 1-11.
70. Pitout D, Laupland B. (2008). Extended-spectrum betalactamase-producing *Enterobacteriaceae*: An emerging public-health concern. *Lancet Infect.* 8(3):159-166.
71. Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L.(2005). Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother.* 56(1):52-59.
72. Ploy M, Gassama A, Chainier A, Denis F. (2005). Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques Integrons: an antibiotic resistance gene capture system. *Immunoanalyse & Biologie Spécialisée.* 20 (6): 343-335.
73. Poole K. (2004). Resistance to β -lactam antibiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 61(17) : 2200-2223.
74. Rahal K., (2005). Standardisation de l'antibiogramme en Médecine Humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 4ème édition. 95p
75. Ramoul A. (2013). Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses. Thèse de doctorat en microbiologie. : Université Badji Mokhtar. Annaba. 175 P.
76. Répertoire commenté des médicaments ausag vétérinaire, 31 mars 2014, www.cbipvet.Be.
77. Rodriguez-Villalobos H, Sturelens MJ. (2006) La résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implication pour le réanimateur. *Réanimation.* 15 (3): 205-213.
78. Ryan KJ. (2004). *Enterobacteriaceae*. Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious diseases. USA: McGraw-Hill. 4th ed: pp : 343-371.
79. Schwaber MJ Carmeli Y. (2007). Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in *Enterobacteriaceae* bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 60 (5): 913-920.
80. Sekhri- Arafa N. (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologique de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis Constantine. Thèse de doctorat. Université de Constantine, pp. 21-23.

81. Sekhsokh Y, Chadli M, El Hamzaoui SA. (2002). Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Médecines et maladies infectieuses*. 38 (6): 324-327.
82. Silveira D. (2009). L'infection urinaire au service anesthésie réanimation du CHU Gabriel Tour. Thèse de doctorat en médecine, Université de Bamako, Bamako. 82 P.
83. Sougakoff, W. Trystam, D. (2003). Résistances aux β -lactamines. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de médecine Pitié-Salpêtrière, 78 P.
84. Souna D. (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Sidi Bel Abbes. Mémoire du Magister en Biologie : Biochimie appliquée. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid. 172 P.
85. Tlamçani Z, Ellaia K, Benomar A, Kabbaj H, Alaoui AE, Seffar M. (2009). La résistance aux fluoroquinolones chez des souches de *Klebsiella spp* productrices de Bétalactamase à spectre étendu isolées dans les urines. 67(5). 553-556.
86. Vaaje-Kolstad G, Westereng B, Horn SJ, Liu Z, Zhai H, Sørlie M, Eijsink VGH. (2010). An Oxidative Enzyme Boosting the Enzymatic Conversion of Recalcitrant Polysaccharides. 330(6001):219-222.
87. Van Houdt R, Givskov M, Michiels CW. (2007). Quorum sensing in *Serratia*. *FEMS Microbiology Reviews*. 31 (4):407-424.
88. Walsh C. (2000). Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*. 406(6797) : 775-781.
89. Wang R, Wu S, Li X, He P, Liu Y. (2009). Detection of AmpC β -lactamase and drug resistance of *Enterobacter cloacae*. *Front. Med. China* 3 (1):72-75.
90. Wolff M, Joly-Guillou ML, Pajot O. (2008). Le point sur les carbapénèmes. Comparative review of carbapenems. *Réanimation*. 17: 242-250.
91. Yang D, Guo Y and Zhang Z. (2009). Combined porin loss and extended spectrum β -lactamase production is associated with an increasing imipenem minimal inhibitory concentration in clinical *Klebsiella pneumoniae* strains. *Curr. microbiol*. 58 (4): 366-370.
92. Zerari Z et Kouadio K. (2014). Les infections nosocomiales : cas de l'infection urinaire. Mémoire de master : Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université de Constantine1, 61 P.



ANNEXES

➤ **Bouillon nutritif :**

Composition :

- L`extrait de viande 3g
- Peptone 5g

Préparation :

➤ **Gélose nutritive**

Composition :

- Extrait de viande 1g
- Extrait de levure 2g
- Peptone 5,0g
- Chlorure de sodium 5,0g
- Agar 15g
- PH 6.8 ± 0.2 à 25°C

Préparation :

Suspendre 28 g dans 1 litre d`eau distillée. Chauffer jusqu`à la dissolution totale. Autoclaver a 121°C pendant 15 min.

➤ **Gélose Mac conkey**

Composition :

- pancreatic Digest of gelatin 17 g
 - Peptone (caséine, viande) 3g
 - Lactose 10g
 - Mélange de sels biliaires 1.5g
 - Chlorure de sodium 5.0
 - Rouge neutre 0.03g
 - Cristal violet 0.001g
 - Agar bacteriologique 13.5g
 - PH final 7.1 ± 0.2 a 25°C
-

Préparation :

Suspendre 50 g dans un litre d'eau distillée. Chauffer jusqu'à la dissolution totale par agitation. Autoclaver a 121 °C pendant 15 min.

➤ **Gélose Muller-Hinton :**

Composition :

- Hydrolysate acide de caséine 17.5 g
- Infusion de viande 2 g
- Amidon soluble 1.5 g
- Agar agar bactériologique 17 g
- PH final 7.3±0.2 a 25 °C.

Préparation :

Mettre en suspension 38 grammes de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. Porter à l'ébullition lentement en agitant jusqu'à dissolution complète. Autoclaver a 115 °C pendant 15 min.

➤ **Colorants et réactifs :**

- Violet de gentiane
 - Fuschine
 - Lugol
 - Alcool
 - Réactif kovacs
 - Réactif TDA
 - Réactif VP 1 et 2
 - Réactif NIT 1 et 2
-