REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Microbiologie appliquée

Par :

BENCHIDI Takia OULD RAMOUL Marwa LAICHI Linda

Thème :

Caractérisation moléculaire des isolats de Pseudomonas sp. Et Proteus sp. des prélèvements cliniques à Médéa.

Soutenue publiquement le : 17 /06 /2023. Devant le jury composé de :

Membre de jury 1 : SALHI Omar	MCA	SNV Blida 1	Président
Membre de jury 2 : AMMAM Imen	Docteur	SNV Blida 1	Examinatrice
Membre de jury 3 : RAHAL Mohamed	MCA	SNV Médéa	Encadreur

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

Au terme de ce travail du mémoire de master, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements à « Allah » Le tout puissant de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

trouve ici l'expression de nos vifs remerciements pour avoir bien voulu juger ce modeste travail.

A notre encadreur de Mr. Rahal. M vous nous avez guidés tout au long de notre travail en nous apportant vos précieux et pertinents conseils. Nous vous remercions pour votre patience et votre soutien lors de la réalisation de ce travail.

A tous les laboratoires qui nous aidée durant la période de collection des souches

Afin de n'oublier personne, nos vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui nous ont aidés à la réalisation de ce modeste mémoire.

Dédicaces

Tout d'abord je tiens à remercier mon dieu, le tout puissant de m'avoir aidé à arriver au bout de mes études et réaliser ce modeste travail que je dédie: Mes très chers parents :

Mon père Mahfoud, ma mère : Amina Khelil Cherfi *: Ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos Sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement.*

A mes frères Oussama, Mahdi et Yacine et ma sœur Hadil *: merci pour le soutien et pour l'amour que vous me réservent que dieu vous protège et illumine vos chemins*

A Mr le promoteur : Rahal Mohamed *: mes remerciements pour vous pour accepté de diriger ce travail, pour ton aide, tes encouragements, tes précieux conseils, ta confiance, ta patience,... tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

Mes chères trinôme Marwa et Linda : *je suis très contente, fière d'être parmi eaux dans cette réalisation je vous souhaite plus de succès et de brillance dans votre vie.*

Mes chères amis : Marwa, Feriel et Zahra *: je ne peux pas imaginer ma vie sans votre présence merci d'êtres à mes côtés merci d'êtres mes sœurs, merci pour le soutien moral et les meilleures jours que nous avons passés ensemble tout au long de notre parcours scolaire. Je vous aime très fort.*

Takia

Dédicaces

C'est grâce à Dieu « الله », le tout puissant qui m'a donné le courage et la volonté pour achever ce modeste travail que je dédie :

A ma chère mère

Ma douce et tendre maman. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Que dieu te donne longue vie et te protège pour moi.

A mon cher père

Tes conseils m'ont suivi et m'ont permis d'atteindre le bout du chemin. Sois fier de moi aujourd'hui et vois à travers ce travail mon amour sincère et ma gratitude profonde.

A ma très chère sœur : Hiba que j'aime tant pour leur petit mot et leur soutien.

A mes chères frères : Bassem et Karim pour toute l'affection qu'ils m'ont donné et pour leurs encouragements.

A ma chère cousine Sara qui a été à mes côtés tous au long de ce travaille

En particulier à Jimi merci pour tous les souvenirs pendant les cinq ans ensemble.

Lynda

Dédicaces

Grâce à dieu tout puissant, je dédie

ce modeste travail

a *mes chers parents : mon père Hassan et ma chère maman Fadhila Chandareli*

Pour leur encouragement et leur amour ils sont l'origine de tous ce que j'ai accomplis de bien

Mes remerciement a mes frères Mohamed et Yousef mes sœurs Yasmine et Amina

***A** toute ma famille, mes cousines*

Sans exception a mon trinôme Takia et Linda

Je vous souhaite plus de succès dans votre vie

Mes remerciements à ma chère Amie Zahra et à tous ceux qui ont participé de loin ou de près à ce travail.

Je tiens à exprimer un merci spécial à ma meilleure amie Takia. Tu as été un soutien précieux tout au long de ce parcours, et je suis reconnaissant de t'avoir à mes côtés.

Marwa

Résumé

Proteus spp et *Pseudomonas spp, sont* des bactéries opportunistes tellement agressives à l'origine de plupart des infections humaines et animales.

Notre étude a focalise sur l'étude des souches préalablement identifiées par des méthodes biochimiques .16 souche de *Proteus spp* et 11 souche de *Pseudomonas spp* ont été collectés à la fois à partir des infections nosocomiales et communautaires à Médéa , sur lesquels un antibiogramme a été déjà réalisé. Par la suite, l'ADN a été extrait en utilisant un protocole chimique, afin de testé le portage des gènes de résistance notamment bla TEM-1 et tet(A), CITM chez les *Proteus spp* et bla TEM-1, dfrA1, CmlA ,tet(A) chez les souches de *Pseudomonas spp.*

Les résultats de cette études chez les *Proteus spp* indiquent un taux d'antibio-sensibilité trés élevé pour les IPM, CTX et AMC entre 43.75% et 75% et faible pour AMX (12.5%) , une domination de AK(87.5%), GNS & CIP(68.75%)et faible pour les autres ATB entre 12.5 et 38%. alors que pour les souche *Pseudomonas spp* une domination de sensibilité pour les béta-lactamines telle que IPM et TCC et (36% et 63%) et taux de 18% pour les CAZ et une haute sensibilité a tous les autre antibiotiques.

Cepandant ,d'après l'identification moléculaire de la présence des gènes de résistance par PCR standard ,les souches de *Proteus spp* montrent un taux de 56.25% de positivité pour le gène blaTEM-1 suivi par 12.5% pour le gène CITM et aucune souche n'a été porteuse de gène tet (A) alors que pour les *Pseudomonas spp* le dfrA1 a été le gène le plus observé avec un prévalence de 47.3% suivi par un taux de 25% de gène CmlA ,blaTEM-1 25%, et aucune souche de *Psudomonas spp* été porteuse de gène tet(A). Cette Etude nous a montré l'émergence des résistances vis-à-vis amoxicilline chez les souches de *Proteus spp* et colistine chez les *pseudomonas spp*. Avec une domination de certain clade avec une diversité génétique avec 63.63% pour *Proteus spp* et 54.54% pour *Pseudomonas spp,* certain sont considéré comme des clades émergeantes se qui circule dans la population de la wilaya de Médéa.

Mots-clés : *Proteus spp* , *Pseudomonas spp* , Médéa , PCR ,Résistance , antibiotiques.

Abstract

Proteus spp and *Pseudomonas spp*, are opportunistic bacteria so aggressive are the cause of most human and animal infections.

Our study focused on the study of strains previously identified by biochemical methods.16 *Proteus spp* strain and 11 *Pseudomonas spp* strain were collected from both nosocomial and community infections in Médéa, on which an Antibiogram has already been performed. Subsequently, the DNA was extracted using a chemical protocol, in order to test the carriage of resistance genes including bla TEM-1 and tet(A), CITM in *Proteus spp* and bla TEM-1, dfrA1, CmlA, tet(A) in strains of *Pseudomonas spp*. The results of this study in *Proteus spp* indicate a very high rate of antibiotic sensitivity for IPM, CTX and AMC between 43.75% and 75% and low for AMX (12.5%), a dominance of AK(87.5%), GN&CIP (68.75%) and and low for other ATBs between 12.5 and 38%. while for *Pseudomonas spp* strains a dominance of sensitivity for beta-lactam such as IPM and TCC (36% and 63%) and rate of 18% for CAZ and high sensitivity to all other antibiotics. However, according to molecular identification of the presence of resistance genes by standard PCR, *Proteus spp* strains show a rate of 56.25% positivity for the blaTEM-1 gene followed by 12.5% for the CITM gene and no strain was a carrier of the tet(A) gene while for *Pseudomonas spp* dfrA1 was the most observed gene with a prevalence of 47.3% followed by a rate of 25% of gene CmlA, blaTEM-1 25%, and no strain of *Psudomonas spp* was a carrier of the tet(A) gene.

This study showed us the emergence of resistance to amoxicillin in strains of *Proteus spp* and colistin for the *Pseudomonas spp*. With a dominance of certain clade with a genetic spill with 63.63% for *Proteus spp* and 54.54% for *Pseudomonas spp*, some are considered as emerging clades that circle in the population of the city of Medea.

Keywords: *Proteus spp* , *Psudomonas spp* , Médéa , PCR , Resistance , antibiotics.

ملخص:

Pseudomonas spp و *Proteus spp* ، هي بكتيريا انتهازية عدوانية للغاية , وهي معظم الإصابات البشرية والحيوانية. ركزت دراستنا على دراسة السلالات التي تم تحديدها سابقا بالطرق الكيميائية الحيوية. تم جمع 16سلالة من و 11 *Pseudomonas spp* من عدوى المستشفيات وعدوى المجتمع في المدية والتي تم إجراء مضاد حيوي عليها بالفعل. تم استخراج الحمض النووي باستخدام بروتوكول كيميائي ، من أجل اختبار نقل *Proteus spp* سلالة جينات المقاومة بما في ذلك

في Tet (A)، CmlA ، dfrA1 ، bla TEM-1 و *proteus spp* في CITM، Tet (a) و bla TEM-1

*pseudomonas spp*تشير نتائج هذه الدراسة إلى معدل مرتفع جدا من حساسية المضادات الحيوية ل

AMCو CTX و IPMبين43.75%و75%ومنخفض ل AMX % 5 .12

و هيمنة % -68.75% CIP و GNS و87.5) AK بينما بالنسبة لل*pseudomonas spp*غلبة الحساسية لبيتا لاكتلم 87.5

وحساسية عالية لجميع المضادات الحيوية الأخرى. ومع ذلك CAZ و (36٪ و 63٪) ومعدل 18٪ ل CBT و IPM مثل *proteus spp* المتسلسل القياسي ، تظهر سلالات PCR، وفقا للتحديد الجزيئي لوجود جينات المقاومة بواسطة تفاعل Tet (A) ولم تحمل أي سلالة جين CITM متبوعا بنسبة 12.5٪ لجين blaTEM-1 معدل إيجابية بنسبة 56.25٪ لجين Cmla ، كان الجين الأكثر ملاحظة مع انتشار 47.3٪ يليه معدل 25٪ من الجين spp dfr1 بينما بالنسبة للزائفة هذه في هذه الدراسة. أظهرت لنا Tet (A) حاملة لجين psudomonas spp ٪ ، ولم تكن سلالات25 blaTEM-1 مع هيمنة بعض .*pseudomonas spp* colistin و *proteus spp*الدراسة ظهور مقاومة للأموكسيسيلين في سلالات ، يعتبر البعض من *pseudomonas spp* و 54.54 ٪ ل *proteus spp* مع انسكاب وراثي مع 63.63 ٪ ل clade الفصائل الناشئة التي تدور في السكان ولاية المدية.

الكلمات المفتاحية : بروتيوس , بسودوموناس , المدية , تفاعل البوليميراز المتسلسل, مقاومة , مضادات حيوية .

Table des Matières

Introduction : 1

Généralites sur *Proteus spp* et *Pseudomonas spp* 4

I. Proteus spp 4

I.1. Historique : 4
I. 2. Classification : 4
I.3. Habitat : 4
I.4. Pouvoir pathogène chez l'homme : 5
I.5. Caractères bactériologiques de *Proteus spp* 5
I.5.1. Caractères morphologique du *Proteus spp:* 5
I.5.2. Caractères culturaux : 6
I.5.3. Caractères biochimiques du *Proteus spp :* 6
I.5.4. Caractères Antigéniques: 7

II. *Pseudomonas spp :* 7

II.1. Historique ……. 7
II.2. Classification ….. 7
II.3. Habitat …….. ..... …….7
II 4. Pouvoir pathogène : 8
II.5. Caractères bactériologiques de *Pseudomonas spp* : 8
II. 5.1. Caractères morphologique du *Pseudomonas spp:* 8
II.5.2. Caractère culturaux 9
II.5.3.Caractères biochimiques du *pseudomonas spp :* 10
II.5.4. Ccaractères antigéniques de *Pseudomonas spp :* 11

III. Techniques du prelevements : 11

III.1. Prélèvement de l'urine 11

III.1.1. Conditions de conservation et de transport des urines : 11

III.2. Prélèvement de PUS : 11

III.2.1. Conditions de conservation et de transport de pus : 12

III.3. Prélèvement de LCR : 12

III.3.1. Conditions de conservation et de transport des LCR : 12

IV. Methodologie de diagnostic : 12

IV.1. Étude cytobactériologique des urines analyser : ECBU 13
IV.1.1. Macroscopique : 13
IV.1.2. Etude microscopique: 13
IV.1.2.1. Cytologie : 13
IV.1.2.2. Analyse quantitative : 13
IV.1.2.3. Analyse qualitatif : 13
IV.1.2.4. Mise en culture et isolement : 14

IV.2. Etude cytobacteriologique de PUS : 14

IV.2.1. Etude macroscopique : 14
IV.2.2. Examen direct : 14
IV.2.3. Etude microscopique: 14
IV.2.3.1. Cytologie: 14
IV.2.3.2. Mise en culture et isolement : 15

IV.3. Etude Cytobacteriologique des LCR : 15

IV.3.1.Etude macroscopique: 15
IV.3.2. Examen direct : 15
IV.3.3.Etude microscopique: 15
IV.3.3.1. Cytologie: 15
IV.3.3.2. Mise en culture et isolement: 16

I. Technique d'antibiogramme : 18

II. Generalite sur les antibiotiques: 18

II.1. Les bêta-lactamines :..... 18
II.2. Les classifications des bêta-lactamines : 19
II.3. Mécanisme d'action :..... 20
II.4. Spectre d'activités :..... 20
II.5. Effets secondaires:..... 20

III. Beta-lactamines a spectre élargie (BLSE) :..... 21

III.1. Définition de(BLSE) 21
III.2. Les différents types de β-lactamases *à* spectre élargi*:* 21
III.3. Les bactéries productrices :..... 23
III.4. Spectre d'action :..... 24

IV. Le chloramphenicol :..... 25

IV.1. Classifications de chloramphénicol: 25
IV.2. Mécanisme d'action :..... 25
IV.3. Spectre d'activité :..... 25
IV.4. Les effets secondaires :..... 26

V. Les Aminoglycosides 26

V.1. Classification des Aminiglycoside :..... 26
V.2. Mécanisme de résistance :..... 27
V.3. Spectre d'activité :..... 27
V.4. Effet secondaires :..... 27

VI. Les Tetracycline :..... 28

VI.1. Classification de tétracyclines :..... 28
VI.2. Mécanisme de résistance :..... 28
VI.3. Spectre d'activité..... 29

VI.4. Effets secondaires :..... 29

VII. Trimethoprime : 29

VII.1. Classification de Trémithoprime : 30
VII.2. Mécanisme de résistance : 30
VII.3. Spectre d'activité : 30
VII.4. Effets secondaires : 30

VIII. Les quinolones : 31

VIII.1.Classification de quinolones : 31
VIII.2.Mécanisme de résistants : 31
VIII.3.Spectre d'activité : 32
VIII.4.Effets secondaires : 32

IX. Les sulfamides: 32

IX.1. Classification de sulfamides : 33
IX.2. Mécanisme d'action 33
IX.3. Spectre d'activité : 33
IX.4. Effets secondaires : 33

X. La resistance naturelle : 34

XI. La resistance acquis: 35

I. La biologie moleculaire: 38

I.1. Extraction d'ADN : 38

II. Processus impliqué dans la PCR : 40
II.1. Dénaturation Tm : 40
II.2. Hybridation : 40
II.3. Extension: 40

III. Analyse du produit PCR : 41

III.1. Rôle des réactifs utiliser en extraction d'ADN: 41
III.1.1. Milieu LB: 41
III.1.2. Tampon de lyse (lysis buffer): 41
III.1.3. Phénol: 41
III.1.4. Chloroforme: 42
III.1.5. 1Éthanol à 70 %: 42
III.1.6. Éthanol à 100 %: 42

IV. Role des réactifs utilises au PCR : 42

IV.1. Mgcl2: 42
IV.2. Taq polymérase: 42
IV.3. SDS et protéinase k: 42
IV.4. EDTA: 43
IV.5. Tris: 43
IV.4. Tris-cl: 43
IV.5. Tampon Tris-EDTA (TE)/eau stérile: 43
IV.6. Dnase: 43

V. Generalite sur les gènes de résistance: 44

V.1. Beta-lactamases de type TEM : 45
V.2. Bêta-lactamases de type CITM : 46
V.3. Chloramphénicol de type cmlA : 47
V.4. Trimithoprime de type dfrA1: 48
V.5. Tétracycline de type tetA : 48

I. Epidemiologie: 51

I.1. *Proteus spp :* 51

I.1.1. En afrique : 51
I.1.2. En Asie: 52
I.1.3. En Europe : 55

II. *Pseudomonas spp :* 56

II.1. En Afrique : 56
II.2. En Asie : 59
II.1.3. En Europe : 61

Materiel et methode 64

I. Lieu et durée de l'étude..... 64
II. L 'objectif du travail : 64
III. Collection des souches : 64

IV. Preparation des solutions d'extraction d'ADN: 64

IV.1. La préparation du milieu LB : 65
IV.3. La préparation de Tris-CL : 65
1V.4. La préparation de TE : 65
1V.5. La préparation Tampon de lyse : 66
1V.5. Préparation de phénol : 66

V. Protocol d'extraction de l'ADN : 67

VI. PCR standard : 71

VI.1. Reconstitution et dilution des amorces : 71
VI.2. Préparation du Mix de PCR standard : 72
VI.3. Programme PCR Standard : 72

VII. Électrophorese sur gel d'agarose : 73

VII.1. Préparation de TBE 0.5X : 73
VII 2. Préparation d'un gel d'agarose 1.5% : 73
VII.3. Electrophorèse : 74
VII.4. Visualisation des fragments d'ADN : 74

I. Distribution des souches de *Proteus spp :* 76

I.1. Distribution selon l'âge et le sexe :..... 76
I.2. Distribution selon les résultats de l'antibiogramme : 76
I.3. Distribution selon les résultats obtenus par PCR :..... 78
I.3.1. La recherche des gènes de résistance par PCR :..... 78
I.4. Distribution selon les clades : 79
I.5. Comparaison des résultats phénotypique et génotypique :..... 80

II. Distribution des souches de *Pseudomonas spp :* 82

II.1. Distribution selon l'âge et le sexe :..... 82
II.2. Distribution selon les résultats de l'antibiogramme : 82
II.3. Distribution selon les résultats obtenus par PCR : 84
II.3.1. La recherche des gènes de résistance par PCR :..... 84
II.4. Distribution selon les clades :..... 85
II.5. Comparaison des résultats phénotypique et génotypique :..... 86

Discussion :..... 88

Conclusion..... 95

Liste des figures

Figure 1: Morphologie de *Proteus spp* 5
Figure 2: Morphologie de *Pseudomonas spp* 9
Figure 3: préparation de milieu LB 65
Figure 4: les deux phases de phénol précipité 66
Figure 5: le culot cellulaire après élimination du surnageant 67
Figure 6: la couche blanche 68
Figure 7: ADN génomique extrait 69
Figure 8: schéma d'extraction d'ADN 70
Figure 9: répartition d'age en fonction du sexe chez les *Proteus spp* 76
Figure 10: Pourcentage de résistance et sensibilité de Proteus spp aux béta-lactamines 76
Figure 11: taux de résistance et sensibilité de Proteus spp aux autres antibiotiques 77
Figure 12: pourcentage des gènes de résistances chez les Proteus spp 78
Figure 13: détection du gène TEM-1 chez *Proteus spp* 78
Figure 14: absence du gène tet(A) chez Proteus spp 79
Figure 15: répartition des souches *Proteus spp* 80
Figure 16: répartition d'âge en fonction du sexe chez Pseudomonas spp 82
Figure 17: taux de résistance et la sensibilité de *Pseudomonas spp* aux béta-lactamines 82
Figure 18: taux de résistance et la sensibilité de Pseudomonas spp aux autres antibiotiques. 83
Figure 19: pourcentages des gènes de résistance pour les Pseudomonas spp 84
Figure 20: détection des gènes TEM-1 chez les *Pseudomonas spp* 84
Figure 21: détection du gène CmlA chez les *Pseudomonas spp* 85
Figure 22: répartition des souches *Pseudomonas spp* 86

Liste des tableaux

Tableau 1: principaux caractères métaboliques de *Proteus spp*..... 6
Tableau 2:princépaux caractères métaboliques de *Pseudomonas spp* 10
Tableau 3: classifications des pénicillines 19
Tableau 4: classification des céphalosporines..... 19
Tableau 5: classification des carbapénèmes..... 20
Tableau 6: les types de BLSE 22
Tableau 7: les classes de tétracyclines 28
Tableau 8: les classes de quinolone 31
Tableau 9: les classes de sulfamide..... 33
Tableau 10: la résistance naturelle de *Pseudomonas spp* et *Proteus spp.*..... 34
Tableau 11: la résistance acquise de *Pseudomonas spp*..... 36
Tableau 12: la résistance acquise de *Proteus spp* 36
Tableau 13: les gènes de résistance chez *Proteus spp.* 44
Tableau 14: les gènes de *Pseudomonas.* 44
Tableau 15 : épidémiologie des gènes de résistance TEM-1 de *Proteus* en Afrique..... 51
Tableau 16: épidémiologie des gènes de résistance TEM-1 de *Proteus* en Asie..... 52
Tableau 17: épidémiologie des gènes de résistance tet(A) de Proteus spp en Asie. 53
Tableau 18 : épidémiologie des gènes de résistance CITM de *Proteus* en Asie..... 54
Tableau 19: épidémiologie des gènes de résistance TEM-1 de *Proteus* en Europe..... 55
Tableau 20: épidémiologie des gènes de résistance TEM-1 de *pseudomonas spp* en Afrique. 57
Tableau 21: épidémiologie des gènes de résistance tet(A) de *pseudomonas spp* en Afrique. 58
Tableau 22: épidémiologie des gènes de résistance TEM-1 de *Pseudomonas spp* en Asie.... 59
Tableau 23: épidémiologie des gènes de résistance dfrA1 de *pseudomonas spp* en Asie. 60
Tableau 24: épidémiologie des gènes de résistances TEM-1de *pseudomonas spp* en Europe. 61
Tableau 25 : épidémiologie des gènes de résistance tet(A) de *pseudomonas spp* en Europe. 61
Tableau 26: amorce utilisé pour les recherches des gènes de résistance. 71
Tableau 27: Conditions d'amplification des réactions PCR standard..... 73
Tableau 28: les types de clades chez les *Proteus Spp*..... 79
Tableau 29: Comparaison entre la sensibilité et la résistance phénotypique et génotypique aux β-lactamines de type TEM chez *Proteus spp* 80
Tableau 30: Comparaison entre la sensibilité et la résistance phénotypique et génotypique aux β-lactamines de type TEM chez Proteus spp..... 81
Tableau 31: les types de clades pour *Pseudomonas spp* 85
Tableau 32: Comparaison entre la sensibilité et la résistance phénotypique et génotypique aux β-lactamines de type TEM chez Pseudomonas spp..... 86

List d'abréviations

ADN : Acide désoxyriboNucléique

Ag : Antigène

AK : Amikacine

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique

AMX : Amoxicilline

API : Appareils et procédés d'identification

ARNt : acide Ribonucléique de transfère

ATB : Antibiotique

BGT : bouillon glucosé tamponné CIP : Ciprofloxacine.

BLSE : Bêta- lactamase à spectre Elargi ou Etendu

BMR : bactérie multi-résistante

CAZ : Ceftazidine

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CIP : Ciprofloxacine

C1G : céphalosporine de 1ère génération

C2G : céphalosporine de 2ème génération

C3G : céphalosporine de 3ème génération

CMI : concentration minimal inhibitrices

CS : Colistine.

CX: cefoxitine

CTX : Céfotaxime.

CZ : Céfazoline.

DHFR : dihydrofolate réductase

Dnase : désoxyribonucléase

ECBU : Etude Cytobactériologique des Urines

EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique

FOS : Fosfomycine

GN : gélose nutritif

GN : gentamicine

HpmA : produit cytotoxines haemolysine A

HTIC : Hypertension intracrânienne

H2O2 : Eau oxygénée

H2S : Hydrogène sulfuré

IM : intramusculaire

IMP :imipénème

IUs : infections urinaires

IV : intraveineuse

LCR : Liquide Céphalo-Rachidienne

LB : Lauria Bertani

LPS : Lipopolysacharide

MENA : moyen-orient Afrique de nord

Mgcl2 : Chlorure de magnésium

NET: Nétilmycine

OS : Oligosaccharide central

OSA : Antigène O Spécifique

PBP : pénicilline binding protein

PL : Ponction Lombaire

PTA : *Proteus* toxic agglutinin

p.mirabilis *:proteus mirabilis*

P.vulgaris *: Proteus vulgaris*

PCR : Polymérase Chain Reaction

R : Résistance

RA: Rifampicine.

ROS : espèces d'oxygène réactives

Rnase : Ribonucléase

S : Sensible

SDS : Sulfate de Sodium

SPP : Species (espèces)

SXT : Sulfaméthoxazole + Triméthoprime

TBE: Tris-Broat-EDTA

TCC :Ticarcilline + ACclavulanique

TE: Tris- EDTA

TIC: Ticarcilline

Tm : Temps de fusion

TMP : Triméthoprime

TOB: Tobramycine

UV : Ultra-violet

UPDs : ulcères de pied diabétiques

µl : micro litre

INTRODUCTION

Introduction :

Les infections nosocomiales et communautaires sont fréquemment connues dans le monde entier et causée des majeurs décès de morbidité et de mortalité chez les patients. En plus que leur coût économique est considérable **(Ducel et al., 2002)**.

En Algérie comme dans tous les autres pays du monde ,ces infections consiste un grand problème sur la santé publique, surtout en milieu hospitalière à la cause de manque d'hygiène et l'absence de respect des mesures préventives **(Boulahouat & Ouamer, 2020)**.

Les bactéries sont l'origine de la plupart des infections et parmi les on trouve les *Proteus spp* et *Pseudomonas spp.* Ces bactéries sont des pathogènes opportunistes **(El-Tarabili et al., 2022)** tellement agressives pour l'homme , Les estimations de la prévalence de ces bactéries varient selon les régions géographiques, mais des études ont montré que leur incidence est en Augmentation dans de nombreux pays. Les isolats de *Proteus spp* sont la troisième bactérie la plus fréquemment isolée chez les patients atteints d'infections urinaires **(Talebi et al., 2023a)** l'espèce *P. mirabilis* cause entre 1 et 10% de toutes les infections des voies urinaires **(Armbruster & Mobley, 2013)** D'après une étude menée à Guelma entre 2007 et 2011 sur les infections urinaires communautaire, *Proteus mirabilis* a été isolé chez 5% des 1343 patients étudiés, ce qui en fait le troisième pathogène le plus courant **(Bentroki et al., 2012),**cependant les *Pseudomonas* , *Pseudomonas aeruginosa* est l'un des pathogènes les plus courants parmi les bactéries **(Pachori et al., 2019)**. En Algérie l'infection à *P. aeroginosa* occupent une place importante des infections nosocomiales avec une fréquence estimée entre 20% et 30% **(Brahmia et al., 2016)**. Dans une étude menée en centre hospitalier universitaire entre 2001 et 2005, *Pseudomonas aeruginosa* était le germe le plus fréquemment isolé, représentant 21,1%des infections nosocomiales **(Atif et al., 2006)**. En Algérie, très peu d'études sont réalisées sur l'évolution de mécanisme de résistance aux antibiotiques chez les *Proteus spp* et *pseudomonas spp* dans le milieu communautaire et hospitalier. Même avec l'émergence des souches de plus en plus multi résistantes et pour cela le risque infectieux a été sous-estimé depuis longtemps .Dans ce contexte l'objectif de ce travail est : d'estimer la prévalence des infections par *Proteus spp* et *Pseudomonas spp* et l'évaluation de l'antibio-sensibilité par des techniques phénotypiques puis mettre en évidence l'appréciation et la caractérisation des souches par la biologie moléculaire vis-à-vis les gènes de résistance.

SYNTHÉS BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE 1 : GÉNÉRALITÉS

Généralités sur *Proteus spp* et *Pseudomonas spp*

I. Proteus spp

I.1. Historique :

Le genre *Proteus* a été découvert à la fin du XIXe siècle(1885) par le pathologiste allemand Gustav Hauser **(Mazumder et al., 2023)**.

Le genre *Proteus* comprend plusieurs espèces, à savoir : *Proteus alimentorum, Proteus cibarius, Proteus columbae, Proteus faecis, Proteus hauseri, Proteus mirabilis, Proteus penneri, Proteus terrae et Proteus vulgaris*. Bien que la majorité des souches cliniques isolées sont *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgari*s **(Njoya et al., 2022)**.

I.2. Classification :

La classification des bactéries de genre *Proteus* a changé au cours du XXe siècle.
Les *Proteus spp* sont des bactéries du genre *Proteus*, appartenant à la classe *Gamma Proteobacteria*, à l'ordre *Entérobactérales* et à la famille des *Enterobacteriaceae* **(O'Hara et al., 2000)**.

I-3. Habitat :

Les micro-organismes du genre *Proteus* sont largement répandus dans l'environnement, et sont isolés dans l'eau de surface, les eaux usées, le sol, sur les légumes et dans la flore putréfiée de la matière organique animale **(Njoya et al., 2022**). Ce sont pour la plupart des habitants des voies urinaires humaines provoquant des infections sous forme de Calculs de la vessie et des reins.**(Armbruster et al., 2018)**.
mais la plupart des espèces qui composent cette famille sont des hôtes normaux ou pathogènes commensaux du tractus digestif chez l'Homme et l'animal **(Jalolitdin & Erkinovich, 2022)**.
On remarque toutefois que *P. mirabilis* est plus fréquemment isolé chez les canidés**(Kwon et al., 2022)**, les bovins et les oiseaux.
Pour ce qui est de *P. vulgaris* est retrouvé chez les porcins et les vertébrés à sang froid.
P. myxofaciens n'a été isolé que chez les adultes et les larves du papillon (*Porthétricadispar*) **(Aouatef et al., 2022)**.

I.4. Pouvoir pathogène chez l'homme :

Proteus spp sont des pathogènes courants responsables d'infections compliquées des voies urinaires (IUs) qui peut parfois entraîner une bactériémie **(Chen et al., 2012)**.et des Endocardites **(Ioannou & Vougiouklakis, 2020)**.

Les calculs vésicaux et rénaux (Urolithiase) ainsi que les lésions rénales permanentes peuvent être des complications des infections urinaires à *Proteus spp* et peuvent évoluer vers une bactériémie et une septicémie qui ont un taux de mortalité élevé, car cette bactérie envahit les cellules épithéliales de la vessie, produit diverses Cytotoxines comme hémolysine A (HpmA) et *Proteus* toxic agglutinin (PTA) **(Sagar, 2022)** qui endommagent l'épithélium, entraînant une histopathologie significative.**(Armbruster et al., 2018)**.

I.5. Caractères bactériologiques de *Proteus spp*

I.5.1. Caractères morphologique du *Proteus spp* :

Proteus spp sont des bactéries en forme de bâtonnets courts (1.5- to 2-µm) qui présentent un dimorphisme sous forme "nageuse" (swimming) ou sous forme de essaimage (swarming) , dans un environnement visqueux ou sur une surface solide, les cellules de *Proteus* subissent une différenciation en des cellules essaimantes filamenteuses, multi-nucléées et hautement flagellées **(Hamilton et al., 2018)**.



Figure 1: Morphologie de *Proteus spp*

(Johnson, 2018)

I.5.2. Caractères culturaux :

La croissance de confluence caractéristique observée sur la gélose solide (ordinaire) comme le GN, facilite l'identification de *Proteus spp* **(Sathiananthamoorthy, 2018)**.

l'Hektoen est un milieu sélectif et différentiel conçu pour isoler et différencier les membres de l'espèce *proteus spp*. Les colonies peuvent ressembler à *Salmonella* sur ce milieu : bleu-vert à bleu ou saumon, la plupart des souches avec un centre noir ou complètement noir **(Sagar, 2022).** peuvent nécessiter une incubation de 37°C **(Gu et al., 2020)**.

I.5.3. Caractères biochimiques du *Proteus spp* :

Les bactéries du genre *Proteus* sont des bactéries aéro-anaérobies peuvent être distinguées facilement des autres entérobactéries par leurs caractéristiques biochimiques, notamment leur capacité à produire de l'Uréase ,une enzyme qui permet de dégrader l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone, ainsi qu'à dégrader la tryptophane en indole et en acide pyruvique.**(Ryan & Ray, 2003)**. Elles sont également oxydase négative et fermentent le glucose. Certaines espèces sont capables de produire du sulfure d'hydrogène (H2S) à partir de l'utilisation de thiosulfate. **(Murray et al., 2012)**.

Tableau 1: principaux caractères métaboliques de *Proteus spp*
(Aouatef et al., 2022) (Schultz-Ascensio, 2018) (O'Hara et al., 2000)

Test/propriétés	*P.mirabilis*	*P.vulgaris*	*P.penneri*	*P.hauseri*	*P.myxofaciens*
Production d'indole	-	+	-	+	-
Ornithine décarboxylase	+	-	-	-	-
Fermentation du Maltose	-	+	+	+	+
Fermentation de la salicine	-	+	-	-	-
Hydrolyse de l'ésculine	-	+	-	-	-
Fermentation du D- Xylose	+	+	+	+	-
Sensibilité au chloramphénicol	S	V	R	S	S

+ : 90-100%positive / **-** : 0-9,9% positive / **S** : sensible/ **R** : résistant / **V** : variable.

I.5.4. Caractères Antigéniques :

Ces bactéries peuvent aussi distingués la base de leur biodiversité par (antigène O), car le stéréotypage ne soit pas inclus dans le diagnostic.

Leur structure chimique de la partie sucre du lipopolysaccharide à un rôle important dans l'adaptation de *Proteus spp*. Certains sérotypes O sont plus répandus et plus fréquemment isolés de sources cliniques que les autres **(Drzewiecka, 2016)**.

II. *Pseudomonas spp* :

II.1. Historique :

Les bactéries ont été découvertes en 1882 par Carle Gessard, un pharmacien militaire Bactériologiste français. Test de décoloration bleu-vert du pus résiduel Le pansement sur la blessure du soldat lui fit reconnaître un soluble Il devient fluorescent dans l'eau lorsqu'il est exposé à la lumière UV. Ses recherches l'ont amené à isoler bactéries pour dériver les propriétés pathogènes de *Pseudomonas aeruginosa* et classer les souches en (1984) **(Biquand, 2018)**

II .2. Classification :

Le genre *Pseudomonas* appartient à la famille des *Pseudomonadaceae*, qui est classée dans l'ordre des *Pseudomonadales*, lui-même faisant partie de la classe des *Gammaproteobacteria* dans la division *Proteobacteria* **(BENABID, 2009).** Sont des bactéries Gram négatif, aérobies strictes **(Liang et al., 2020)**.aussi appelée bacille pyocyanique en raison de sa forme allongée et de la production de pigments bleus et verts par la bactérie :la pyocyanine et la pyoverdine **(Biquand, 2018).**

II.3. Habitat :

P. aeruginosa sont des germes pathogènes opportunistes ubiquitaires présents dans divers milieux environnementaux , ce sont des saprophyte du sol et les milieux aqueux **(Mokhtari, 2017)**.les végétaux sont les principale sources de contamination humaine et animale retrouvée dans le tube digestif , les endroits du revêtement cutané (périnée, creux axillaire), En milieu hospitalier.

P.aeruginosa peut être rencontré dans l'environnement proche du Patient, ce qui entraîne une augmentation de la durée d'hospitalisation **(Bourahla & Haddache, 2016)**.

II. 4. Pouvoir pathogène :

Les *pseudomonas* ne sont pas très virulents pour les individus normaux, elle n'adhère pas à l'épithélium normal intact **(Boulakroune&Maayouf, 2021)**. Mais lorsque les défenses immunitaires des sujets sont affaiblies, elles peuvent devenir une puissante source d'infection modifiée. *Pseudomonas aeruginosa* est un exemple typique de pathogène opportuniste. Les malade sont particulièrement vulnérables les nourrissons, les personnes âgées, les personnes à maladies graves, chroniques, métaboliques (diabète),mais surtout sanguines ou cancéreuses **(Benmerieme & Mehanneche, 2016)**.Les grands brûlés, les patients ensois intensifs ou atteints de la mucoviscidose, **(Boulakroune & Maayouf, 2021)** cette infection est l'une des principales causes de décès.

P.aeruginosa capable d'infecter plusieurs d'hôtes : Humains, souris, insectes, nématodes..etc. **(D'Argenio et al., 2000**). Chez l'homme, causant des maladies uniquement lorsque le système immunitaire fonctionne mal ou maladie préexistante. .*Pseudomonas aeruginosa* colonise spécifiquement l'homme immunodéprimé (leucémies,SIDA,cancéreux) grands brûlés, patients En soins intensifs ou atteints de mucoviscidose. Il est capable de coloniser une variété de tissus. cela implique Bactériémies, infections intestinales et urinaires, dermatites, otites externes, kératite ulcéreuse, ainsi que des infections cutanées, chez les porteurs de lentilles de contact Gravement brûlé, endocardite chez les patients toxicomanes par voie intraveineuse**(Benmerieme & Mehanneche, 2016)**. *Pseudomonas aeruginosa* peut aussi Provoquer une ostéomyélite **(Hatzenbuehler & Pulling, 2011)**.

II.5. Caractères bactériologiques de *Pseudomonas spp* :

II.5.1. Caractères morphologique du Pseudomonas spp:

Pseudomonas est une bactérie hétérotrophe, mobile, Gram-négative en forme de bâtonnet, d'environ 1–5 μm de long et 0,5–1,0 μm de large. C'est un aérobie facultatif qui se développe via la respiration aérobie et la respiration anaérobie.

P. aeruginosa a des rangs de fermentation limités à 37 °C, mais il peut survivre à de larges températures. C'est une bactérie importante du sol qui est capable de décomposer les hydrocarbures aromatiques polycycliques. Les pilis et les flagelles sont importants pour les contractions et la motilité d'essaimage, mais ils jouent également un rôle dans l'infection.

Il a été démontré que les pilis induisent l'adhérence aux cellules épithéliales **(Diggle & Whiteley, 2020)**.

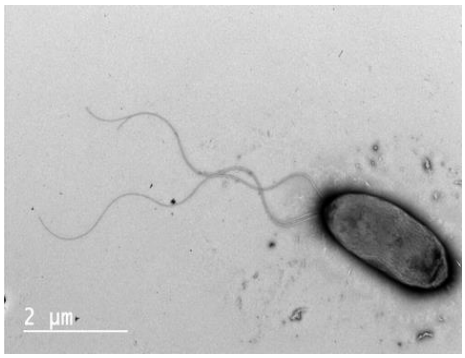


Figure 2: Morphologie de *Pseudomonas spp*

(Jia et al., 2020)

II.5.2. Caractère culturaux :

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie aux besoins très limités .se développe sur les milieux Synthétiques simples. a 37°C, facilement pousser en 24 heures **(Deschaght et al., 2009)**.

Il peut être compris entre 5 et 42°C, la température optimale est de 30°C. En revanche, il tolère de petites variations de pH (6,5 à 7,5), la valeur optimale du pH est de 7,2.

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie aérobie stricte mais compétente Les nitrates sont utilisés dans des conditions anaérobies. Les *Pseudomonas aeruginosa* se caractérise par floral. le milieu sélectif Hektoen permettent Isolement de la bactérie à partir de produits biologiques (urine, pus, fluides) moelle céphalo-rachidienne, sang, etc.). En bactériologie médicale, trois types de colonies peuvent être Simultanément ou individuellement sur support solide : - grandes colonies de 2 à 3 mm de diamètre, aux bords irréguliers, rugueux, avec partie centrale du dôme aux reflets métalliques ; Colonies plus petites lisses « S » bombées à bord régulier ; Colonies muqueuses « M » bombées, coalescentes. **(Bourahla & Haddache, 2016)**.

II.5.3. Caractères biochimiques du *Pseudomonas spp* :

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des organismes aérobies stricts qui utilisent l'oxygène comme accepteur final d'électrons dans le processus d'aérobiose. Elles sont oxydase positives et certaines d'entre elles sont capables de réduire le nitrate en anaérobiose grâce à une nitrate-réductase. Elles sont également connues pour leur capacité à utiliser divers substrats hydrocarbonés comme source de carbone et d'énergie. Les *Pseudomonas* produisent une odeur caractéristique de seringa, qui est due à la production d'ortho-amino-acétophénone, un intermédiaire du métabolisme du tryptophane. Elles peuvent également hydrolyser la gélatine et la lécithine **(Benmerieme & Mehanneche, 2016)**. L'identification de ces bactéries peut être réalisée en utilisant 47 tests biochimiques et un contrôle négatif. Les résultats définitives peuvent être obtenus en environ 10 heures **(Chau et al., 2011)**. Les *Pseudomonas* sont capables de maintenir l'homéostasie dans des conditions environnementales variables, ce qui leur permet de maintenir un environnement cellulaire favorable à leur physiologie biochimique et à leur métabolisme énergétique **(Sutton et al., 2001)**.

Tableau 2 : principaux caractères métaboliques de *Pseudomonas spp* **(Holt et al., 1994)**.

Test/propréités	Résultat positif (+) ou négatif (-)
Oxydase	+
Catalase	+
Fermentation du glucose	-
Oxydation du glucose	+
Production d'indole	-
Production de nitrate en nitrite	+
Production d'uréase	-
Production de citrate	+
Production d'acide	+

II.5.4. Caractères antigéniques de *pseudomonas spp :*

Les souches de *P.aeruginosa* qui sont des organismes de type sauvage produisant du LPS lisse possédant trois domaines distincts, à savoir le lipide A, l'oligosaccharide central (OS) et les polysaccharides O ou les antigènes O (O-Ag). Ce n'est pas souvent le cas en milieu clinique, car bon nombre de ces isolats sont partiellement dépourvus ou totalement dépourvus d'O-Ag. O-Ag, dont l'un contient un homopolymère de D-rhamnose l'autre forme d'O-Ag produite par *P.aeruginosa* est un hétéropolymère avec trois à cinq sucres distincts dans ses unites répétées, et est nommé antigène O-spécifique (OSA ; anciennement appelée bande B) **(Lam et al., 2011)**.

III. Techniques des prélèvements

III.1. Prélèvement de l'urine :

Généralement chez les patients non sondées. Après un lavage hygiénique soigneuse des Organes génitaux externes et après l'élimination du premier jet impérativement avant l'antibiothérapie (sauf le choc septique), l'urine est recueillie dans un tube stérile (environ 10-20 ml), le tube est fermé hermétiquement et transporté rapidement au laboratoire après assemblage, sinon, il est placé au réfrigérateur **(Stabler, 2022).**Cependant les échantillons reçus des différents services sont étiquetés

III.1.1. Conditions de conservation et de transport des urines :

Le temps entre le prélèvement et l'analyse d'urine ne doit pas dépasser 2 heures température ambiante pour éviter la multiplication. En revanche, l'urine peut être conservée à (+4°c) pendant au moins 24 heures sans altération bactériurie **(Mebarki, 2018)**. Chaque prélèvement est associé à une étiquette comportant des informations telles que le nom, le prénom, l'âge du patient ainsi que la date et la quantité du prélèvement. Lorsque ces échantillons parviennent au laboratoire, il est nécessaire de consigner ces informations et de demander le service requis **(Bennamar & Benaissa, 2022)**.

III.2. Prélèvement de pus :

Les prélèvements faits à l'aide d'une aiguille et la seringue, les biopsies et pièces opératoires mises en récipient stérile En fonction de la profondeur du tissu atteint, **(Ziad & Sebboua, 2021)**.

III.2.1. Conditions de conservation et de transport de pus :

Transport Les prélèvements doivent être acheminés au laboratoire dans un délai maximal de 2 heures à température ambiante pour maintenir la charge microbienne initiale de l'échantillon. Une fois les premiers examens effectués et les cultures démarrées, le reste du prélèvement sera correctement étiqueté, rebouché et réfrigéré, jusqu'à ce qu'on soit certain qu'aucun autre test de laboratoire n'est nécessaire. Les échantillons précieux prélevés à la seringue (les biopsies et pièces opératoires) doivent être conserves a −80°C pour d'éventuelles analyses ultérieures (recherches particulières, biologie moléculaire) **(Ziad & Sebboua, 2021)**.

III.3. Prélèvement de LCR :

Les LCR sont obtenu par ponction lombaire (PL). La ponction est pratiquée entre les vertèbres L4 et L5 à l'aide d'une aiguille à ponction avant de démarrer une antibiothérapie **(ZAWAIRA et al., 2018)**.

III.3.1. Conditions de conservation et de transport des LCR :

Les flacons de TI sont conservés au réfrigérateur à une température comprise entre 4 °C et 8°C. L'échantillon correctement conditionné, comportant un numéro d'identification unique, sera envoyé au laboratoire régional ou au laboratoire national selon la capacité du laboratoire pour réaliser les tests recommandés, accompagné d'une copie de la fiche d'investigation de cas correspondante.

Et Pour leur envoi, l'aiguille de ventilation doit être retirée des flacons de TI inoculés avant de les conditionner dans un triple emballage pour le transport, sans accumulateurs de froid. Une fois inoculés, les milieux TI doivent être conservés à température ambiante **(ZAWAIRA et al., 2018)**.

IV. Méthodologie de diagnostic :

Les milieux utilisés et l'interprétation des résultats dépendent les caractères biochimiques et culturaux des souches *Proteus spp* et *Pseudomona spp* qui ont été mentionné préalablement dans les généralités **(Bennamar & Benaissa, 2022)**.

IV.1. Étude cytobactériologique des urines : ECBU

Il permet d'étudier les caractères physiques des urines observés à l'œil nu : l'aspect ; la couleur et la présence ou l'absence de pus ou des hématies **(Bennamar & Benaissa, 2022)**.

IV.1.1. Macroscopique :

Dès que l'urine est reçue. On remarque :
L'aspect, couleur, présence ou absence de dépôts cristallins. Clair ou trouble, présence de sédiments et de sang **(Bennamar & Benaissa, 2022)**.

IV.1.2. Etude microscopique :

IV.1.2.1. Cytologie :

Effectué pour : le Comptage des globules blancs et des globules rouges Urine non centrifugée sur cellules de Malassez. Le résultat est exprimé en nombre de cellules/ml **(Mebarki, 2018)**.

IV.1.2.2. Analyse quantitative :

La résultat d'un examen cytobactériologique des urines (ECBU) peut varier en fonction de la méthode de dénombrement utilisée (anse calibrée, lame immergée ou ensemencer en spirale **(Del Bano, 2021)** peut se faire manuellement ou par des méthodes automatisées (cytométrie de flux) en déposant un 100 µl d'urine dans une cellule Mallasses, ensuite la lame est examinée à l'état frais sous microscope à l'objectif x40. Cette technique permet d'objectiver et de quantifier une leucocyturie et de reconnaître une bactériurie **(Caron et al., 2014)**.

Les valeurs normales pour un ECBU négatif comprennent un taux d'hématies (globules rouges) inférieur à 5 X 10 3 /ml, un taux de leucocytes (globules blancs) inférieur à 10 4 /ml et l'absence de germes ou une bactériurie inférieure ou égale à 10 3 UFC/ml. La présence de leucocytes dans l'urine est un signe de réaction inflammatoire **(Del Bano, 2021)**.

IV.1.2.3. Analyse qualitatif :

La coloration de Gram peut aider à orienter le traitement antibiotique en décrivant les bactéries observées ou inciter à refaire le prélèvement selon le caractère mono- ou poly-microbien de la bactériurie.

Elle permet de plus d'objectiver la présence de cellules épithéliales qui, lorsqu'elles sont présentes en grande quantité, signent un prélèvement de mauvaise qualité et s'accompagnent généralement d'une contamination par la flore péri-urétrale **(Caron et al., 2014)**.

IV.1.2.4. Mise en culture et isolement :

Les entérobactéries *Proteus spp* st *Pseudomonas spp* ne sont pas exigeantes donc une goutte d'urine sur anse d'étalonnage de 10 µl est ensemencée dans une boîte de Pétri contenant le gélose ordinaire (gélose au sang) ou milieu GN (gélose nutritive) ou bien Uro-culture sur milieu Hektoen si le patient est immunodéprimé (femme enceinte, patient hospitalisée, diabétique, sondé) **(Aouatef et al., 2022)**. Une goutte d'urine sur anse d'étalonnage de 10 µl est ensemencée dans une boîte de Pétri.

Incubé de 24 h à 37° et des lectures seront effectuées. Si la culture est positive lorsque le nombre est supérieur ou égal à 105 bactéries/ml et avec l'aspect unicellulaire, et parmi les bactéries qui peuvent être identifiées en cas de maladie urinaire **(Mebarki, 2018)**.

IV.2. Etude cytobactériologique de pus

IV.2.1. Etude macroscopique :

L'aspect macroscopique de l'échantillon constitue une information importante d'orientation à noter (hémorragique, purulent, présence d'égrains).On note la consistance, la couleur, l'aspect, l'odeur, ainsi que la viscosité du pus. Le pus peut être épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non, fluide ou séreux. Examiner au microscope à l'immersion, au grossissement x100.**(Ziad & Sebboua, 2021)**.

IV.2.2. Examen direct :

Une coloration de gram sera effectuée sur un frottis du produit pathologique pour les localisations profondes **(Denis et al., 2007)**.

IV.2.3. Etude microscopique :

IV -2-3-1-Cytologie:

La présence et la quantité des éléments suivants sera note attentivement:

Cellules polynucléaires et les lymphocytes.

Bacilles à Gram négatif ressemblant à des entérobactéries (*Proteus spp,..),* bacilles non fermentatifs (*Pseudomonas spp),* ou anaérobies obligatoires.**(Ziad & Sebboua, 2021)**.

IV.2.3.2. Mise en culture et isolement :

Après un examen direct, on ensemence quelques gouttes par stries, une gélose au sang frais ou Hektoen et en réalisant en parallèle un enrichissement dans un bouillon glucosé tamponné (BGT) et les incuber à 37°C/24H à 48H. Après l'incubation, à partir de bouillon d'enrichissement on ensemence les mêmes milieux si la culture dans les boites d'origine est négative **(Denis et al., 2007)**.

IV.3. Etude cytobactériologique des LCR :

IV.3.1. Etude macroscopique :

L'observation macroscopique permet de différencier les liquides clairs, citrins, hémorragiques, troubles ou purulents. Le temps nécessaire pour une interprétation correcte d'un LCR est d'environ 20min **(Bouzemlel & Cheblaoui, 2021)**.

IV.3.2. Examen direct :

Coloration de gram : La coloration de Gram de *Pseudomonas spp* a été fait à partir d'un goute de LCR, un frottis a été réalisé sur une lame, ensuite la lame a été séché à l'air, fixé et coloré au Gram, la lecture a été réalisée au microscope à l'objectif x100 **(Bouzemlel & Cheblaoui, 2021)**.

IV.3.3. Etude microscopique:

IV.3.3.1. Cytologie :

La numération des éléments cellulaires (lymphocytes et polynucléaires neutrophiles avec prendre en considération aussi la présence ou l'absence des globules rouges) a été faite à l'aide de la cellule de Nageotte après l'agitation douce du LCR totale ont Compte le nombre d'éléments contenu dans une bande. Le nombre d'éléments chez L'enfant et l'adulte ne doit pas dépasser 10 éléments/ mm 3 et chez le nouveau-né, ce nombre ne doit pas dépasser 30 éléments/ mm3 (l'état normale moins de 5 éléments/mm3) **(Bouzemlel & Cheblaoui, 2021)**.

IV.3.3.2. Mise en culture et isolement :

Les ensemencements du prélèvement de *Pseudomonas spp* au niveau du laboratoire seront faits richement (3 gouttes au moins de LCR) sure les milieux suivants :

Gélose Hektoen ; incubée en aérobiose à 37°C (favorise l'isolement sélectif des bacilles à Gram négatif non exigeants).

Gélose nutritive; incubée à 37°C en aérobiose (favorise l'isolement non sélectif dans le but de contrôler la portée d'une souche bactérienne) **(Bouzemlel & Cheblaoui, 2021)**.

CHAPITRE 2 : ANTIBIOGRAMME

I. Technique d'antibiogramme :

L'antibiogramme est un outil crucial pour la prise de décision thérapeutique en identifiant les bactéries sensibles, intermédiaires ou résistantes pour guider l'antibiothérapie, réduisant ainsi la morbi-mortalité en cas d'infections bactériennes. Cependant, il a certaines limites telles que la mesure de l'effet bactériostatique, la rareté des valeurs exactes des concentrations minimales inhibitrices (CMI), la difficulté de catégorisation intermédiaire et une incitation potentielle à la prescription d'antibiotiques. L'antibiogramme peut également être utilisé pour le diagnostic, les investigations épidémiologiques et la surveillance de la qualité des procédures **(Caron, 2012)**.

L'utilisation de milieu Miller Hinton et méthode de disque ont permis d'identifier *Proteus Mirabilis* et *Pseudomonas spp* par la galerie API 20E et la galerie API 20 NE respectivement **(Sbiti et al., 2017);(Debabza, 2015)**.

II. Généralité sur les antibiotiques :

II.1. Les bêta-lactamines :

Les bêta-lactamines (β-lactamines) sont des antibiotiques bactéricides qui inhibent la biosynthèse de la paroi bactérienne. Ces molécules sont caractérisées par la présence d'un noyau bêta-lactame .Ils sont produits naturellement par divers micro-organismes eucaryotes, tels que des champignons filamenteux du genre Penicillium, mais également par des bactéries du genre *Streptomyces*). Sur base de β-lactamines naturelles, les industries pharmaceutiques créent des antibiotiques semi-synthétiques par modification chimique des chaînes latérales autour du noyau β-lactame. Les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes composent les différentes familles de β-lactamines **(Lupo, 2018)**.

En 1976, les premiers inhibiteurs de bêta-lactamases ont été découverts ; ces acides olivaniques étaient des produits naturels produits par la bactérie Gram-positive *Streptomyces clavuligerus* **(Papp-Wallace et al., 2011).**

II.2. Les classifications des bêta-lactamines :

Les β-lactamines sont classées en quatre groupes principaux : **(Livermore, 1995)**.

1-les pénicillines : **(Buxeraud, 2020)**.

Tableau 3: classifications des pénicillines.

la pénicilline G	benzylpénicilline
pénicilline V	phénoxy-méthyl-pénicilline
les pénicillines M	La méticilline .iso-oxazolyl-pénicillines (oxacilline , cloxacilline)
les pénicillines A	(ampicilline, amoxicilline),
les carboxy-pénicillines	(ticarcilline)
uréido-pénicillines	(pipéracilline)
les amidino-pénicilline	(pivmecillinam)
Association avec inhibiteurs de betalactamases	Acide clavulanique moxicilline
	Acide ticarcilline

2- Les céphalosporines divisées en 5 générations: **(Charles & Toai, 2022**).

Tableau 4: classification des céphalosporines.

Première génération:	céfazoline, céphalothine, céphapirine, céphradine, céfadroxil et céphalex-in.
Deuxième génération	les céphalosporines se divisent en deux sous-groupes : le sous-groupe de deuxième génération et le sous-groupe des céphamycines. Certains des sous-groupes de deuxième génération comprennent le céfuroxime et le cefprozil. Le sous-groupe des céphamycines comprend le cefmétazole, le céfotétan et la céfoxitine. Au sein du premier sous-groupe, le céfuroxime a augmenté
Troisième génération	les céphalosporines comprennent la céfotaxime, la ceftazidime, le cefdinir, la ceftriaxone, la cefpodoxime, la céfopérazone et la céfixime
Quatrième génération	Cefepime
Cinquième génération	ceftaroline.

3- Les carbapénèmes : **(Jeon et al., 2015)**.

Tableau5 : classification des carbapénèmes.

Les carbapénèmes	(imipeneme,++ Cilastatine)meropenème, biapenème,ertapenème, and doripenème
4- Les monobactames : l'aztréoname **(Facciolà et al., 2022).**	

II.3. Mécanisme d'action :

La production de bêta-lactamases, (des enzymes capables d'hydrolyser les bêta-lactamines,et la modification de la cible, à savoir les protéines de liaison aux pénicillines (PBP),responsables de la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne. Les bactéries réduire l'entrée des antibiotiques dans la cellule ou augmenter leur expulsion par des pompes à efflux. La combinaison de ces mécanismes peut aboutir à des niveaux de résistance élevés **(Bush & Bradford, 2016)**.

II.4. Spectre d'activités :

Les souches sensibles aux bêta-lactamines, sont :*Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis, Moraxella catarrhalis*,**(Ariana, 2016)** et certains souches de *Staphylococcus aureus* **(Kirby et al., 2004)**.

II.5. Effets secondaires :

Des réactions allergiques, **(Blanca et al., 2009)**(des éruptions cutanées,la fièvre, de l'œdème et des réactions anaphylatiques. -Des gastro intestinaux, (diarrhéequi se produire Des des douleurs et des rougeurs).**(Caruso et al., 2021)**.

III. bêta-lactamines a spectre élargie (BLSE) :

III.1. Définition de(BLSE) historique de 1989 :

Les Extended-Spectrum bêta-lactamases (BLSE) sont des bêta-lactamases transférables mutées de la classe A (TEM/SHV) qui ont alors une affinité augmentée pour diverses bêta-lactamines dont les C3G .Malheureusement, trois ans après, ont été dénommées (BLSE) a été proposé en 1988, puis quelques années après, est apparu celui de bêta-lactamases à spectre étendu MEN-1 plusieurs pro- positions d'inclure sous le terme ESBL ou BLSE, des bêta-lactamases appartenant aux quatre classes (A, B, C, D) sont à rejeter à cause de l'importance clinique ou de l'interprétation à donner pour l'antibiogramme . Aussi, la dénomination de BLSE ne doit s'appliquer qu'à des enzymes appartenant à la classe moléculaire A et au groupe fonctionnel 2be C'est-à-dire que le traitement à l'aide de céphamycines et de carbapénèmes reste possible. Il y a donc lieu de distinguer les enzymes des classes B (métallocarbapénèmases), C (céphalosporinases) et D (oxacillinases) des BLSE de classe A (cf. Spectre d'inactivation). Dans ce cas, la sensibilité des BLSE est habituelle vis-à- vis des inhibiteurs enzymatiques tel l'acide clavulanique **(Philippon, 2013)**.

III.2. Les différents types de β-lactamases à spectre élargi *:*

Actuellement trois groupes de BLASE sont décrits : ce sont les TEM, les SHV (Les anciennes BLSE) **(Boulahlib & Gherraz, 2020)**. et les CTX-M ,Plus de 90 enzymes TEM sont identifiées : il y a des pénicillinases (TEM-1 et TEM-2), des BLSE pour la plupart (TEM-12, TEM-7, TEM-10, TEM-54 …) et des TEM résistants aux inhibiteurs de β-lactamase (TEM-30, TEM-74)Les enzymes dérivant de SHV-1 sont moins nombreuses: il s'agit d'un vingtaine. les CTX-M sont très nombreuses **(Kansaye, 2020)**. Bien que la majorité des ESBL isolées cliniquement soient de types TEM, SHV ou CTX-M, plusieurs BLSE qui ne sont pas étroitement liées à l'une des trois familles établies ont été signalées. Des exemples comprennent les types SFO, BES, BEL, TLA, GES, PER et VEB **(Naas et al., 2008)**.

Tableau6 : les types de BLSE.

Catégorie	Type/groupe	Proprieté
TEM	TEM-1 et TEM-2	hydrolyze ampicilline **(Kansaye, 2020)**Hydrolyse similaire de benzylpénicilline et céphalosporines **(Khanfar, 2017)**.
	TEM-3	Hydrolyse accrue deoxyimino-β-lactamines(ceftoaxime, ceftazi-dime, ceftriaxone, céfépime,aztréonam)**(Khanfar, 2017)**.
	TEM-30	Résistance au clavu-lanique acide, sulbactam ettazobactam (**Khanfar, 2017)**. résistants aux inhibiteurs de β-lactamase **(Kansaye, 2020)**.
	TEM-50	Hydrolyse accrue deoxyimino-β-lactaminescombiné avec la résistanceà l'acide clavulanique,sulbactam et tazo-bactam **(Khanfar, 2017)**.
	TEM-74	résistants aux inhibiteurs de β-lactamase**(Kansaye, 2020)**.
	(TEM-12, TEM-7, TEM-10, TEM-54 …)	Sensible aux inhibiteurs de b-lactamase **(Kansaye, 2020)**.
SHV	SHV1	Hydrolyse similaire debenzylpénicilline etcéphalosporines **(Khanfar, 2017)**.
	SHV-5 et SHV-12	affinité au cefotaximes et Oxyimino-β-lactame**(Gaurab, 2018)**.
	SHV-10	Résistance au clavu-laniqueacide, sulbactam et tazobactam **(Khanfar, 2017)**.
	SHV-2	Hydrolyse accrue de oxyimino-β-lactamines(ceftoaxime, ceftazi-dime,ceftriaxone, céfépime,aztréonam)**(Khanfar, 2017)**.
CTX-M	CTX-M-2, CTX-M-3, CTX-M-14, CTX-M-15	**(Gaurab, 2018).**
	CTX-M-15	Hydrolyse accrue de oxyimino-β-lactamines(ceftoaxime, ceftazi-dime,ceftriaxone, céfépime,aztréonam)**(Khanfar, 2017)**.
	OXA-14, OXA16, OXA-17, OXA-19, OXA-28 OXA-31, OXA32 OXA_35, OXA-45.	**(Gaurab, 2018).**

OXA	OXA-11 et OXA-15	Hydrolyse la cloxacile-line ou oxacilline et oxyimi-no-β-lactames **(Khanfar, 2017)**.
	OXA-23 et OXA-48	Hydrolyse la cloxacile-line ou oxacilline et carba-pénèmes **(Khanfar, 2017)**.
	OXA-10.	Hydrolyses cefotaxime, ceftriaxone and aztreonam **(Gaurab, 2018)**.
	OXA-10 et OXA -1	Hydrolyse accrue de cloxacilline ou oxacil-line **(Khanfar, 2017)**.
PER	PER-1	Hydrolyse les pénicillines et les céphalosporines et est sensible à l'acide clavulinique **(Gaurab, 2018)**. Hydrolyse accrue de oxyimino-β-lactamines (ceftoaxime, ceftazi-dime,ceftriaxone, céfépime,aztréonam) **(Khanfar, 2017).**

III. Les bactéries productrices :

Elle peut également résulter de l'évolution de la résistance acquise par les pathogènes. Lorsqu'un organisme est résistant à plusieurs médicaments, il est qualifié de multi-résistant...**(Shaikh et al., 2015)**.

La production d'enzymes bêta-lactamases est le principal mécanisme de résistance bactérienne à la famille des bêta-lactamines .L'un de ces mécanismes utilisés chez les bactéries Gram-négatives contre les antibiotiques est la production de bêta-lactamase. .Les bêta-lactamases extensives (BLSE) sont des enzymes produites par certaines bactéries qui inactivent la létalité des bêta-lactamines via la rupture du cycle bêta-lactame .Ces enzymes développent une résistance à ces antibiotiques en hydrolysant la bêta-lactamine **(Gholami-Ahangaran et al., 2021)**.

Agissant sur la paroi cellulaire d'une cellule bactérienne. Ceux-ci comprennent les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactémes. Ceux-ci se lient et inhibent les carbox-ypeptidases et les transpeptidases. Ce sont les enzymes synthétisant la paroi cellulaire, également appelées protéines de liaison à la pénicilline, ou PBP, qui catalysent les liaisons croisées D-ala D-ala de la paroi peptidoglycane qui entoure la bactérie.

En conséquence, Ces médicaments exerçaient une sélection darwinienne, tuant les bactéries sensibles et permettant aux résistantes acquise par les pathogènes. Lorsqu'un organisme est résistant à plusieurs médicaments, il est qualifié de multi-résistant...**(Shaikh et al., 2015).**
les entérocoques acquis par mutation spontanée ou transfert d'ADN. Sur le plan fonctionnel, la résistance aux β-lactamines peut être le résultat de la production de β-lactamases, de l'imperméabilité, de l'efflux et de la modification de la cible **(Rawat & Nair, 2010)**.

III.4. Spectre d'action :

BLSE est important de se concentrer sur les pathogènes qui ont développé une résistance à plusieurs antibiotiques, tels que *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Enterococcus* et *Myco-bacterium tuberculosi.*
Ces bactéries ont développé une résistance en étant exposées à divers types d'antibiotiques, ce qui a conduit à une production et une mutation continue des enzymes bêta-lactamases. Ces enzymes sont capables de rendre inefficaces même les nouveaux antibiotiques bêta-lactames développés.
De plus, chaque espèce bactérienne peut présenter des enzymes spécifiques, comme CumA chez *Proteus vulgaris*, HUGA *chez Proteus penneri*, ERP-1 chez *Erwinia persicina*, SED-1 chez *Citrobacter sedlakii*, KLUA, KLUC et KLUG chez *Kluyvera spp*., FONA chez *Serratia fonticola*, RAHN-1 chez *Rahnella aquatilis*, ou encore K1 ou Koxy chez *Klebsiella oxytoca.* Les bacilles à Gram négatif non fermentatifs comme *Stenotrophomonas maltophilia* (enzyme L2), *Chryseobacterium meningosepticum* (CME-1/2), *Chryseobacterium gleum* (CGA-1*), Burkholderia pseudomallei* (PENA), ainsi que les bactéries strictement anaérobies telles que *Desulfovibrio desulfuricans* (DES-1), *Prevotella intermedia* (CFXA2) et *Bacteroides fragilis* (CEPA) présentent également des enzymes spécifiques pour chaque espèce, telles que FONA-1 chez *S. fonticola*.

Bien que les BLSE soient le plus souvent associées aux *Enterobacteriaceae*, il a été signalé leur présence dans d'autres espèces bactériennes telles que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* **(Naas et al., 2008)**.

IV. Le chloramphénicol :

Le chloramphénicol est un antibiotique à large spectre qui a été isolé pour la première fois à partir de la bactérie *Streptomyces venezuelae*. Cette découverte a eu lieu en 1947.**(Izard & Ellis, 2000)**. II est principalement bactériostatique et agit par inhibition de synthèse de protéine en interférant avec le transfert des acides aminés activés d'ARN soluble aux ribosomes. La manifestation d'une résistance eu Chloramphénicol peut être considérée minimale pour les *staphilocoques* et plusieurs autres sortes de bactéries **(Volkers, 2019)**.

IV.1. Classifications de chloramphénicol :

Le chloramphénicol est classé dans la catégorie des phénicolés :
Florfenicol, Thiamphenicol, Azidamphenicol, Thiamphenicol, Azidamphénicol. Sont utilisés en médecine humaine pour le dérivé fluoré florfenicol est utilisé uniquement en médecine vétérinaire **(Bale et al., 2023)**.

IV.2. Mécanisme d'action :

Les phénicolés s'exercer dans les cellules de mammifères, et plus spécialement, les cellules souches des cellules sanguines, se fixent à la sous-unité 50S des ribosomes bactériens. Ils inhibent la synthèse des protéines en empêchant la liaison du complexe acide aminé -ARNtr à son site de fixation, et donc la réaction de transpeptidation. **(Dallemagne, 1959)**.

IV.3. Spectre d'activité :

Le chloramphénicol demeure d'autre part une référence sur les germes anaérobies. Car les souches sensibles à cet antibiotique sont :

Les aérobies à Gram positif comme : les *Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* methi R , *Streptococcus pyogenes ,Streptococcus viridans ,Streptococcus pneumoniae Listeria* monocytogenes , *Haemophilus influenzae* , Neisseria meningitidis , *Neisseria gonorrhoeae ,Enterobacter, Proteus mirabilis, Proteus indole, Yersinia pseudo tuberculosis ,Vibrio cholerae.*
Les anaérobies à Gram positif telle que : Clostridium spp,*Peptostreptococcus spp.*
Les anaérobies à Gram négatif : *Fusobacterium spp, Bacteroides fragilis, Bacteroides spp* et *Prevotella spp*., et *Veillonella spp*. Les *Chlamydiae, mycoplasmes et trickettsies*
Les spirochètes **(Razik & Zeroual, 2019)**.

A l'exception des germes de *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumanii, Serratia marcescens* et les *mycobactéries*. Qui sont naturellement résistants aux phénicolés.
Resistance fréquente pour les souches de *Listeria monocytogenes* ,et de *shigelloses*.
Resistance acquise pour les (*Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Salmonella enterica serovar typhimurium, Corynebacterium spp. et Rhodococcus spp*)
(Razik & Zeroual, 2019).

IV.4. Les effets secondaires :

Le chloramphénicol ayant une faible toxicité aiguë mais pouvant causer des troubles tels que des déséquilibres de la flore digestive, des aplasies médullaires et des interactions médicamenteuses. L'anémie généralement réversibles après l'arrêt du traitement **(BEN YOUSSEF, 2016)**.Des réactions allergiques graves, telles que des gonflements, des difficultés respiratoires, des yeux rouges et des éruptions cutanées..**(Volkers, 2019)**.

V. Les Aminoglycosides :

Les aminoglycosides sont des antibiotiques naturels ou semi-synthétiques dérivés d'actinomycètes. Ils ont été parmi les premiers antibiotiques introduits pour une utilisation clinique courante et plusieurs exemples ont été approuvés pour une utilisation chez l'homme. Ils ont été largement utilisés en tant qu'agents de première intention dans les premiers jours de la chimiothérapie antimicrobienne, mais ont finalement été remplacés dans les années 1980 par des céphalosporines, des carbapénèmes et des fluoroquinolones.

Les aminoglycosides sont synergiques avec une variété d'autres classes d'antibiotiques, ce qui, en combinaison avec l'augmentation continue de la résistance des bactéries à plusieurs médicaments et le potentiel d'améliorer la sécurité et l'efficacité de la classe grâce à des schémas posologiques optimisés, a conduit à un intérêt renouvelé pour ces antibactériens à large spectre et à action bactéricide rapide **(Krause et al., 2016) (Buxeraud & Faure, 2016)**.

V.1. Classification des Aminiglycoside :

Les aminosides, comprennent de nombreuses molécules :
la gentamicine, amikacine, nétilmicine, tobramycine,isépamicine,néomycine,streptomycineet la spectinomycine **(Dauvergne, 2019)**.

V.2. Mécanisme de résistance :

Les aminosides permet de cibler différentes voies métaboliques.
Effet bactéricide est très rapide et ne dépend pas de la densité qui signifie qu'ils sont efficaces même contre les infections sévères. La durée d'activité des aminosides est également supérieure à leur temps d'exposition, ce qui est connu sous le nom d'effet postantibiotique.
Une forte intensité, une grande rapidité et un effet dose-dépendant. Leur effet sur la bactérie se manifeste par une altération de la synthèse de l'ADN **(TOUMI, 2008)**.
Une accumulation d'erreurs de transcription au sein des protéines de la bactérie :chez les *staphylocoques* et les *Pseudomonas* **(Dauvergne, 2019)**.

V.3. Spectre d'activité :

Les organismes gram-négatifs, tels que les *Actinomycesbovis*, *Pasteurella*, *E.coli*, *Salmonella*, *Campylobacterfetus*, les espèces de *Leptospira* et les espèces de *Brucella*, sont sensibles à la streptomycine, ainsi que les *staphylocoques*. *Mycobacteriumtuberculosis*, *Enterococcus*et : certaines espèces de . *Psuedomonas aeruginosa Staphylococcus .aureus Cryptosporidium, Entamoeba et Giardia* **(Oliver, 2021)**.

Pour les souches résistances sont les Bacteroides fragilis et *Clostridiumperfringens* ainsi que des anaérobies facultatifs tels que les entérobactéries et *Staphylococcusaureus*.avec une résistance à la streptomycine chez certaines souches de *P. aeruginosa, u*ne résistance de faible niveau aux Aminoglycosides chez les entérocoques et une résistance à la gentamicine chez *Streptococcus faecalis*, ainsi qu'une résistance chez certaines souches d'*E. coli* **(Oliver, 2021)**.

V.4. Effet secondaires :

Les aminosides sont des antibiotiques largement utilisés dans le traitement de la tuberculose, les méningites tuberculeuses et les infections ostéo-articulaires. Cependant, l'utilisation de ces médicaments peut entraîner des effets secondaires indésirables tels que la néphrotoxicité (augmentation des niveaux de créatinine dans le sang) et l'ototoxicité (Les aminosides peuvent affecter la fonction de l'oreille interne et peuvent entraîner une perte auditive permanente) **(Quénard et al., 2018)**.

VI. Les Tétracycline :

La tétracycline est un antibiotique découverte pour la première fois dans les années 1940 à partir de la bactérie du sol "Streptomyces aureofaciens" **(Askari Rizvi, 2018)**. Appartient à la classe d'antibiotiques appelés tétracyclines, qui comprennent également la tétracycline, la doxycycline, la minocycline et d'autres. Est un antibiotique bactériostatique à large spectre. qui possède une structure chimique unique qui lui permet de se lier aux ribosomes bactériens, responsables de la synthèse des protéines. Cette liaison empêche les bactéries de produire les protéines nécessaires à leur survie, conduisant à leur mort. . Elle est couramment utilisée pour traiter diverses infections bactériennes telles que les infections des voies urinaires, les infections respiratoires, les infections cutanées et les infections sexuellement transmissibles, ainsi que certaines infections parasitaires, notamment le paludisme. Bien que la tétracycline soit généralement bien tolérée avec peu d'effets secondaires, mais peut causer une photosensibilité. En plus de ses propriétés antibactériennes, la tétracycline a des effets anti-inflammatoires et immunomodulateurs **(Ramachanderan & Schaefer, 2021)**.

VI.1. Classification de tétracyclines :

Les tétracyclines peuvent être classées en 3 groupes en fonction de leur génération **(Askari Rizvi, 2018)**.

Tableau 7: les classes de tétracyclines.

1er génération	contre une large gamme de bactéries Gram+ et Gram- tétracycline, l'oxytétracycline chlortétracycline.
2ème génération	plus liposolubles,doxycycline,minocycline,lymécycline
3ème génération	Glycylcycline,l'aminométhylcycline,tigécycline,

VI.2. Mécanisme de résistance :

Son effet en se liant à la sous-unité 30S du ribosome bactérien. Cette liaison empêche la fixation de l'aminoacyl-ARNt et bloque ainsi la synthèse des protéines bactériennes. La protéine qui en résulte est incomplète et non fonctionnelle, ce qui inhibe la croissance bactérienne et sa prolifération **(Askari Rizvi, 2018),(CHOPRA & ROBERTS, 2001)**.

VI.3. Spectre d'activité :

Les germes aérobies à Gram+comme : les *Streptococcus pyogenes , Streptococcus pneumoniae* , Staphylococcus aureus et staphylocoque Méti-S, Enterococcus faecalis.
Les germes aérobies à Gram - : *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae , Haemophilus influenzae , et Neisseria gonorrhoeae., Acinetobacter, Brucella, Francisella, Legionella, Pasteurella, Yersinia* et autres germes comme les : *chlamydiae, mycoplasma pneumoniae, rickettsie* **(Roberts, 2003)**.
A l'exception des *Serratia, Proteus, Pseudomonas, Providencia, Enterobacter, mycobacterium, Morganella, Bacteroides fragilis* qui sont résistants a cette ATB
resistance fréquente aux tétracyclines : sont les Anaérobies : *enterococci, streptococci, staphylococci, pneumococci, Hemophilus influenzae.* **(Roberts, 2003)**.

VI.4. Effets secondaires :

Les tétracyclines peuvent causer : des troubles gastro-intestinaux, notamment des douleurs abdominales, épigastriques, des nausées, des vomissements et de l'anorexie.
-Décoloration des dents et une inhibition de la croissance osseuse chez les enfants.
-La photosensibilité (une éruption cutanée rouge ou des cloques).
-Possibles ulcérations et sténoses de l'œsophage, évitables en prenant suffisamment d'eau et en restant debout après la prise.
-Risque d'hypertension intracrânienne (HTIC, pseudo-tumeur cérébrale).
-Implications dans le développement de la diarrhée associée à *Clostridium difficile*
(Agung et al., 2022).

VII. Triméthoprime :

Le triméthoprime est un antibiotique de la classe des diaminopyrimidines, qui agit en inhibant la synthèse de l'acide folique chez les bactéries. Il est souvent utilisé en combinaison avec le sulfaméthoxazole pour traiter les infections bactériennes, telles que la pneumonie, les infections des voies urinaires et la gastro-entérit **(Brian, 2022)**.

La première utilisation clinique de TMP a été rapportée en 1962 dans le traitement de la septicémie à *Proteus* avec des sulfamides à la polymyxine, et il est toujours considéré comme le médicament de première intention, actif in vitro contre la plupart des bactéries aérobies Gram-négatives et Gram-positives.**(Wróbel et al., 2020)**.

VII.1. Classification de Trémithoprime :

Deviser en deux groupes :
1-Antifolates classiques : telles que les Methotrexates et Paralatrexates
2-Antifolates non classiques :comme Pyrimethamine, trimethoprime, cycloguanile Iclaprime, tetroxoprime, brodimoprime, trimetrexate Piritrexime **(Wróbel et al., 2020)**.

VII.2. Mécanisme de résistance :

Le triméthoprime est classé comme un inhibiteur de la dihydrofolate réductase (DHFR). Donc ils empêche la synthèse de nucléotides ,la croissance et la réplication bactérienne **(Kemnic & Coleman, 2021)**.

VII.3. Spectre d'activité :

Sont actifs contre les bactéries a Gram + (certaines souches de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline) , les bactéries a Gram négatives , les protozoaires *Cystoisospora* et *Cyclosora* , le champignon Pneumocystisjiroveci **(Brian, 2022)**.

Pour les souches résistants on a les anaérobies *Treponema pallidum* , *Mycobacterium tuberculosis* , *Mycoplasma spp* **(Brian, 2022)**.

VII.4. Effets secondaires :

Des troubles gastro-intestinaux, des éruptions cutanées, des nausées et des vomissements, et des réactions allergiques. Pyélonéphrites **(Gupta et al., 2001)**. Etaient plus fréquents chez les patients recevant des doses élevées de triméthoprime **(Tunkel et al., 2004)**.

VIII. Les quinolones :

Les quinolones sont une classe relativement nouvelle d'antibiotiques synthétiques avec de puissants activité bactéricide à large spectre contre de nombreux agents pathogènes cliniquement importants qui sont responsables de diverses infections, y compris des voies urinairesgastro-intestinales , infections des voies respiratoires et les maladies sexuellement transmissibles résistantes à la pénicilline. Les nouvelles quinolones offrent une alternative valablethérapie antibactérienne, en particulier dans les zones où leprévalence de la résistance au crayon et aux macrolidesdes organismes résistants existent.

La première quinolone cliniquement utile à étéacide naldixique, découvert par Lesher et ses collèguesen 1962, qui a été généré à partir de la chloroquine, unagent antipaludéen **(Sharma et al., 2009)**.

VIII.1. Classification de quinolones :

Les quinolones deviser comme suivant : **(Pham et al., 2019)**.

Tableau 8: les classes de quinolone

1er génération:	Acide Nalidixique
2a génération	Enoxacine,Norfloxacine,Ciprofloxacine
2b génération	Ofloxacine(L-isomer =levofloxacine Lomefloxacine
3eme génération	Sparfloxacine Grepafloxacine Clinafloxacine Gatifloxacine
4eme génération	Moxifloxacine Gemifloxacine Trovafloxacine Garenoxacine

VIII.2. Mécanisme de résistants :

Les quinolones capturent l'ADN gyrase (topoisomérase II) et la topoisomérase IV d'ADN sous forme de complexes, conduisant ainsi à une rupture de l'ADN. Cependant, leurs effets peuvent être limités par des protéines telles que des complexes médicament-enzyme-ADN qui inhibent de manière réversible la réplication de l'ADN ou fragmentent les chromosomes bactériens.

Dans un chemin, la fragmentation des chromosomes stimule une accumulation excessive de composés toxiques hautement réactifs liés aux espèces d'oxygène réactives (ROS) qui sont les principales causes de la mort cellulaire(La cassure double brin (DSB) de l'ADN est une lésion de l'ADN potentiellement mortelle)**(Tang & Zhao, 2023)**

VIII.3. Spectre d'activité :

Les organismes de Gram– (exception de Pseudomonas),*Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydia Pneumoniae* , peu des bactéries a Gram+ : Staphylococcus aureus (exception de *Streptococcus Pneumoniae* **(Pham et al., 2019)**.

Parmais les souches résistants à l'exception de *Stenotrophomonas maltophilia* on a : *Staphylococcus aureus ,Mycobacterium tuberculosis,,Streptococcus pneumoniae* **(Hernández et al., 2011)***;Salmonella.spp***(Song et al., 2018)**. Les bactéries de gram-négative telle que :*Enterobacter cloacae, Morganella morganii, Proteus mirabilis, et Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa ,E. coli,K. pneumonia* **(Martínez, 2019)**.

VIII.4. Effets secondaires :

Des effets gastro-intestinaux tels que des nausées, des vomissements et des diarrhées
les arthralgies,La phototoxicité, des effets génotoxiques(mutations génétiques), l'anémie et la thrombocytopénie, l'éosinophilie hépatique, hypoglycémie,les réactions allergiques **(Pham et al., 2019)**.

IX. Les sulfamides :

Les sulfamides sont une classe d'antibiotiques efficaces contre de nombreuses bactéries Gram positives et Gram négatives. Certains sulfamides sont appliqués directement sur la peau (localement) pour traiter les brûlures et les infections cutanées, vaginales et oculaires **(Brian, 2022)**.

IX.1. Classification de sulfamides :

Les sulfamides sont classés en 3 groupes : **(El-Gaby et al., 2020)**.

Tableau 9: les classes de sulfamide.

1-Les sulfonamides à courte durée d'action	le sulfaméthizole, ,le sulfisoxazole
2- Les sulfonamides à durée d'action intermédiaire	Sulfaméthoxazole,le sulfacétamide
3-Les sulfonamides à longue durée d'action	le sulfadiméthoxine le sulfadioxine, Il exist un autre classification lors de combinaison de trimethoprim-sulfamethoxazole(Bactrim)

IX.2. Mécanisme d'action :

Les sulfamides agissent en empêchant les bactéries de produire une forme d'acide folique dont elles ont besoin pour se développer et se multiplier **(Moulin & Antoine, 2002)**.

IX.3. Spectre d'activité :

Sont actif sur : les bacilles Gram positifs comme : *Listeria*, *Bacillus anthracis,Clostridium* ;
les bacilles Gram négatifs : entérobactéries (*Salmonella et Proteus* sont inconstamment sensibles), *Haemophilus influenzae, Escherichia coli , Yersinia,Vibrio cholerae, Pasteurella multocida* **(Moulin & Antoine, 2002)(Fanny, 2011)**.
les souches bactériennes résistantes aux sulfamides sont : *Pneumocystis carinii***(Ovung & Bhattacharyya, 2021)** *staphylococcus aureus* **(Griffith et al., 2018)**.Les organisms de Gram-negative tell que :*Acinetobacter, Aeromonas, Alcaligenes, Burkholderia, Campylobacter, Citrobacter, E. coli Pseudomonas, Klebsiella, and Salmonella sp. S. marcescens Haemophilus influenza; S. pneumoniae; S. pyogenes; Neisseria meningitides* **(Selvarajan et al., 2023)**.

IX.4. Effets secondaires :

-Des Réactions cutanées : éruptions, urticaire, réactions de photosensibilité.
-Réactions allergiques sévères : anaphylaxie.
-Troubles hématologiques : diminution de certaines cellules sanguines, anémie, saignements, infections.

-Troubles gastro-intestinaux : nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales.

-Troubles rénaux : cristalluries, néphrites interstitielles **(Mohsen et al., 2020)**.

X. La résistance naturelle :

La résistance naturelle, est une caractéristique propre d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Porté par le chromosome, elle est stable, et transmise à la descendance. Elle constitue un caractère d'identification des bactéries et détermine le phénotype « sauvage » des bactéries.**(Chouh et al., 2019)**.

Tableau 10: la résistance naturelle de *Pseudomonas spp* et *Proteus spp*.

Bactéries	Les familles d'ATB	Résistent naturelle des ATB	Référence
Pseudomonas.spp	Les beta-lactamines	Amoxicilline C1G,C2G ,céfotaxime,értapénème penicilline G, aminopenicillines, ancien cephalosporins. aminopénicillines, ceftriaxone céfixime, céfuroxime, céfotaxime l'amoxiclav C3G (ceftriaxone et céfotaxime)	**(Jeannot, 2017)** **(Schmidt et al., 2015)** **(SOUSSY, 2013)** **(Guern, 2019)** **(Bouskraoui et al., 2017)**
	Aminosides	Kanamycines Néomycines Spectinomycines	**(Jeannot, 2017)**
	Chloramphénicol		
	Tétracycline	Tigécyclines ; Tétracycline Doxycycline **(Dubreuil et al., 2020)** minocycline.	
	Sulfamides		
	Triméthoprime		
	Macrolides	Macrolides Lincosamides Synergistines	
	Triméthoprime-sulfaméthoxazole (Dubreuil et al., 2020)		
	Quinolone	péfloxacine	

	Nitrofurantoïne	Nitrofurane	
	Nitromidazoles		
Proteus vulgaris	Les betalactamines	Amoxicilline;:céfalotine ;céfamando	**(Bouskraoui et al., 2017)**
Proteus spp		aminopénicillines, C1G et C2G (sa céphamycines) pénicilline G, V et M Imipénème + Aminopénicillines.	**(Abgrall et al., 2022)**
Proteus vulgaris et penniri		Céphalosporines de 1re generation. Céfuroxime+vencomycine	**(Dubreuil et al., 2020)**
Proteus spp		Colistine	**(Bouskraoui et al., 2017)**
		cyclines, colimycine,	**(Abgrall et al., 2022)**
		Tigécycline	**(Dubreuil et al., 2020)**
Proteus vulgaris, Proteus penneri	Les betalactamines	Groupe 5 Céfuroximase	**(Armand, 2021)**
Proteus spp	Nitrofurantoïne	nitrofurane	**(Dubreuil et al., 2020)**

XI. La résistance acquis :

Résistance acquise lorsqu'une ou plusieurs souches d'une espèce bactérienne naturellement sensible à un antibiotique y deviennent résistantes. donc par l'apparition subite d'une résistance ou plusieurs antibiotiques chez certaines bactéries qui étaient auparavant sensibles.

caractérisés par des mutations de gènes résistant d'une bactérie résistante vers une bactérie sensible, via un plasmide par exemple..**(Veyssiere, 2020)**.

Tableau 11: la résistance aquise de *Pseudomonas spp* **(Pang et al., 2019)**.

Résistance par mutations	l'inactivation du système de réparation oxydative de l'ADN augmente la mutation conduisant à une production accrue de β-lactamase comme TEM-1 et à une surexpression de la pompe à efflux MexCD-OprJ
	nalC ou nalD, résistance accrue de la bactérie aux β-lactamines et fluoroquinolones, une classe de quinolone
	MexXY – OprM induit par la mutation du gène mexZ a entraîné une résistance accrue aux aminoglycosides surproduction de β-lactamases causée par des mutations dans un gène inductible par la β-lactamase ampC,comme:CITM ce qui a considérablement augmenté la résistance à céphalosporines
	la résistance à la polymyxine de P. aeruginosa associe avec modification du LPS partenaire de liaison à la polymyxine
	ADN gyrase (gyrA et gyrB) et/ou topoisomérase IV (parC et parE)
Acquisition de gènes de résistance :	portés sur des plasmides, des transposons,intégrons et prophages, et les bactéries peuvent acquérir ces gènes via gène horizontal
	metallo-beta-lactamases(MBLs), (IMP), codé par intégrons de Vérone,
	(VIM), métallo-β-lactamase (SPM), imipenemase (GIM), métallo-β-lactamase (NDM) et imipenemase (FIM)
	nouveaux gènes de résistance aux aminoglycosides, aacA29a et aacA29b

Tableau 12 : la résistance acquise de *Proteus spp* **(Beltrão et al., 2021)**.

Résistance par mutations	La résistance est due à des changements dans la protéine de liaison à la pénicilline (PBP2).
Acquisition de gènes de résistance	*Proteus* peut acquérir une résistance à plusieurs groupes d'antimicrobiens en raison de la présence de gènes de résistance tels que bla OXA-58, bla OXA-48, bla OXA-23, bla NDM-1, bla VIM-1, bla IMP, bla KPC-2, bla ACC-1, bla FOX, bla CMY-2, bla DHA-1, bla VEB-6, bla PER-2, bla CTX-M et bla TEM-1.

CHAPITRE 3 : BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

I. La biologie moléculaire :

La PCR (Polymerase Chain Reaction), également appelée PCR classique ou PCR conventionnelle, est une technique de biologie moléculaire utilisée pour l'amplification de séquences d'ADN cible à partir d'un échantillon d'ADN **(Abderrazak et al., 2004)**.

Chaque cycle de preste constitue de 3 étape :une dénaturation de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent, une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence rechercher, puis une élongation grâce a l'action de l'ADN polymérase .ce cycle et répéter un grand nombre de fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible(la durée de cycle et à l'ordre de sec et min) **(Asensio et al., 2009)**.

Les amorces: le choix des amorces est une étape importante lors de la mise au point d'une PCR; il existe des programmes informatiques qui permettent d'optimiser ce choix. Plusieurs critères sont impératifs et doivent être pris en compte. La séquence des amorces ne doit pas permettre la formation d'épingles à cheveux, ni d'hybrides entre amorces. Il est préférable que la composition en bases soit équilibrée (éviter les longues répétitions de GC) et que les Tm (Température de fusion) des deux amorces ne soient pas trop différentes l'une de l'autre. De plus, **(Abderrazak et al., 2004)**.

Il existe d'autre types de de techniques PCR telle que:

PCR nichée-séminée ; PCR multiplex ; RT-PCR ; PCR de toucher des roues ;PCR inverse, PCR allèle spécifique ;PCR qualitative ;PCR quantitative….

I.1. Extraction d'ADN :

L'extraction des acides nucléiques est le point de départ de toute étude de biologie moléculaire et est donc considérée comme un processus crucial. L'ADN peut être extrait de sources aussi diverses que des échantillons cliniques tels que des empreintes digitales, aux tissus végétaux et animaux, aux protozoaires, aux bactéries et aux levures…

L'ADN isolé de divers échantillons biologiques peut être utilisé pour une vaste gamme d'applications en aval, à savoir le séquençage de l'ADN, la réaction en chaîne par polymérase (PCR)

Le principe derrière l'extraction d'ADN consiste en les étapes suivantes : (1) rupture des membranes cytoplasmiques et nucléaires ; (2) séparation et purification de l'ADN à partir d'autres composants du lysat cellulaire tels que des lipides, des protéines et d'autres acides nucléiques ; et (3) concentration et purification de l'ADN .Lors du choix d'une méthode appropriée pour l'extraction d'ADN, il est crucial d'assurer la qualité et la quantité de l'ADN isolé pour réaliser les applications en aval prévues. D'autres facteurs qui doivent être pris en considération pour optimiser la méthode d'extraction d'ADN comprennent le temps, le coût, les toxicités potentielles, le rendement, l'équipement de laboratoire et les exigences d'expertise, ainsi que la quantité d'échantillon requise pour le protocole **(Shetty, 2020).**

Il existe de nombreux protocoles pour extraire simplement de l'ADN de différents organismes vivants, donc l'utilisation des techniques de l'isolement doit conduire une extraction efficace avec une bonne quantité et qualité d'ADN, qui est pure et dépourvu des contaminants.

L'extraction de la molécule d'ADN chromosomique est réalisée après l'isolement et la mise en culture de la bactérie souhaitée étudier **(Baali et al., 2022).** Cependant Le Procédure d'extraction se fait comme la suite :

1-Cultiver Les souches repiquées sous hôte dans le milieu LB dans des tubes incurvées stériles.

2-Mélanger La culture dans le vortex et mise au bain-marie sec toute la nuit.

Après, transférer à la centrifugation. Élimine Le surnageant sans toucher le culot. Cette étape est suivie en remettant le culot en suspension dans le tampon de lyse avec agitation sous le vortex et incubé dans le bain-marie sec.

3-Cepandant, ajouter le phénol/chloroforme (en prélevant la phase inférieure du phénol) et agiter doucement en inversant le tube pour ne pas endommager l'ADN. Transférer Le mélange à la centrifugeuse à température ambiante. Après l'apparition d'une couche blanche protéique dans l'interface aqueuse, transféré une quantité de surnageant soigneusement de la phase aqueuse supérieure dans un nouveau tube.

4-Ensuite, éliminé le phénol en ajoutant un volume égal de chloroforme à la couche aqueuse. En mélange en inversant doucement le tube, puis centrifuger, Et transférer la couche aqueuse dans de nouvelles Eppendorfs on a ajoutant 2,5 à 3 fois le volume d'éthanol froid à -20°C pour précipiter l'ADN.

Garder les tubes à -20°C pendant au moins 1 heure ou plus, puis centrifuger à 4°C pendant quelque minutes. Jeter le surnageant, rincer le culot de l'ADN avec d'éthanol d'élution à 70% et centrifuger encore une fois.

5-Ensuite, éliminer le surnageant et bien sécher le culot de l'ADN dans le bain-marie sec. Remis l'ADN en suspension dans le tampon LB et conserver à -20°C pour l'étape de visualisation par PCR. **(**Selon les instructions des fabricants**).**

II. Processus impliqué dans la PCR :

Il existe 3 processus principaux

- Dénaturation
- hybridation
- Allongement \ étape d'extension **(Rajalakshmi, 2017)**.
-

II.1. Dénaturation Tm :

La première étape consiste à chauffer à une température de 94-96 ℃ pendant 10-20 min qui provoque la séparation de 2 brins complémentaires.

Le temps total consommé est d'environ 5 min. le une enzyme polymérase Taq thermiquement stable est utilisée ici **(Rajalakshmi, 2017)**.

II.2. Hybridation :

La température de recuit doit être choisie en de telle manière que, il devrait 2' C inférieur à Température de fusion/dénaturation. Ce processus a lieu en environ 1-2 min, la température est abaissé d'où les amorces se fixent à un seul AND brins. La température est abaissée à 50-65 ℃. Chaque brin de molécule d'ADN s'hybride avec une amorce oligonucléotidique complémentaire à l'un ou l'autre et de la séquence cible **(Rajalakshmi, 2017)**.

II.3. Extension :

Ici, l'ADN polymérase comble le manqué brins, la température impliquée sera dépend de la stabilité de la Taq polymérase (polymérase de Thermus aquaticus). Le la température implique est de 72 C pendant 5-15min et la Taq polymérase commence à combler le manqué nucléotides dans la direction 3' 5' loin de chacun de l'amorce.

Selon le nombre des bases\ min. L'amplification est faite à l'échelle logarithmique et produit amplifié de Processus de PCR appelé amplicon. Un cycle dure 1-3 min et tout le processus se déroule environ 45 min et générerait des millions d'exemplaires **(Rajalakshmi, 2017)**.

III. Analyse du produit PCR :

Il existe de nombreuses façons d'analyser les produits de PCR. Ils sont :
Un Coloration du produit d'ADN amplifié avec un colorant chimique comme le bromure d'éthidium.
Électrophorèse sur gel d'agarose il est visualisé b UV transilluminateur. Si les bandes sont présentes, cela indique la séquence cible de l'échantillon d'ADN d'origine et l'absence de bandes indique l'absence d'échantillon d'ADN d'origine **(Rajalakshmi, 2017)**.

III.1. Rôle des réactifs utilisé en extraction d'ADN :

III.1.1. Milieu LB :

Le milieu LB (Luria Broth): est un milieu riche couramment utilisé pour les membres de la culture des *Enterobacteriaceae* ainsi que pour les dosages de plaques de coliphages. LB est largement utilisée dans travail sur l'ADN recombinant et autres procédures de biologie moléculaire. Souvent un antibiotique est ajouté au milieu stérilisé pour sélectionner les cellules qui contiennent un élément génétique spécifique tel qu'un plasmide, un transposon ou un perturbation génique via une cassette de résistance aux antibiotiques **(Macwilliams & Liao, 2016)**.

III.1.2. Tampon de lyse (lysis buffer) :

Est un tampon de lyse de cellule entière de mammifère capable de solubiliser efficacement les protéines cellulaires mais ne le fait pas libérer l'ADN génomique **(selon thermo Fisher).**

III.1.3. Phénol :

Le phénol est un solvant organique, il n'est donc pas miscible à l'eau et est utilisé avec du chloroforme pour la purification de l'ADN afin d'éliminer les protéines et les contaminants polysaccharidiques. Lorsque le phénol est secoué avec un extrait cellulaire, les composants non polaires de la cellule seront fractionnés en phénol, laissant polaire ceux dans l'eau.

L'ADN est insoluble dans le phénol car le phénol est une solution non polaire. Sudre l'autre côté, la protéine contient à la fois des groupes polaires et non polaires en raison delà longue chaîne des différents acides aminés **(Heikrujam et al., 2020)**.

III.1.4. Chloroforme :

Le chloroforme (CHCl3) ou trichloré méthane est un solvant non polaire (hydrophobe),dans lequel les protéines et les lipides non polaires se dissolvent pour favoriser la partition des lipides et débris cellulaires dans la phase organique, laissant l'ADN isolé protégé dans la phase aqueuse **(Heikrujam et al., 2020)**.

III.1.5. 1'Éthanol à 70 % :

Le précipité d'ADN est de nouveau lavé avec de l'éthanol à 70 % pour rincer l'excès de sel qui peuvent accompagner les tampons d'extraction du culot ,centrifugés, et l'éthanol est jeté, laissant l'ADN dans le précipité **(Heikrujam et al., 2020)**.

III.1.6. Éthanol à 100 % :

Deux volumes d'éthanol à 100%) peut précipiter L'ADN libre de nucléosomes (phase aqueuse) **(Beranger, 2020)**.

IV. Rôle des réactifs utilisés au PCR :

IV.1. Mgcl2 (Chlorure de Magnésium):

Le MgCl2 ajouté au mix réactionnel pour améliorer l'efficacité ou sensibilité et l'inclusivité de la PCR car la fusion de l'ADN double brin (y compris la structure secondaire formée à partir d'ADN simple brin) et l'hybridation des amorces à la matrice d'ADN sont affectées par Mg2+. De plus, la Taq ADN polymérase utilise Mg2+ pour l'activité .Il est bien établi qu'une concentration trop élevée de MgCl2 peut augmenter l'efficacité de l'amplification PCR mais peut réduire la spécificité, tandis qu'une concentration trop faible de MgCl2 peut entraîner peu ou pas de produit PCR **(Schmidt et al., 2015).**

IV.2. Taq polymérase :

Enzyme clé utilisée pour amplifier l'ADN, étudier la fonction des gènes, assurer la fidélité de la réplication de l'ADN. Par conséquent, il s'agit d'un élément essentiel des tests PCR et joue un rôle crucial pour garantir des résultats précis et fiables **(Shehata, 2022)**.

IV.3. SDS et protéinase k :

Lyse les cellules et les noyaux et libère l'ADN étroitement lié à la chromatine **(Goldenberger et al., 1995)**.

IV.4. EDTA :

L'EDTA (C10H16N2O8) chélate les cations divalents, tels que Mg2+ et Ca2+ ,qui est présent dans les enzymes et réduit l'activité enzymatique de la DNase et RNase **(Heikrujam et al., 2020).**

IV.5. Tris :

Est un (hydroxyméthyl) aminométhane de formule moléculaire (HOCH2)3CNH2 :, est un tampon efficace entre pH 7 et 9 et augmente la stabilité des biomolécules comme l'acide nucléique est perturbé encore la perméabilité du paroi cellulaire **(Heikrujam et al., 2020)**.

IV.4. Tris-cl :

La solution tampon Tris-Cl est largement utilisée en biochimie et en biologie moléculaire pour maintenir une stabilité pH pour les biomolécules telles que les acides nucléiques et les protéines décompresser et l'hybridation de l'ADN .dynamique conformation elle de l'AND y compris les processus de flexion, de clivage et de respiration des protéines enzymatiques **(Lee et al., 2016)**.

IV.5. Tampon Tris-EDTA (TE)/eau stérile :

Il est prudent de stocker l'ADN dans un tampon qui maintient son pH et l'empêche de se dégrader. Le tampon TE contient Tris et EDTA, où Tris est le composant tampon et EDTA le composant chélateur. Pour l'isolement et la stabilité de l'ADN stocké dans l'eau, Le constituant trisamino du tampon TE a la capacité de protéger les brins d'ADN des dommages causés par les radiations **(Heikrujam et al., 2020)**.

L'eau stérile peut être utilisée pour le stockage de courte durée de l'ADN. Si le tampon TE est utilisé pour le stockage de l'ADN, il doit être dilué davantage avec de l'eau stérile pour diluer Teneur en EDTA **(Heikrujam et al., 2020)**.

IV.6. Dnase :

Les enzymes désoxyribonucléases (DNases) effectuent une variété de rôles cellulaires importants en dégradant l'ADN par hydrolyse de son squelette phosphodiester. Désoxyribonucléase I (DNase I) les enzymes clivent l'ADN simple ou double brin et nécessitent des ions métalliques divalents pour hydrolyser l'ADN donnant 3-hydroxyle et 5-produits phosphorylés. En revanche, la désoxyribonucléase II (DNase II) hydrolyse l'ADN à faible pH pour donner 3-phosphorylé et 5-produits hydroxylés **(Varela-Ramirez et al., 2017)**.

V. Généralité sur les gènes de résistance :

Tableau 13 : Les gènes de résistance chez *Proteus spp.*

Gène	Amorce	Oligonucléotideséquence (5′–3′)	Fragment size (bp)	Référence
Beta-lactams	TEM	(F)CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC (R)CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC	800	**(Prasastha Ram et al., 2022)**
	CITM	(F)TGG CCA GAA CTG ACA GGC AAA (R)TTT CTC CTG AAC GTG GCT GGC	462	**(Prasastha Ram et al., 2022)**
Tetracycline	tet(A)	(F)GGTTCACTCGAACGACGTCA (R)CTGTCCGACAAGTTGCATGA	577	**(Algammal et al., 2021)**

Tableau 14: les gènes de *Pseudomonas.*

Gène	Amorce	Oligonucléotideséquence (5′–3′)	Fragment size(bp)	Référence
Bêta-lactams	TEM	(F)CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC (R)CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC	800	**(Al-Agamy et al., 2016)**
Chloramphenicol	cmlA	(F)CCGCCACGGTGTTGTTGTTATC (R)CACCTTGCCTGCCCATCATTAG	698	**(Nairobi, 2006)**
Tetracycline	tet(A)	(F)GGTTCACTCGAACGACGTCA (R)CTGTCCGACAAGTTGCATGA	577	**(Algammal et al., 2020)**
Trimethoprime	dfrA1	(F)GGAGTGCCAAAGGTGAACAGC (R)GAGGCGAAGTCTTGGGTAAAAAC	367	**(Ebrahimi-shahabi, 2022)**

V.1. Bêta-lactamases de type TEM :

Il existe de nombreuses variantes de β-lactamases et elles ont été regroupées en fonction de la spécificité du substrat ou de la séquence protéique Une famille de β-lactamases largement diffusée est constituée des enzymes TEM codées par TEM-1 et ses gènes descendants **(Blazquez et al., 2000)**. Les β-lactamases de type TEM sont le principal mécanisme de résistance aux β-lactamines chez les micro-organismes entériques à Gram négatif. L'évolution et la propagation des β-lactamases chez ces bactéries semblent être la conséquence de l'évolution et de la consommation d'antibiotiques β-lactamines **(Blazquez et al., 2000)**. Les ESBL de type TEM sont des dérivés de TEM-1 et TEM-2. le TEM-1 a été signalé pour la première fois en 1965 à partir d'un isolat d'*Escherichia coli* provenant d'un patient à Athènes, en Grèce, nommé *Temoneira* (d'où la désignation TEM) **(Shakil et al., 2012)**.
Les β-lactamases TEM se composent désormais de centaines de variantes**(Clasen et al., 2019)**,appartenant à la classe Ambler A**(Arlet et al., 1995)**.

La première bêta-lactamase découverte chez les espèces de *Proteus* est probablement l'enzym TEM-1(F)CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC / (R)CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC **(Oliveira et al., 2019)**. Qui a été initialement isolée à partir *d'Escherichia coli* mais a ensuite été trouvée dans d'autres *Enterobacteriaceae*, y compris *Proteus spp*.**. (Jacoby, 2009)**.
La β-lactamase TEM-1 s'est répandue dans le monde entier et se retrouve maintenant dans de nombreuses espèces différentes de membres de la famille *Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa*,en 1969.*Haemophilus influenzae* et *Neisseria gonorrhoeae*.**(Livermore, 1995)**. TEM-1 est capable d'hydrolyser les pénicillines et les céphalosporines précoces telles que la céphalothine et la céphaloridine ainsi elles sont responsible pour la résistance à l'ampicilline et la penicilline. **(Lewis & Allen, 2001)**. Hydrolyse similaire de benzylpénicilline et céphalosporines **(Khanfar, 2017)**.

Haute résistance aux Oxapénames concernant l'association amoxicilline - acide clavulanique. Cette résistance pourrait s´expliquer par une baisse de l´activité de l´inhibiteur des bêta-lactamases (acide clavulanique), résultante d´une hyperproduction de pénicillinase, ou de l´inactivation de l´inhibiteur lui-même .Cela est probablement dû à la prescription souvent empirique de cette molécule particulièrement en médecine ambulatoire dans l'attente des résultats des ECBU. Les souches résistantes aux céphalosporines ont été représentées par les E-BLSE suivies des céphalosporinases de haut niveau (CHN) par ordre de fréquence **(Rakotovao-Ravahatra et al., 2017)**.

Le -TEM-2, est le premier dérivé de TEM-1, avait une seule substitution d'acide aminé par rapport à la β-lactamase originale . Cela a causé un décalage du point isoélectrique d'un pI de 5,4 à 5,6, mais n'a pas changé le profil du substrat. TEM-3, rapporté pour la première fois en 1989, était la première β-lactamase de type TEM qui présentait le phénotype ESBL . Depuis ce premier rapport, plus de 90 dérivés de TEM ont été décrits (pour les séquences d'acides aminés des β-lactamases à spectre étendu et résistantes aux inhibiteurs TEM, SHV et OXA, . Certaines de ces β-lactamases sont des enzymes résistantes aux inhibiteurs, mais la majorité des nouveaux dérivés sont des ESBL. **(Lewis & Allen, 2001)**.

TEM-20 est dérivé de TEM-1 et possède une adénine en position 914 provoquant une substitution d'acide aminé (sérine pour glycine) en position 238. Cette substitution était similaire à celle observée pour TEM-19**(Arlet et al., 1995)**.

Des études montre que les dérivées TEM-21 avait les mêmes substitutions d'acides aminés (impliquées dans l'extension du spectre) que TEM-3 et TEM-14. **(Arlet et al., 1995)**.

V.2. Bêta-lactamases de type CITM :

Les gènes de l'AmpC β-lactamase ont connu une large propagation et sont fréquemment observés dans les plasmides bactériens. En 1989, la première variante de l'AmpC codée par un plasmide a été découverte chez une souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée en Corée du Sud. Cette variante, appelée CMY-1 en raison de son phénotype associé à la céphamycine, était célèbre pour sa résistance remarquable à la cefoxitine **(Aryal et al., 2020)**.

CITM, DHAM, EBCM, FOXM et ACCM sont responsables du développement d'une résistance à large spectre à la plupart des β-lactamines (à l'exception de la céfépime et des carbapénèmes). De plus, l'acquisition de ces gènes par les bactéries peut renforcer davantage la résistance car les inhibiteurs des enzymes de classe A (tels que l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam) et le p-chloromercurobenzoate ne sont pas efficaces contre les β-lactamases AmpC, bien que certains d'entre eux puissent être inhibés par le tazobactam ou le sulbactam **(Aryal et al., 2020)**.

La découverte du gène bêta-lactamase DHA-1like_AmpC β-lactamase **(Coudron, 2005)** , représente une avancée significative dans le domaine de la microbiologie. Initialement identifié chez *Salmonella enterica* en Arabie Saoudite, avec une propagation ultérieure au Royaume-Uni et chez *Klebsiella pneumoniae*, ce gène ampC encodé par plasmide a récemment été détecté chez *P. mirabilis*. La première occurrence du gène DHA-1 ampC a été trouvée chez une femme enceinte de 34 ans admise à la maternité de l'hôpital Robert-Debre´ à Paris. L'isolement d'une souche de *P. mirabilis* résistante à la céphalothine à partir d'un prélèvement vaginal effectué après 37 semaines d'aménorrhée a conduit à la détection du gène DHA-1 ampC. L'amplification du gène a été réalisée à l'aide de des amorces spécifiques **(Bidet et al., 2005)**. PCR pour détecter la présence de la DHA-1like AmpC bêta-lactamase chez les souches de *Proteus mirabilis* isolées à partir d'échantillons cliniques **(Coudron, 2005)**,à savoir DHA upper1 (5'-CTCATCCTCCATAAAACAGC-3') et DHA lower1 (5'-TTATCTCACACCTTTATTACT-3').Cette découverte révolutionnaire met en lumière la prévalence et la propagation de la résistance aux antibiotiques chez différentes souches bactériennes **(Bidet et al., 2005)**.

V.3. Chloramphénicol de type cmlA :

Une étude récente menée sur des souches d'*Escherichia coli* bêta-hémolytiques isolées de porcs atteints de diarrhée a révélé que 53% des isolats étaient résistants au chloramphénicol. Cette substance est un antibiotique interdit d'utilisation chez les animaux destinés à la consommation aux États-Unis depuis le milieu des années 1980. Pour étudier les facteurs responsables de la persistance de la résistance au chloramphénicol en l'absence de pression de sélection spécifique, l'étude a examiné l'emplacement du gène de résistance au chloramphénicol cmlA et son lien avec d'autres déterminants de résistance. Une autre étude menée sur des souches d'*Escherichia coli* entérotoxinogènes isolées en 1998 chez des porcs atteints de diarrhée a également rapporté que 53% des isolats étaient résistants au chloramphénicol. Cependant, les données de sérotypage et de ribotypage ont indiqué que le taux élevé de résistance au chloramphénicol chez les isolats *d'Escherichia coli* porcins ne représentait pas l'expansion clonale d'une seule souche résistante, mais plutôt la diffusion du gène de résistance au chloramphénicol cmlA parmi des souches génétiquement diverses *E.coli* **(Bischoff et al., 2005)**.

Le premier gène identifié c'est le catB en1984 **(Bhattacharya et al., 2018)** ,catB1, a été isolé du chromosome d'une souche résistante à la Cm d'*Agrobacterium tumefaciens.*

Une séquence ouverte de lecture (ORF) trouvée dans les chromosomes de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 et PA103 partage une identité significative avec les gènes catB1 .Cette ORF a été initialement identifiée dans la séquence qui code le gène regB de *P. aeruginosa* PA103 et a été nommée *Ps* ORF **(White et al., 1999)**.

L'homologue catB a été amplifié à partir du chromosome de la souche *P. aeruginosa* PAO222 à l'aide des amorces HS240 (5P-GGGGATCCTATGGGCAACTATTTCGAG-3P) et HS241 (5P-GGGGATCCATCAGGCCGAGGCCTGGCG-3P) **(White et al., 1999)**.

V.4. Trimithoprime de type dfrA1:

Le gène dFrA1 soit associé à la résistance au triméthoprime :été identifié et caractérisé pour la première fois par des chercheurs au milieu des années 1980, et la séquence d'amorce GGAGGTGCCAAAGGTGAACAGC a été publiée pour la première fois en 1993 par Poole et al **(Ringold et al., 1981)**.

DfrA1, en particulier, est une variante de dihydrofolate réductase (DHFR) résistante à l'antibiotique triméthoprime, couramment utilisé pour traiter les infections bactériennes.

DfrA1 est l'un des différents types d'enzymes DHFR qui ont été identifiés dans les bactéries, et ces enzymes sont souvent classées en groupes en fonction de leurs séquences d'acides aminés et de leur résistance à des antibiotiques spécifiques ; elles jouent un rôle essentiel dans la synthèse du tétrahydrofolate, nécessaire à la synthèse de l'ADN et à la division cellulaire..**(Schmidt et al., 2015)**.

V.5. Tétracycline de type tetA :

Les gènes codant pour la résistance à la tétracycline (Tc) sont couramment présents chez différentes espèces bactériennes dans divers habitats, et sont souvent encodés sur des plasmides. Cinq classes différentes de gènes de résistance à la tétracycline, désignées sous les types tet A-E, ont été décrites. Des sondes spécifiques pour chacune de ces classes ont été développées et se sont révélées utiles dans de nombreuses études épidémiologiques **(J. Schmidt et al., 2015).**

Les pompes à efflux de tétracycline sont des transporteurs membranaires qui éliminent activement les antibiotiques tétracyclines de l'intérieur de la cellule bactérienne vers l'espace extracellulaire, conférant la résistance à ces antibiotiques. Ces pompes ont été classées en sept groupes différents en fonction de leurs séquences d'acides aminés et de similitudes dans le nombre de fois qu'elles traversent la membrane interne. Les pompes les plus courantes sur le plan clinique appartiennent soit au groupe 1, soit au groupe 2. Les pompes du groupe 1, qui comprennent tet(A) et tet(B), sont les pompes tétracyclines les plus couramment trouvées dans les isolats cliniques de Gram négatif. . Les pompes du groupe 2, qui comprennent tet(K) et tet(L), possèdent 14 segments transmembranaires et sont les pompes à efflux spécifiques de tétracycline les plus courantes dans les isolats cliniques de Gram positif. Les pompes tet(A), tet(B) et tet(K) sont toutes capables de reconnaître la tétracycline, la minocycline et la doxycycline. Alors que la surexpression de tet(B) et tet(K) n'a eu aucun effet sur la tigécycline et l'érvacycline. Les pompes assignées aux groupes 3 à 7 comprennent des pompes moins fréquentes sur le plan clinique **(Grossman, 2016)**.

En 1980, Mendez et al. ont examiné pour la première fois l'hétérogénéité génétique des déterminants de résistance à la tétracycline des plasmides provenant de membres des *Enterobacteriaceae*et des *Pseudomonadaceae.* Ils ont utilisé l'analyse par enzymes de restriction, l'hybridation ADN-ADN et l'expression de la résistance à la tétracycline et à divers analogues pour catégoriser les plasmides résistants à la tétracycline (Tcr) **(CHOPRA & ROBERTS, 2001)**.

Ils ont décrit quatre déterminants distincts, désignés classes A, B, C et D, parmi les Entérobactéries **(JONES et al., 1992)** ,Le déterminant de classe A a été plus fréquemment trouvé chez les *Pseudomonas* et *Aeromonas* **(Marshall et al., 1986)**la séquence d'amorce codant pour la tet(A) à savoir la séquence sens GGTTCACTCGAACGACGTCA et reverse CTGTCCGACAAGTTGCATGA **Algammal et al., 2020)**.

CHAPITRE 4 : EPIDÉMIOLOGIE

I. Epidémiologie :

Alors que Les infections nosocomiales et communautaires sont des causes majeures de décès chez les individus, et les données sur l'épidémiologie de ces infections chez les patients est cruciale pour la prévention de la résistance aux antibiotiques.

Cette étude, ont été cherché à déterminer la prévalence de la résistance bactérienne aux antibiotiques en Algérie et dans le monde entier, en se concentrant sur les gènes de résistance dans les espèces bactériennes multi résistantes de *Proteus spp et Pseudomonas spp.*

Cette analyse a été réalisée en utilisant la biologie moléculaire pour caractériser le génotype de ces souches.

I.1. *proteus spp :*

I.1.1. En Afrique :

Tableau 15: épidémiologie des gènes de résistance TEM-1 de *Proteus* en Afrique.

Espèces	Pays	Années	nbr des souches	Le gène	% des gènes	Le type du prélèvement	BLSE	Référence
Proteus mirabilis	Algerie	2011	N=97/108	TEM-1	26,85 %	Nosocomial ; Pus,Urine Sonde,Cathéter	62.09 (100%)	**(Leulmi et al., 2019)**
Proteus vulgaris	Algérie	2011	*N:1/108*	TEM-1	0.93%	/	0.93 (100%)	
Proteus mirabilis	Nigeria	2011	N=29/108	TEM-1	48.3%	blessure, oreille, œil, prélèvements vaginaux, urine, crachats, effluents péritonéaux, abcès des doigts, pus et selles	/	**(Alabi et al., 2017)**

1-En Algérie, des études ont été menée pour évaluer la prévalence de la résistance aux antibiotiques chez les souches de *Proteus mirabilis et Proteus vulgaris* isolées à partir de patients hospitalisés et non hospitalisés étaient par la suite 65.98% 25.77% 10.31% pour les AMX, AMC, CTX respectivement.

A l'aide de PCR conventionnelle Les résultats ont montré que 26,85% des souches de *Proteus mirabilis* et 0,93% des souches de *Proteus vulgaris* étaient positives pour la présence de blaTEM-1. De plus, une résistance aux céphalosporines à spectre élargi et les gènes codés pour les carbapénèmases a été observée chez ces souches.

L'étude de 2011 a également mis en évidence les facteurs génétiques impliqués dans la résistance aux antibiotiques chez les souches de *Proteus spp*. Il est donc important de formuler des stratégies de traitement efficaces pour réduire les infections urinaires causées par ces souches résistantes. **(Leulmi et al., 2019)**.

2- En 2011, des études ont été menées au Nigeria pour évaluer la prévalence de la résistance aux antibiotiques chez les souches de *Proteus mirabilis* isolées à partir de blessures, d'oreilles, d'yeux et de prélèvements vaginaux…. Les résultats ont révélé que 64,8 % étaient résistantes au triméthoprime-sulfaméthoxazole, 53,7 % étaient résistantes à l'amoxicilline, 33,3 % résistantes à l'acide nalidixique, 26,9 % pour les céfotaxime, 24,1 % gentamicine, 15,7 % ceftazidime, 14,8 %) l'amoxicilline-acide clavulanique, 13,9 % l'aztréonam, 6,5 % ciprofloxacine, 4,6 % céfoxitine, 4,6 % l'amikacine et 1,9 % pour l'imipénème. **(Alabi et al., 2017)**.

De plus, une technique de PCR multiplexe a été utilisée pour détecter la présence du gène bla$_{TEM-1}$, Les résultats ont montré que 48,3 % des souches étaient positives pour la présence de ce gène. Cette résistance été attribuée à l'utilisation de béta-lactamines surtout céphalosporines de troisième génération dans le traitement des infections urinaires **(Alabi et al., 2017)**.

I.1.2. En Asie :

Tableau 16: épidémiologie des gènes de résistance TEM-1 de *Proteus* en Asie.

Espèces	Pays	Années	nbr des souches	Le gène	%des gènes	le type du prélèvement	BLSE	Référence
Proteus mirabilis	inde	2017	N =16/80	TEM-1	37, 5 %	2/10 porc 8/25 viande de poulet 6/45 poulet cloacal	37.5 (100%)	**(Sajjan, 2022)**
	Chine	2019-2020	N=53	TEM-1	83.02 %	isolé de Renards, Rac-coons, Visons	/	**(Lv et al., 2022)**

1-En Inde, en 2017, un total de seize isolats de *Proteus mirabilis* ont été obtenus à partir de 80 échantillons, comprenant des écouvillons de poulet, de porc et de cloaque de poulet. Sur ces échantillons.La plupart des isolats de *Proteus mirabilis* ont montré une sensibilité à céfotaxime (87,50%), gentamicine (56,25%) et Amoxiclave (50%) **(Sajjan, 2022)**.

La présence des gènes de blaTEM-1 chez *Proteus mirabilis* a été confirmée par PCR multiplexe ,le gène a été détecté dans six isolats, représentant 37, 5 % des isolats totaux.

La présence de *Proteus mirabilis* dans la viande pourrait poser un problème potentiel en termes de sécurité alimentaire et pourrait contribuer à la propagation de la résistance aux antimicrobiens parmi les autres membres de la famille des *Enterobacteriaceae*. **(Sajjan, 2022)**.

2- En Chine, en 2019, 53 isolats de *Proteus spp* ont montré un taux élevé de résistance aux antibiotiques. Les résultats étaient les suivants: Imipenème : (71,70 %), Céfotaxime : (49,06 %), Enrofloxacine (64,15 %),Ampicilline : (63,46 %),Gentamicine : (50,94 %). Les taux de résistance aux carbapénèmes sont généralement extrêmement faibles chez les isolats cliniques de *P. mirabilis*. Cependant, environ 71,70 % des isolats provenant de renards, de ratons laveurs et de visons étaient résistants à l'imipenème **(Lv et al., 2022)**.

De plus, l'utilisation de la PCR classique permet de détecter un taux de (83,02 %) du gène blaTEM, Ces résultats soulignent également la prévalence de la résistance aux antibiotiques chez *Proteus spp* en Chine en 2019, ce qui constitue une préoccupation majeure en termes de santé publique **(Lv et al., 2022)**.

Tableau 17: épidémiologie des gènes de résistance tet(A) de *Proteus spp* en Asie.

Espèces	**Pays**	**Années**	**nbr de souches**	**Le gène**	**% des gènes**	**Le type du prélèvement**	**Référence**
Proteus spp	Iran	2021	*N=260*	tet (A)	*P.mirabilis* 72, 41% *P.vulgaris* 77,47%	72 =homme et 188 =femme.	**(Talebi et al., 2023b)**

1- En Iran en 2021. Sur 260 échantillons isolés, 72 isolats d'hommes et 188 isolats de femmes au cours des quatre saisons ont été isolés. Les femmes avaient plus de résistance à certains antibiotiques que les hommes, selon les conclusions contre le *P.vulgaris.* La pénicilline (100 %), la tétracycline (100 %), la gentamycine (80,18 %) et l'ampicilline (72,97 %) avaient les taux les plus incroyables de résistance aux antibiotiques dans le groupe des femmes, tandis que le chloramphénicol (14,28 %), l'enrofloxacine (14,28 %), la nitrofurantoïne (7,02 %) et le chloramphénicol (8,10 %) avaient les taux les plus bas. Dans les groupes masculins et féminins, les résultats ont indiqué que le *P.vulgaris* et *P.mirabilis* étaient totalement résistants aux antibiotiques tétracyclines et pénicilline **(Talebi et al., 2023b)**.

A l'aide de PCR multiplex 72, 41% du gène tet(A) a été détecté chez *Proteus mirabilis* et (77,47%) chez les *Proteus vilgaris* **(Talebi et al., 2023b)**.

La résistance aux antibiotiques s'est avérée plus élevée chez les femmes que chez les hommes chez les *Proteus* isolés.

Les femmes âgées de 10 à 20, 30 à 40, 40 à 50 ans et au-delà de 50 ans sont plus susceptibles de développer *P. mirabilis et P. vulgaris.*

Les isolats de *Proteus* provenant d'infections urinaires sont liés aux variations saisonnières. Cependant, le fond génétique peut jouer un rôle dans la prédiction de la résistance et peut marquer le risque élevé ou faible d'apparition d'une résistance **(Talebi et al., 2023b)**.

Tableau 18: épidémiologie des gènes de résistance CITM de *Proteus* en Asie.

Espèces	**Pays**	**Années**	**Nbr des souches**	**Le gène**	**% des gènes**	**Le type du prélèvement**	**Référence**
	Corée de sud	2017-2020	*N:45*	CITM	28.9%	*N:45* *Chiens et chats*	(**C. Kim et al., 2021)**

3-En Corée du sud, En 2017-2020. La résistance aux antibiotiques étaient par la suite : pour les chiens : Cefoxitine 60.5% cefotaxime12.4%, ceftazidime9.3%, cefepime 0.8% azetroenam10.9% et pour les chats : était 60%,20%,20%,0% pour les cefotaxime, ceftazidime, cefepime, azetroenam respectivement.

La présence de gène de CITM chez les *Proteus mirabilis* a été confirmée par PCR classique,13 des 21 isolats de chiens et de chats (28,9%) testés positifs, ce particulier espèce est connue pour être très sensible aux céphalosporines, la majorité des spécimens ont été prélevés les animaux admis à l'hôpital qui ont éventuellement été traités avec antibiotiques. Mais, La Pression sélective générée par les thérapies aux céphalosporines auraient entraîné une augmentation AmpC produisant *mirabilis*.

Un taux élevés de résistance à la céfoxitine dans les échantillons de chiens et de chats hospitalisés et errants peut indiquer une tendance à la hausse de la résistance à l'AmpC l'avenir, car le dépistage des gènes AmpC par la céfoxitine est aussi couramment pratiquée. **(C. Kim et al., 2021)**.

I.1.3. En Europe :

Les infections imputables aux bactéries du genre *Proteus* sont observées partout dans le monde. Font partie de la flore intestinale normale de l'humain et sont aussi ubiquistes dans l'environnement; on les retrouve entre autres chez les animaux de même que dans le sol et l'eau polluée. Ils sont souvent en cause dans les infections des voies urinaires nosocomiales de même qu'acquises dans la collectivité; en Europe. *Proteus penneri* présente une plus grande résistance à la pénicilline que *P.vulgaris*. Une résistance aux β-lactamases émerge actuellement chez les bactéries du genre *Proteus spp* **(B. Kim et al., 2011)**.

Tableau 19: épidémiologie des gènes de résistance TEM-1 de *Proteus* en Europe.

Espèces	**Pays**	**Années**	**nbr de souches**	**Le gène**	**% des souches**	**Le type du prélèvement**	**BLSE**	**Référence**
Proteus mirabilis	France	**2019**	N=3/38	TEM-1	7.9%	d'urine, hémocultures,cutanéo-muqueux cathéters ,respiratoires ,génitaux (n = 3) et abcès et drainage (n = 14)	/	**(Lombes et al., 2022)**
	Espagne	**2000-2005**	N=17	TEM-1	5,88 %	Cultures de routine à l'hôpital.	5.88%	**(Aragón et al., 2008)**

1-En France, en 2019, une étude portant sur 38 isolats de *Proteus mirabilis* provenant d'infections nosocomiales a étaient réalisée, la résistance étaient pour l'amoxicilline, à la ticarcilline et à la pipéracilline sans rétablissement de la sensibilité lorsqu'elle est associée au clavulanate ou au tazobactam **(Lombes et al., 2022)**.

Ces isolats ont été analysés à l'aide de la PCR conventionnelle. Les résultats ont révélé que 7.9 % des isolats (3/38) étaient positifs uniquement pour le gène blaTEM-1, la résistance aux bêta-lactames pourrait être due à la production de haut niveau d'une pénicillinase ou à l'expression d'une oxacillinase , l'amoxicilline-acide clavulanique **(Lombes et al., 2022)**.

2-En Espagne, de 2000 à 2005, des isolats ont été obtenus à partir de cultures de routine à l'hôpital. la résistance aux antibiotique étaient comme cela (45%) résistants à l'ampicilline, (1,2%) avaient une résistance intermédiaire ou totale au co-amoxiclave, (0,2%) aux céphalosporines de troisième génération (toutes les BLSE étaient positives) et (0,4%) aux deux co-amoxiclave et céphalosporines de troisième génération **(Aragón et al., 2008)**.

En utilisant la PCR classique, la caractérisation des bêta-lactamases de 17 isolats de P*roteus mirabilis* a permis de déterminer la résistance d'un isolat TEM-1 sur les 17 isolats (5,88 %). Cette résistance pourrait être due à une éventuelle hyperproduction associée à d'autres mécanismes, ce qui expliquerait sa résistance au co-amoxiclave. **(Aragón et al., 2008)**.

II. *Pseudomonas spp :*

II.1. En Afrique :

Au cours des dernières décennies, il y a eu une augmentation mondiale spectaculaire des agents pathogènes multi-résistants (BMR), en particulier parmi les bactéries Gram-négatives. *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de diverses infections associées aux soins de santé, tandis que le BMR *P.aeruginosa* provoque une morbidité et une mortalité importantes. Le Moyen-Orient et l'Afrique du Nord (MENA) représentent une région géographique inexplorée pour l'étude de la résistance aux médicaments, car bon nombre de ces pays sont à la croisée d'un volume élevé de voyages, de populations d'expatriés diversifiées et d'une consommation élevée d'antibiotiques bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) qui ciblent les parois cellulaires bactériennes fait partie intégrante de ses mécanismes de résistance malgré les tentatives de mise en œuvre de programmes de gestion des antimicrobiens.

Prévalence de BMR *P. aeruginosa*. Dans la région MENA, Il existe de grandes variations régionales et interrégionales dans la prévalence signalée de *P.aeruginosa* multi-résistante à

partir d'échantillons cliniques généraux avec la prévalence la plus élevée en Égypte (75,6 %) et la prévalence la plus faible au Maroc (0 %).

Bien que les études génomiques soient essentielles pour comprendre l'épidémiologie de l'Afrique , y compris la BMR *P. aeruginosa* **(Al-Orphaly et al., 2021)**.

Tableau 20: épidémiologie des gènes de résistance TEM-1 de *pseudomonas spp* en Afrique.

Espèces	**Pays**	**Années**	**nbr de souches**	**Le gène**	**%des gènes**	**Le type du prélèvement**	**BLSE**	**Référence**
pseudomonas aeruginosa	sudan	2017	N=80	TEM-1	19 (44.2%)	IUs	53.8%	**(Abdelrahman et al., 2022)**
	Égypte	2011	N=35/51	TEM-1	20 (39.2%)	brûlures des isolats	39.2%	**(Rafiee et al., 2014)**
	Ghana	2015-2016	N=640	TEM-1	Négative	276 de volaille Échantillons de selles, d'urine et de sang de 364 patients ont été échantillonnés au hasard parmi les deux hôpitaux.	34.2%	**(Odoi et al., 2021)**

1-En soudan, la-résistant au céfotaxime, au chloramphénicol et à la ceftazidime était de (88,8 %), (88,8 %) et (57,5 %), résistants à l'Imipenème. Cette découverte peut indiquer que la résistance aux carbapénèmes est en augmentation dans les isolats de *P.aeruginosa* du Soudan. (28,8 %) et (23,8%) des isolats cliniques de *P.aeruginosa* étaient résistants à la ciprofloxacine et à la gentamicine respectivement.

A l'aide des études par PCR multiplex la prévalence aux gènes de TEM-1 été (44.2%).
La Production de β -lactamases est l'un des mécanismes les plus courants de résistance aux β-lactamines. Tous les isolats cliniques de *P.aeruginosa* testés dans notre étude étaient résistants à l'amoxicilline et à l'amoxicilline/acide clavulanique, ce qui peut être dû à une mauvaise utilisation des antibiotiques au Soudan *P. aeruginosa* isolée du sang inutile pour traiter cette bactérie **(Abdelrahman et al., 2022)**.

2-En Égypte, les taux de résistance étaient :(98 %) pour amikacine, céfépime et ciprofloxacine (96 %), méropéneme (94 %), ceftazidime (92 %) et pipéracilline/tazobactam (88 %). Les résultats ont montré une résistance de 88,2 % à la ceftazidime et de 98 % à l'imipenème.

La production de blaTEM-1était plus élevée (39,2 %) peut être due à l'utilisation intensive de carbapénèmes pour traiter les *P.aeruginosa* productrices de BLSE a entraîné une augmentation des niveaux de résistance bactérienne **(Rafiee et al., 2014)**.

3-A Ghana, en 2015 un Nombre *de P.aeruginosa* résistants aux différents groupes anti-pseudomonaux (quinolones, carbapénèmes, aminoglycosides, pénicilline, céphalosporine et monobactames).

L'étude génotypique ce fait a l'aide de PCR de routine, ont été montré que le gène TEM-1 des BLSE n'ont également été détectés dans aucun des isolats. Même si certains gènes courants résistants aux antibiotiques β-lactamases n'ont pas été détectés Cela indique que d'autres gènes codant pour la β-lactamase, qui ont été trouvés chez *P.aeruginosa* d'autres régions géographiques **(Odoi et al., 2021)**.

Tableau 21 : épidémiologie des gènes de résistance tet(A) de *pseudomonas spp* en Afrique.

Espèces	**Pays**	**Années**	**% des souches**	**Le gène**	**Le type du prélèvement**	**Référence**
pseudomonas spp	Égypte	2018	N=68	tet (A) 75.6%	Le foie	**(Algammal et al., 2020)**

1-En Égypte en 2018,létude phénotypique de la résistance aux antibiotique été comme la suite ,Ofloxacin8.89% , Amoxicillin 83.3% ,Cefotaxime77.7 , %Tetracycline75.6% Levofloxacin 14.44 % ,Gentamicin67.6 % ,Norfloxacin 4.44% , Tobramycin 22.2% , Colistine sulfate 0% .

alors que pour la prévalence des gène de tet(A) le génotypage été réalisée par PCR conventionnelle ,les résultats montre que 75.6% été résistant aux gène tet (A) La présence de ce gènes explique la résistance phénotypique des souches de *P.aeruginosa* testées la tétracycline **(Algammal et al., 2020)**.

II.2. En Asie :

L'Asie du Sud-Est est considérée comme un "point chaud" de bactéries résistantes aux antibiotiques et *P.aeruginosa* a été identifié comme une cause fréquente d'infections nosocomiales.

Selon les statistiques menées en 2016, 36% des isolats de *P.aeruginosa* au Vietnam étaient résistants aux carbapénèmes, ne se classant qu'en deuxième position après l'Inde. Cependant, peu d'informations sont disponibles sur les génotypes de *P.aeruginosa* et les types de gènes de résistance aux antibiotiques circulant au Vietnam. Ces informations sont importantes car les séquences de types (ST) de *P.aeruginosa* associées aux gènes de résistance aux antibiotiques diffèrent considérablement entre les communautés, les hôpitaux et les pays. Une étude menée dans un hôpital de Hanoi, au Vietnam, a signalé la présence d'une carbapénémase **(Tran et al., 2021)**.

Tableau 22: épidémiologie des gènes de résistance TEM-1 de *Pseudomonas spp* en Asie.

Espèces	**Pays**	**Années**	**% de souches**	**Le gène**	**%des gènes**	**Le type du prélèvement**	**BLSE**	**référence**
Pseudomoas spp	inde	2009	N =42	TEM-1	89,47 %	7 ;écouvillon 8: tissu chez (UPDs)	89.47 %	**(Algammal et al., 2020)**
	Iran	2018	N=120	TEM-1	56.6%	IU	56.6%	**(Shams et al., 2019)**

1-En Inde, une PCR multiplex pour bla TEM-1 a été effectuée .parmais les 42 isolats La majorité des multi-résistants (BMR) de *Pseudomonas spp***.** étaient positifs pour blaTEM-1 (89,47%).Des échantillons de prélèvements de 42 patients atteints de pied diabétique infecté. La présence d'intégrons de classe 1 a également été détectée. Les β-lactamases sont spécifiquement induites lors de la croissance de souches (BMR). Étant donné que la prévalence mondiale des bactéries résistantes aux antibiotiques est en augmentation et peut constituer une menace sérieuse pour la santé humaine, des études supplémentaires sur les intégrons et leurs cassette de gènes associées sont nécessaires pour comprendre les mécanismes d'acquisition des gènes dans les isolats cliniques. Les résultats de cette étude pourraient fournir des informations utiles pour la sélection d'antibiotiques potentiels et la prise en charge des UPDs s chez les patients diabétiques **(Shahi & Kumar, 2016)**.

2- En Iran, Les isolats de *P. aeruginosa* ont montré la plus grande résistance à la tétracycline (97,5 %) et à l'amoxicilline (95 %), ainsi que la plus grande sensibilité à l'aztréonam (97,5 %) et à l'amikacine (61,66 %).

L'étude par PCR Conventionnelle montre que: 68 échantillons de *P. aeruginosa* (56,6 %) contenaient un gène TEM-1.

Cela remontre a la propagation alarmante des agents pathogènes producteurs de BLSE est un facteur de complication des thérapies antimicrobiennes. Il est donc essentiel d'employer divers stratégies dans la surveillance de la propagation de ces agents pathogènes **(Shams et al., 2019)**.

Tableau23 : épidémiologie des gènes de résistance dfrA1 de *pseudomonas spp* en Asie.

Espèces	**Pays**	**Années**	**nbr des souches**	**Le gène**	**% des gènes**	**Le type du prélèvement**	**Référence**
pseudomonas spp	Iran	*2016 - 2017*	N:30/75	dfr1	66%	IUs	**(Ebrahimi-shahabi, 2022)**

1-En Iran, la résistance aux antibiotiques CTX, TM, GM, CPM, CIP, IMI et Ak étaient de 100, 96,7, 96,7, 90,63,3, 56,7, 40, 40 et 3,3 %, respectivement. La détection du gène dfr1 dans les souches de *Pseudomonas spp* de 12 souches par PCR classique a révélé une présence de 66% du gène dfr1, plus précisément de la variante dfrA1.

L'étude souligne l'importance de la résistance innée et acquise aux agents antimicrobiens dans la contribution au taux de mortalité des patients atteints d'infections à *Pseudomonas spp*. La section de discussion attire l'attention sur le développement de cassettes de gènes d'intégrons dans le contexte d'infections nosocomiales et leur relation significative avec la résistance aux antibiotiques. L'étude de 2016 à 2017, et met également en évidence les facteurs génétiques impliqués dans la résistance aux antibiotiques chez les souches de *Pseudomonas spp,* ainsi que les implications potentielles pour les résultats des patients **(Ebrahimi-shahabi, 2022)**.

II.1.3. En Europe :

Tableau 24: épidémiologie des gènes de resistances TEM-1de *pseudomonas spp* en Europe.

Espèces	**Pays**	**Années**	**Nbr des souches**	**Le gène**	**% des gènes**	**le type du prélèvement**	**BLSE**	**Référence**
pseudomonas spp	Romanie	2015	N =499	TEM-1	19,6 %	sources d'eau urbaines	/	**(Butiuc-Keul et al., 2021)**

En novembre 2015, une étude a été menée en Roumanie sur 499 isolats de *Pseudomonas spp*. Prélevés dans des sources d'eau urbaines. Les souches conférant une résistance aux pénicillines étaient détectées dans 27,45%.

Les chercheurs ont utilisé la technique PCR directe à cette fin. Il a été découvert que 19,6 % des isolats portaient le gène blaTEM-1, indiquant ainsi un potentiel de résistance aux β-lactamines. chez les isolats de *Pseudomonas putida*.le blaTEM-1 *été* plus fréquente **(Butiuc-Keul et al., 2021)**.

Tableau25: épidémiologie des gènes de résistance tet(A) de *pseudomonas spp* en Europe.

Espèces	**Pays**	**Années**	**nbre de souches**	**Le gène**	**% des gènes**	**Le type du prélèvement**	**Référence**
pseudomonas spp	Romanie	2015	N =499	tet(A)	9.09%	sources d'eau urbaines	**(Butiuc-Keul et al., 2021)**

1- En novembre 2015, une étude a été menée en Roumanie sur 499 isolats de *Pseudomonas spp*. Prélevés dans des sources d'eau urbaines. Pour la résistance aux antibiotiques Des 18, 18 % de ARG de famille tétracycline ont étaient trouvé.

De plus, il a été découvert que 9,09 % des isolats possédaient le gène tet(A), La distribution du cette gène était plus fréquente chez les isolats de *Pseudomonas aeruginosa*.

L'étude a également mis en évidence l'impact de ces bactéries résistantes aux antibiotiques sur la santé animale et humaine, en particulier par le biais de la contamination de l'eau. Une multi résistance à sept antibiotiques a été observée chez une petite proportion d'isolats provenant de l'effluent de la station de traitement des eaux usées et des eaux de surface en aval de la ville Dans l'effluent hospitalier, 2,27 % des isolats étaient résistants à six antibiotiques.

Il est intéressant de noter que la présence d'isolats de *Pseudomonas* résistants était moins fréquente dans les sources d'eau potable et les eaux usées traitées par rapport à l'effluent des eaux usées et aux eaux de la rivière en aval. Cela souligne l'importance d'une gestion efficace des ressources en eau en Roumanie pour faire face à la forte incidence des gènes de résistance aux antibiotiques portés par des bactéries présentes dans l'eau, telles que *Pseudomonas spp*. **(Butiuc-Keul et al., 2021)**.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Matériel et méthode

I. Lieu et durée de l'étude :

Notre étude ont été réalisée au sein du laboratoire microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des Yahia frères à Médéa, se forme d'une enquête exhortatif, Elle s'est étalée sur une période de deux mois.

II. L 'objectif du travail :

L'objectif de ce présent travail est la Caractérisation moléculaire des isolats de *Pseudomonas spp.*et *Proteus spp.* Provenant de prélèvements cliniques à Médéa ayant l'analyser les gènes de résistance associés.

III. Collection des souches :

Au total, 28 souches nosocomiales et communautaires ont été prélevées et identifiées à partir de plusieurs prélèvements (urine, pus, LCR). Parmi ces souches, 16 ont été identifiées comme *Proteus spp* et 11 souches comme *Pseudomonas.* Pour les souches de *Proteus*, il y a eu 14 prélèvements d'ECBU et 2 prélèvements de pus, tandis que pour les Pseudomonas, il y a eu 7 prélèvements d'ECBU, 3 prélèvements de LCR et 1 prélèvement de pus. Quelques colonies ont été prélevées et mises dans un mélange de 1 ml de milieu de conservation composé de 50% de BHIB et 50% de glycérol, puis conservées à -20°C jusqu'à l'analyse microbiologique au laboratoire.

IV. Préparation des solutions d'extraction d'ADN :

Plusieurs solutions sont utilisées pour mettre au point le protocole d'extraction d'ADN adapté selon des collections de protocoles de laboratoire d'Andrew Binns à l'Université de Pennsylvanie (États-Unis).

La préparation des solutions utilisé comprennent le milieu LB, le tampon Tris-Cl, l'EDTA, le tampon de lyse et le tampon TE et autres.

Toutes les solutions ont été stérilisées par autoclavage à 121 °C pendant 1 heure avant utilisation.

IV.1. La préparation du milieu LB (pour 1L) :

Le milieu LB ont été préparé en pesant la quantité requise des ingrédients suivants: 10g de tryptone, 5g d'extrait de levure et 11,7g de NaCl, qui ont été ensuite versés dans un bicher stérile. L'ajout précis de l'eau distillée ont été effectué jusqu'à ce que le volume total atteigne 1 litre. Le milieu ont été ensuite agité sur une plaque agitatrice à froid jusqu'à ce qu'il soit homogène **(Fanglian, 2011)**.

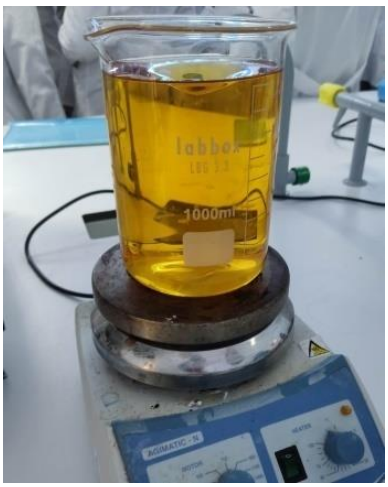


Figure 3: préparation de milieu LB **(photo personnel).**

IV.2. La préparation de l'EDTA (pour 100ml) :

L'EDTA (18.61g) ont été mélangé avec 80ml d'eau distillée dans un bicher, et le milieu ont été chauffé dans un micro-onde pendant quelques minutes avant ont été placé sur une plaque agitatrice. L'ajustement du pH est réalisé en ajoutant du NAOH jusqu'à un pH égal de 8, et le volume du milieu ont été complété avec de l'eau distillée. **(Fanglian, 2011)**.

IV.3. La préparation de Tris-CL (pour 100ml) :

12.11g de la base de tris sont ajoutés à 80ml d'eau, puis le pH ont été ajusté à 8 en ajoutant 4.2ml d'HCL. Le volume total ont été complète avec de l'eau distillée. **(Fanglian, 2011)**.

1V.4. La préparation de TE (pour 100ml) : 1ml de Tris-CL est mélangé avec 0.2ml d'EDTA, puis le volume ont été complété avec 98.8ml d'eau distillée. **(Fanglian, 2011)**.

1V.5. La préparation Tampon de lyse (pour 100ml) :

93,4 ml de Tampon TE ont été mélangés avec 0,17 ml de SDS. Ensuite, 600 µl de protéinase k ont été ajoutés à la solution pour finaliser le tampon de lyse. **(Fanglian, 2011)**.

Autre solutions :

1V.5. Préparation de phénol :

La préparation de phénol a été effectuée avec précaution et les consignes de sécurité doivent être strictement respectées. Il est essentiel de porter des équipements de protection individuelle tels que des lunettes de sécurité, des gants et une blouse de laboratoire, et de manipuler sous une hotte chimique.

Une solution de phénol a été préparée en mesurant 150 ml d'eau distillée dans un bécher en verre, dans lequel des cristaux de phénol ont été ajoutés. Le mélange ont été agité doucement sur une plaque agitatrice jusqu'à ce que le phénol soit complètement dissous, formant une phase inférieure bleu-violet indiquant une saturation élevée qui ne permet plus la dissolution totale des cristaux. La solution ensuite ont été transférée dans un flacon bien fermé et laissée reposer quelques minutes pour permettre la formation de deux phases distinctes : une phase supérieure contenant le phénol saturé et une phase bleu-violet plus saturée.

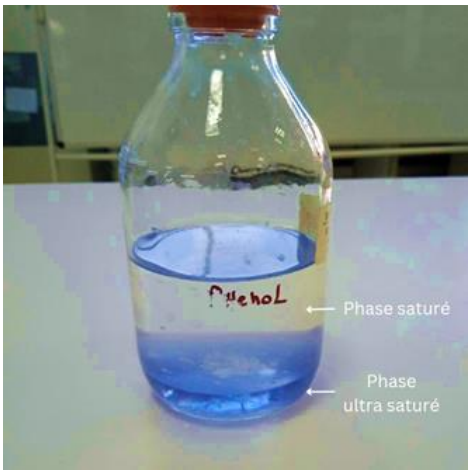


Figure 4: les deux phases de phénol précipité **(photo personnel).**

V. **Protocol d'extraction de l'ADN :**

Tout d'abord les souches conservées ont été repiquées sur des milieux Hektoen et GN, puis incubées à 37°C pendant 24 heures. Quelques colonies ont été prélevées et cultivées dans un tube eppendorf de 1,5 ml contenant du bouillon LB. Le mélange ont été vortexé puis incubé toute la nuit à 37°C dans un bain-marie sec. Après la suit, les cultures de nuit de *Proteus spp* et *Pseudomonas* ont été centrifugées à une vitesse de 12 000 tours pendant4 minutes. Le surnageant a été éliminé sans toucher le culot.

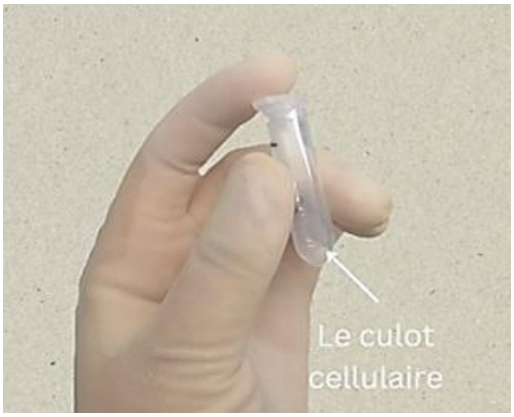


Figure 5 : le culot cellulaire après élimination du surnageant **(Photo personnel).**

Le culot obtenu a été remis dans 600 µl de tampon de lyse avec agitation sous le vortex et incubé à 37°C pendant 1 heure dans le bain-marie sec. Ensuite un volume égal de phénol/chloroforme a été ajouté au tube (300 µl de chloroforme liquide et 300 µl de la phase inférieure de la solution de phénol qui a été préalablement préparé).

Après cela, le tube a été soigneusement mélangé en l'inversant pour ne pas endommager l'ADN. Le mélange a été centrifugé à une vitesse de 12 000 tours pendant 8 minutes à température ambiante. Une fois qu'une couche blanche protéique est apparue à l'interface aqueuse, 1 ml de surnageant ont été soigneusement transféré de la phase aqueuse supérieure dans un nouveau tube (Eppendorf conique).

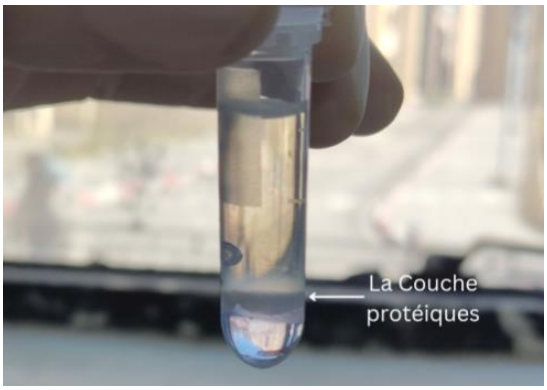


Figure 6: la couche blanche **(photo personnel)**.

Pour éliminer le phénol, un volume égal de chloroforme ont été ajouté à la couche aqueuse environ 600µl. Suivi d'un doux mélange en inversant le tube, puis centrifugé à la même vitesse précédente pendant 8 minutes et la couche aqueuse ont été déplacée dans un nouveau tube Eppendorf.

Pour la précipitation de l'ADN, 2.5 ou 3 volumes d'éthanol froid conservé à -20°C ont été ajouté.et mélangé doucement. Les tubes ont été gardés à -20°C pendant au moins 1 heure ou plus, puis ont été centrifugés à 4°C pendant 18 minutes (la précipitation de l'ADN pouvant être visible).

Par la suite le surnageant ont été jeté et le culot de l'ADN ont été rincé avec 1 ml d'éthanol d'élution à 70% et centrifugé à une vitesse de 12 000 tours pendant 4 minutes. Ensuite le surnageant a été éliminé et le culot de l'ADN a été bien séché dans le bain-marie sec (cela a pris environ 2 heures et 30 minutes pour les *Proteus spp* et 3 heures pour *Pseudomonas spp.)*

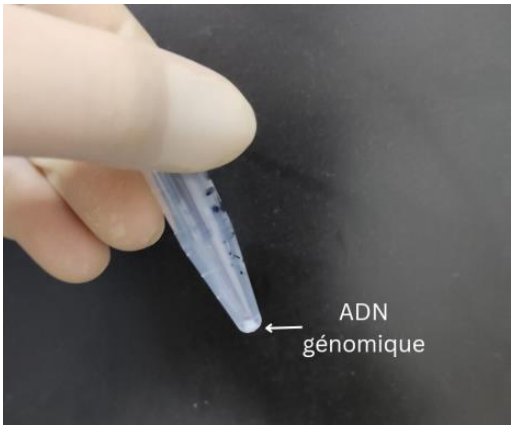


Figure 7: ADN génomique extrait **(photo personnel).**

Enfin, L'ADN ont été remis en suspension dans 400 µl de tampon TE et conservé à -20°C jusqu'à l'amplification par PCR plus tard.

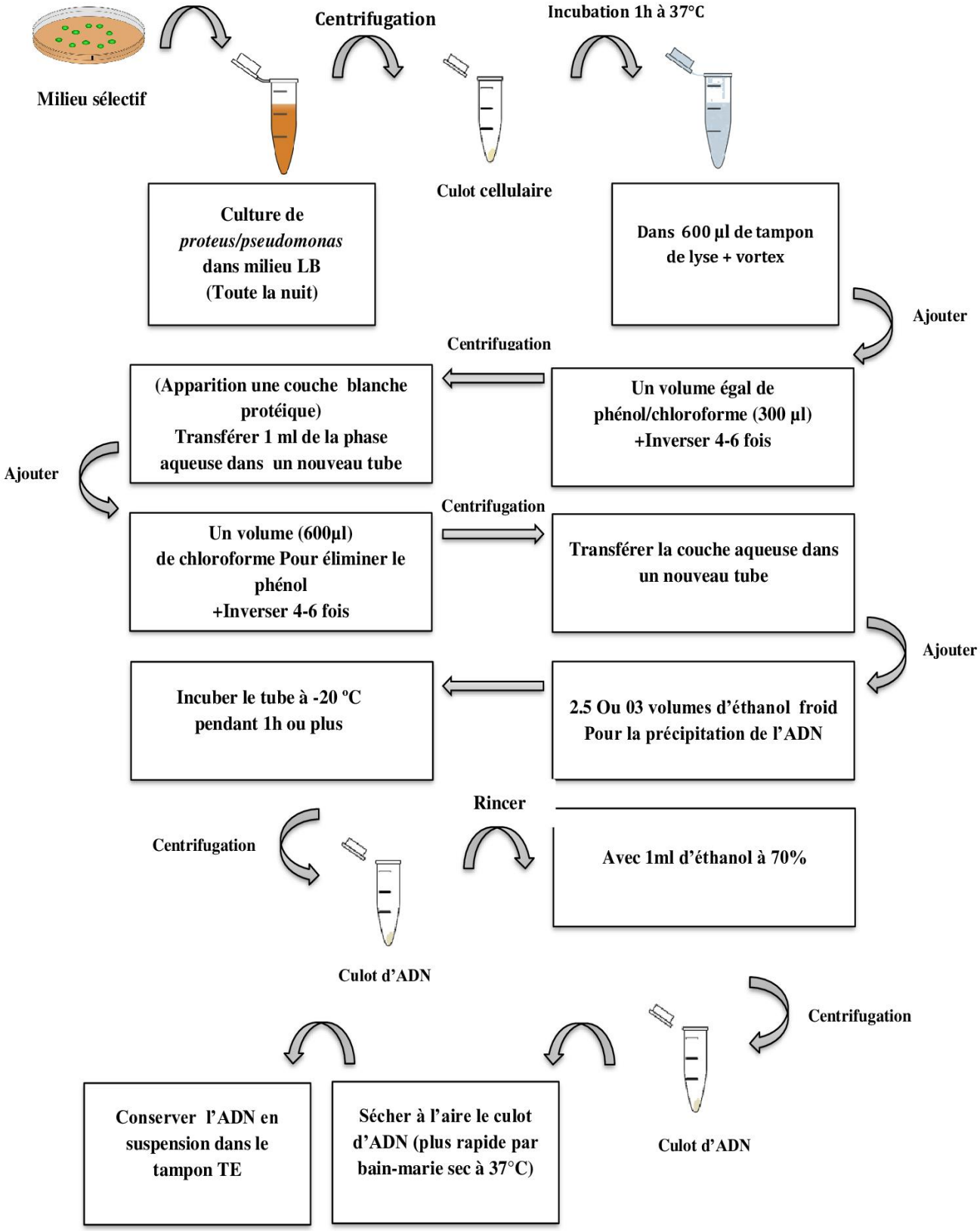


Figure 8: schéma d'extraction d'ADN **(Original)**

VI. PCR Standard :

Dans le cadre de la recherche des gènes de résistance dans les souches étudiées, l'analyse de la présence des gènes codant pour TEM, CmlA, dfrA1 et tet(A) chez *Pseudomonas spp,* ainsi que la présence de TEM, CITM et tet(A) chez *Proteus spp,* a été effectuée. Les amorces ont été reconstituées conformément aux instructions du fabricant pour assurer la fiabilité des résultats.

Les séquences des amorces utilisées sont données dans le tableau suivant :

Tableau 26: amorce utilisé pour les recherche des gènes de résistance

Cible	Oligonucléotide séquence (5′–3′)	Taille de l'amplifat (bp)	Références
TEM	(F) CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC	800	(**Prasastha Ram et al., 2022)**
	(R) CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC		
CITM	(F) TGGCCAGAACTGACAGGCAAA	462	**(Prasastha Ram et al., 2022)**
	(R) TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC		
tet (A)	F) GGTTCACTCGAACGACGTCA	577	**(Algammal et al., 2021)**
	(R) CTGTCCGACAAGTTGCATGA		
CmlA	(F) CCGCCACGGTGTTGTTGTTATC	698	**(Nairobi, 2006)**
	(R) CACCTTGCCTGCCCATCATTAG		
dfrA1	(F) GGAGTGCCAAAGGTGAACAGC	367	**(Ebrahimi-shahabi, 2022)**
	(R) GAGGCGAAGTCTTGGGTAAAAA		

VI.1. Reconstitution et dilution des amorces :

Le tube a été centrifugé pendant une minute, puis la quantité en nmol a été repérée sur celui-ci. Par la suite, x µl d'eau Rnase Dnase free ont été ajoutés au tube, sans aspirer ni refouler et sans toucher les parois du tube. Le mélange a été laissé à température ambiante pendant 10 minutes, avant d'être vortexé. La concentration de la solution obtenue était de 1 nmol/µl, soit 1000 µM. Ensuite, une dilution a été effectuée au 1/50ème en ajoutant 2 µl de la solution mère à 98 µl d'eau Rnase Dnase free, afin d'obtenir une solution fille à 20 µM.

VI.2. Préparation du Mix de PCR standard :

Les concentrations finales des différents composants des réactions de PCR ont été calculées selon les instructions du fabricant. Pour réaliser un mix de 15 µl, les quantités suivantes ont été ajoutées : 0.133 µl de HOT FIREPol® DNA Polymerase, 0.2 µl de dNTP MIX, 2 µl de tampon B1, 2 µl de $MgCl_2$ commercialisé par SolisBioDyne, 0.6 µl d'amorces sens, et 0.6 µl d'amorces reverse commercialisées par Macrogen, ainsi que 9.47 µl d'eau ultra pure ADaseARNse free commercialisée par Invitrogen™. Un volume total de 20 µl de mélange avec 5 µl d'ADN ont été préparé pour chaque réaction PCR.

VI.3. Programme PCR Standard :

Un programme de PCR standard ont été réalisée sur un thèrmocycleur comprenant 40 cycles, avec une répétition des trois étapes principales ; la première étape de dénaturation ont été réalisée à une température élevée de 95 °C pendant 15 minutes, suivie d'une deuxième étape de dénaturation à 95 °C pendant 30 secondes. L'hybridation des amorces à la matrice ont été effectuée à une température plus basse (60,2 °C pour TEM et CITM, 55 °C pour CmlA et DfrA1, 62 °C pour tet A) pendant 30 secondes.

Une étape d'élongation de 1 minute à 72 °C, avec une étape d'élongation finale dont la durée dépend de la longueur du fragment à amplifier, ont été réalisée de 15 minutes pour TEM et 5 minutes pour les autres amorces, à 72 °C.

Tableau 27: Conditions d'amplification des réactions PCR standard

Cible	Dénaturation Initiale	Dénaturation	Hybridation	Elongation	Elongation finale	Référence
TEM	95 °C/15 min	95 °C/30s	60.2°C/30s	72 °C/1min	72°C/5min	(**Prasastha Ram et al., 2022)**
CITM	95 °C/15 min	95 °C/30s	60.2°C/30s	72 °C/1min	72°C/5min	**(Prasastha Ram et al., 2022)**
tetA	95 °C/15 min	95 °C/30s	62°C/30s	72 °C/1min	72°C/5min	**(Algammal et al., 2021)**
CmlA	95 °C/15 min	95 °C/30s	55°C/30s	72 °C/1min	72°C/5min	**(Nairobi, 2006)**
dfrA1	95 °C/15 min	95 °C/30s	55°C/30s	72 °C/1min	72°C/5min	**(Ebrahimi-shahabi, 2022)**

VII. Électrophorèse sur gel d'agarose :

VII.1. préparation de TBE 0.5X :

Une solution TBE pour 1 litre ont été préparée en pesant 5.4g de tris, 2.75g d'acide borique. Ces deux composants sont ensuite dissous dans 100 ml d'eau distillée. Ensuite, 2 ml d'EDTA sont ajoutés à la solution. La solution est ensuite ont été complétée avec de l'eau distillée jusqu'à un volume total de 1 litre. la solution doit être homogénéisée avant son utilisation en électrophorèse des acides nucléiques.

VII.2. Préparation d'un gel d'agarose 1.5% :

Pour préparer un gel d'agarose, 3 g d'agarose sont pesés dans une bouteille en verre. Ensuite, 200 ml de tampon TBE 0.5X ont été ajoutés à l'agarose. La préparation ont été ensuite fondue à la micro-onde sans le bouchon pour éviter toute pression dans la bouteille. Une fois fondue, l'agarose et le tampon TBE ont été délicatement mélangés puis versée dans un flacon de 50ml , Sous hotte chimique avec port de gants bleus ,un 1 µl de SybrSafe ont été ajouté à la solution. Enfin, la solution est coulée dans le support pour former le gel d'agarose.

VII.3. Electrophorèse :

Le peigne a été retiré et le gel ainsi que son support sont immergés dans la cuve de migration contenant du tampon TBE 0.5X.

Le marqueur de poids moléculaire VI (ladder) ont été déposé dans un puits en ajoutant 2,5 µl sans l'ajout de bleu de charge, 6 µl de produit PCR + 2 µl de bleu de charge (loading buffer) ont été déposés dans chaque puits du gel d'agarose, la migration est effectuée à 135 volts pendant 20 minutes.

VII.4. Visualisation des fragments d'ADN :

La visualisation des fragments d'ADN s'est faite sous un transluminateur UV. L'ajout de SYBR Safe au gel d'agarose remplacement du bromure d'éthidium, donne une Coloration hautement sensible permet l'apparition de l'ADN sur le gel comme une bande de fluorescence orange.

RÉSULTATS

I. Distribution des souches de *Proteus spp :*

I.1. Distribution selon l'âge et le sexe :

Tous ce que concerné les *Proteus spp* est présente sur ce graphique :

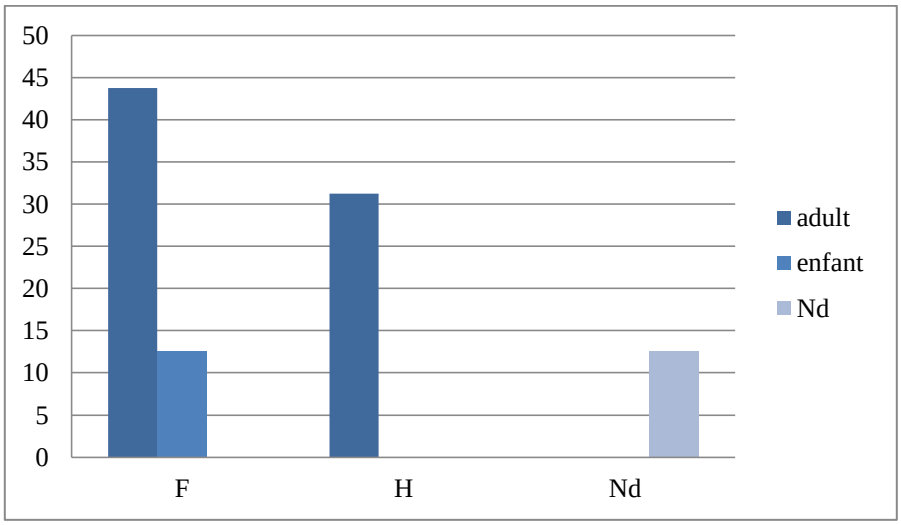


Figure 9: répartition d'age en fonction du sexe chez les *Proteus spp*

F : femme / **H :** homme / **Nd :** non déterminer

On remarque que le taux des femmes chez les adultes, sont majoritairement que les hommes, et un pourcentage plus de 10% d'enfants chez les femmes et l'absence total chez les hommes.

I.2. Distribution selon les résultats de l'antibiogramme :

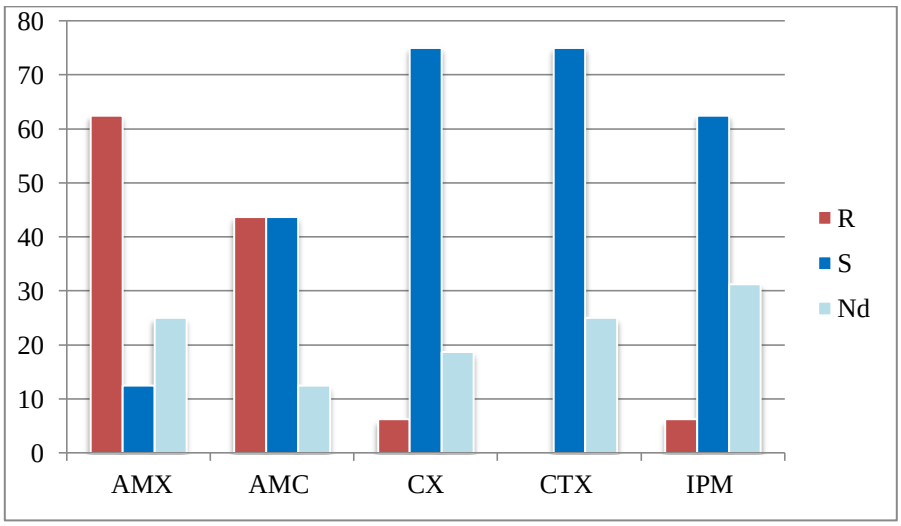


Figure 10: Pourcentage de résistance et sensibilité de *Proteus spp* aux béta-lactamines

AMX : Amoxicilline / **AMC :** Amoxicilline+ AC clavulanique / **CX:** cefoxitine / **CTX :** cefotaxime /**IPM** : Imipenème

Il est clair que le taux de la sensibilité est élevé pour les IPM, CTX, CX avec un taux entre 62.5% et 75% alors que pour AMX contrairement sont faible d'un taux de 12.5%.

Concernant la résistance, un taux élevé de 62,5% a été observé pour AMX et faiblement pour les CX et IPM alors que un taux égal de sensibilité et de résistance aux AMC a été observé.

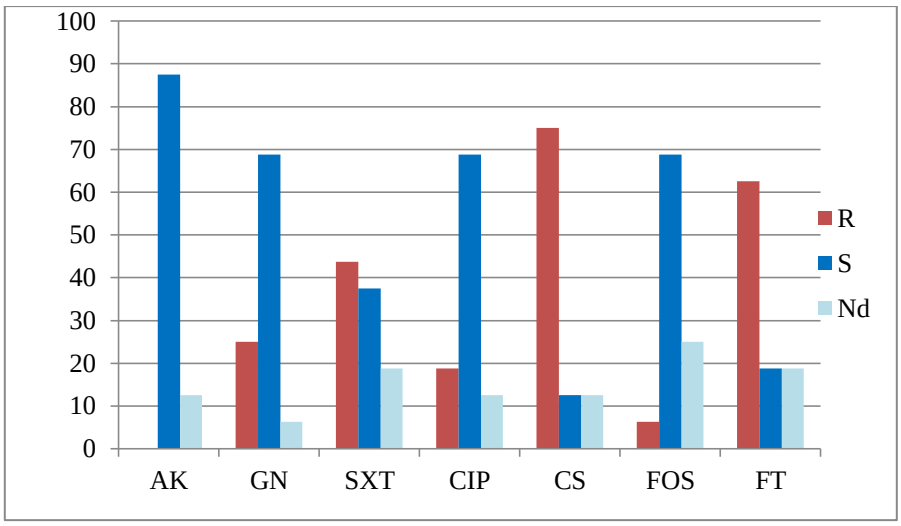


Figure 11: taux de résistance et sensibilité de *Proteus spp* aux autres antibiotiques.

AK: Amikacine / **GN:** Gentamicine / **STX:** Cotrimoxazole / **CIP:** Ciprofloxacine / **CS:** Colistine / **FOS:** Fosfomycine / **FT:** Furane

Concernant les souches sensibles on voit que les taux dominant sont entre (68.75% et 87.5%) pour les AK, GN, CIP, FOS, et faible pour les STX, FT et CS de taux entre 12.5 et 37.5%.

Et par rapport aux souches résistances il montre qu'Ilya une dominant pour les CS, FT et STX entre (43% et 75%). Et des pourcentages faibles pour les GN, CIP et FOS.

I.3. Distribution selon les résultats obtenus par PCR :

I.3.1. La recherche des gènes de résistance par PCR :

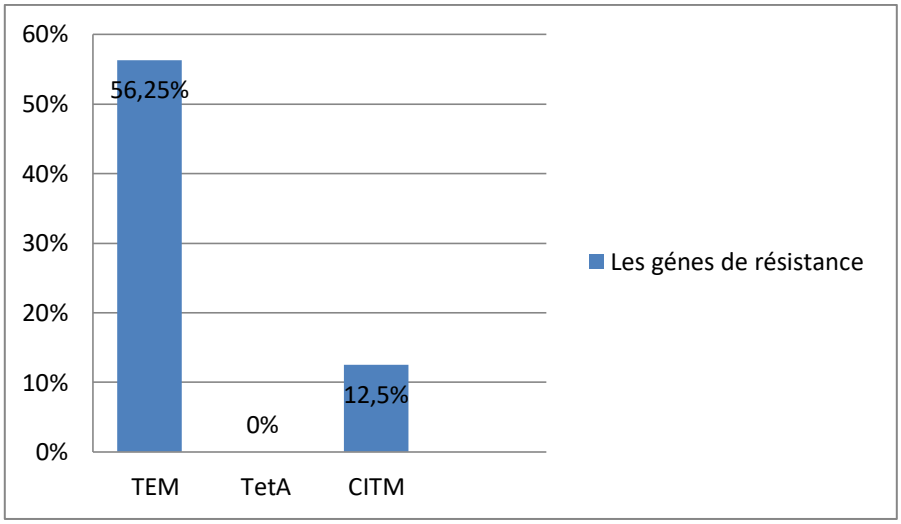


Figure12: pourcentage des gènes de résistances chez les *Proteus spp.*

Ces résultats montre que le taux des TEM est élevé passe 50% et de 12% pour les CITM avec l'absence total des tetA.

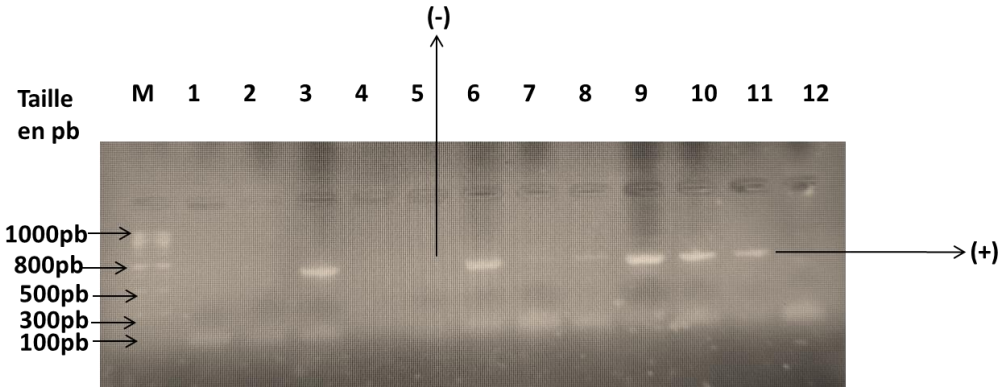


Figure13 : détection du gène TEM-1 chez *Proteus spp.*

De 1 à 12 : numéro de souche. **M :** marqueur de taille.

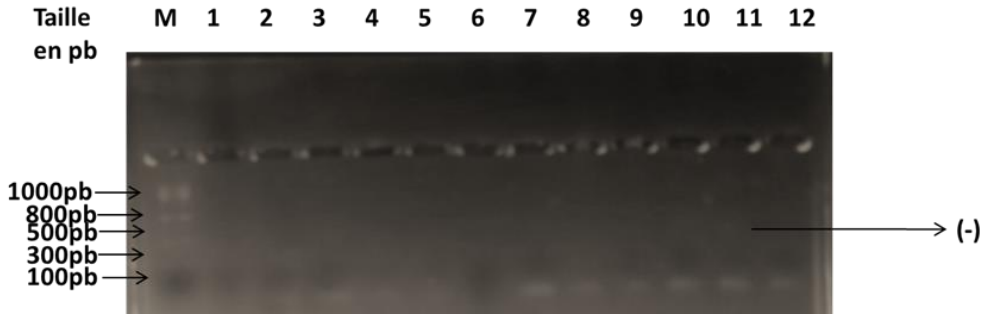


Figure 14: absence du gène tet(A) chez *Proteus spp*

De 1 à 12 : numéro de souche. **M :** marqueur de taille.

I.4. Distribution selon les clades :

Répartitions des résultats selon les clades circulant pour *Proteus*, au sein de population de Médéa.

Donc les types et les nombre des clades sont mentionnées au tableau suivant :

Tableau 28: les types de clades chez les *Proteus spp.*

Espèce	Type d'infection	Type de prélèvement	TEM	tet(A)	CITM	Type de clade	nb
P. mirabilis	Communautaire	7 ECBU	+	–	–	1	7
P. mirabilis	Nosocomiale		+	–	–		
P. mirabilis	Communautaire	4 ECBU et 1 pus	–	–	–	2	6
P. mirabilis	Nosocomiale	1 Pus	–	–	–		
P. mirabilis	Communautaire	2 ECBU	+	–	+	3	2
P. vulgaris	Communautaire	1 ECBU	–	–	–	4	1

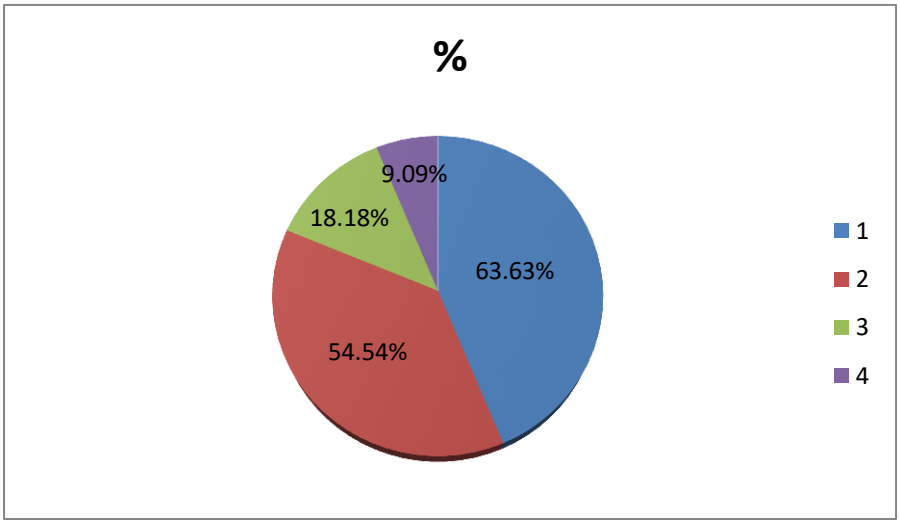


Figure 15: répartition des souches *Proteus spp.*

On observe que le bleu et le rouge porte les deux pourcentages dominant, suivi par vert puis le violet.

I.5. Comparaison des résultats phénotypique et génotypique :

Tableau 29: Comparaison entre la sensibilité et la résistance phénotypique et génotypique aux β-lactamines de type TEM chez *Proteus spp.*

	TEM	AMX	AMC	Cx	CTX	IPM
S1	−	/	/	/	S	/
S2	−	R	R	S	S	S
S3	+	/	S	S	/	/
S4	−	S	S	S	S	S
S5	−	R	R	R	S	S
S6	+	R	S	/	S	/
S7	−	R	R	S	S	S
S8	+	R	R	S	/	R
S9	+	R	R	S	/	/
S10	+	R	S	S	S	S
S11	+	R	R	S	S	S
S12	−	/	S	S	S	S
S13	−	R	R	S	S	S
S14	+	S	S	S	S	S
S15	+	/	/	/	/	/
S16	+	R	S	S	S	S

S: souche **AMX:** Amoxicilline / **AMC:** Amoxicilline+ AC clavulanique / **CX:** cefoxitine / **CTX:** cefotaxime /**IPM** : Imipenème

On observe une incohérence des résultats d'antibiogramme et les souches porteuses de gène de résistance.

Tableau 30 : Comparaison entre la sensibilité et la résistance phénotypique et génotypique aux β-lactamines de type CITM chez *Proteus spp*.

	CITM	**Cx**	**CTX**
S1	−	/	S
S2	−	S	S
S3	+	S	/
S4	−	S	S
S5	−	R	S
S6	−	/	S
S7	−	S	S
S8	−	S	/
S9	+	S	/
S10	−	S	S
S11	−	S	S
S12	−	S	S
S13	−	S	S
S14	−	S	S
S15	−	/	/
S16	−	S	S

S: souche CX: cefoxitine / **CTX :** cefotaxime

On remarque une certaine incohérence entre les résultats de l'antibiogramme des céphalosporines et la présence du gène codant pour les céphalosporinase.

II. Distribution des souches de *Pseudomonas spp :*

II.1. Distribution selon l'âge et le sexe :

Tous ce que concerné les *Pseudomonas* est présente sur ce graphique :

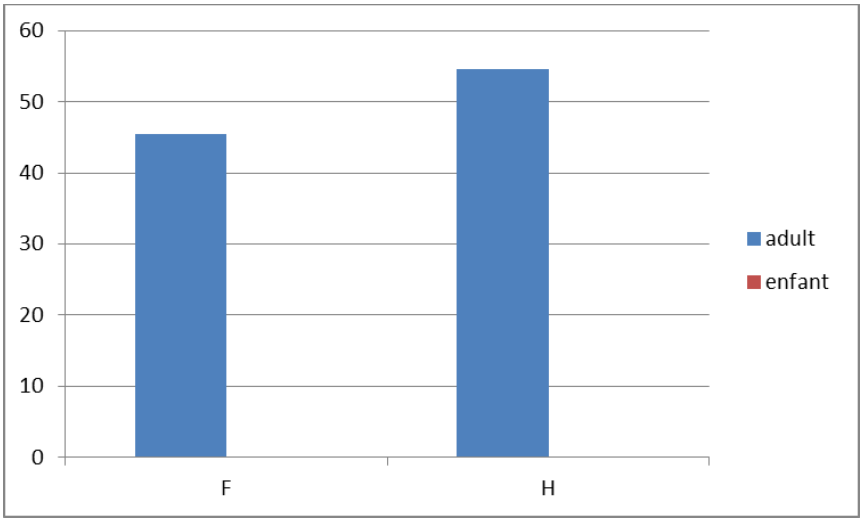


Figure16: répartition d'âge en fonction du sexe chez *Pseudomonas spp.*

F: femme / **H:** Homme

D'après les pourcentages suivant on remarque que les adultes chez les hommes est plus que les femmes. D'une part l'absence de la catégorie d'enfant chez les deux sexes.

II.2. Distribution selon les résultats de l'antibiogramme :

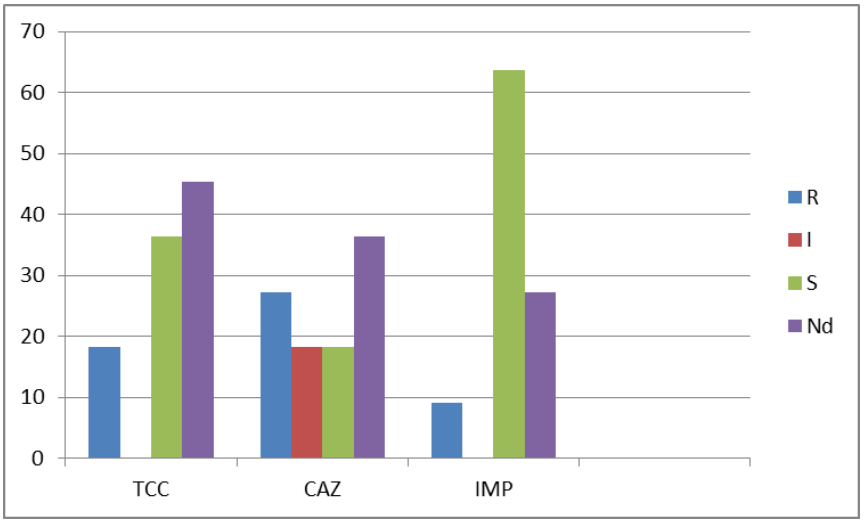


Figure 17: taux de résistance et la sensibilité de *Pseudomonas spp* aux béta-lactamines.

TCC : Ticarcilline + ACclavu / **CAZ :** Ceftazidine / **IMP** : Imipenème

Il est clairement présent les taux dominant résistant pour les CAZ et TCC d'un taux entre (18% et 27%) et pourcentage faible pour les IMP.

Concernant la sensibilité on voit le dominant est pour les IMP et TCC d'un intervalle entre (36% et 63%) et taux de 18% pour les CAZ.

Pour L'intermédiaire est présent seulement pour les CAZ de 18%.

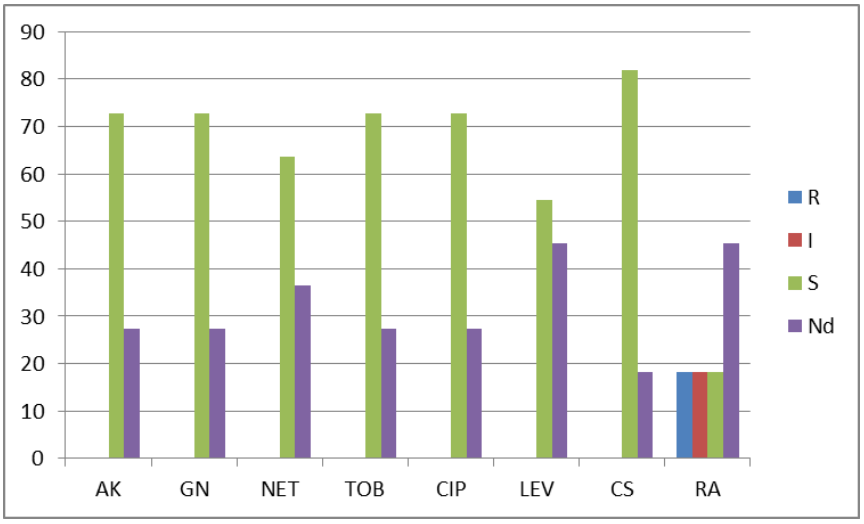


Figure 18: taux de résistance et la sensibilité de *Pseudomonas spp* aux autres antibiotiques.

AK: Amikacine / **GN:** Gentamicine / **NET:** Nétilmycine /**TOB:** Tobramycine /**CIP :** Ciprofloxacine / **LEV :** Lévofloxacine/ **CS :** colistine / **RA:** Rifampicine

On remarque que la sensibilité est dominante pour tous les antibiotiques d'un taux entre (54% et 81%) à l'exception de RA ne dépasse pas 20%. Et pour l'intermédiaire est présent seulement pour les RA de 18%.

II.3. Distribution selon les résultats obtenus par PCR :

II.3.1. La recherche des gènes de résistance par PCR :

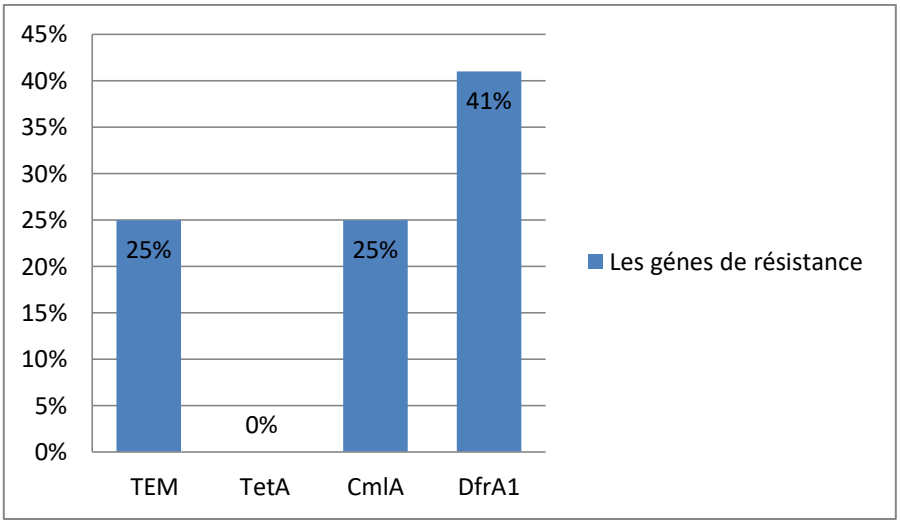


Figure19: pourcentages des gènes de résistance pour les *Pseudomonas spp*.

On voit que les dfrA1 à un pourcentage dominant passe 40% suivi par un pourcentage égal de 25% pour TEM et CmlA.

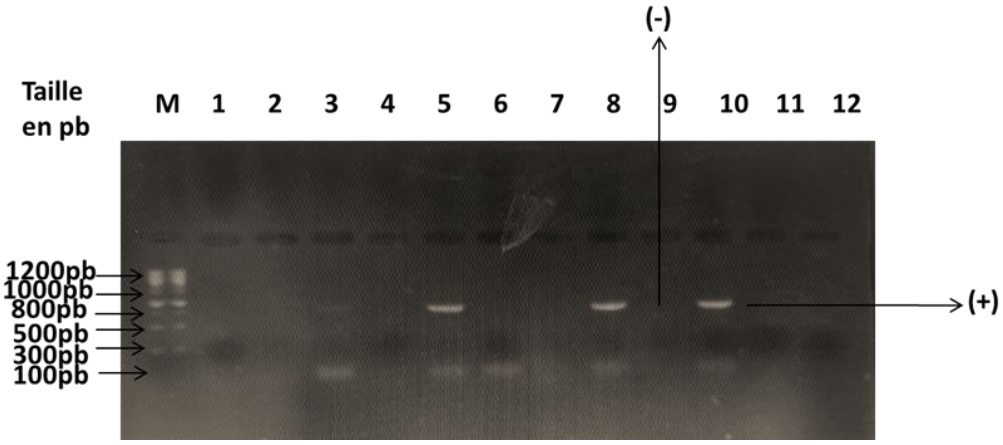


Figure20: détection des gènes TEM-1 chez les *Pseudomonas spp*.

De 1 à 12 : numéro de souche. **M :** marqueur de taille.

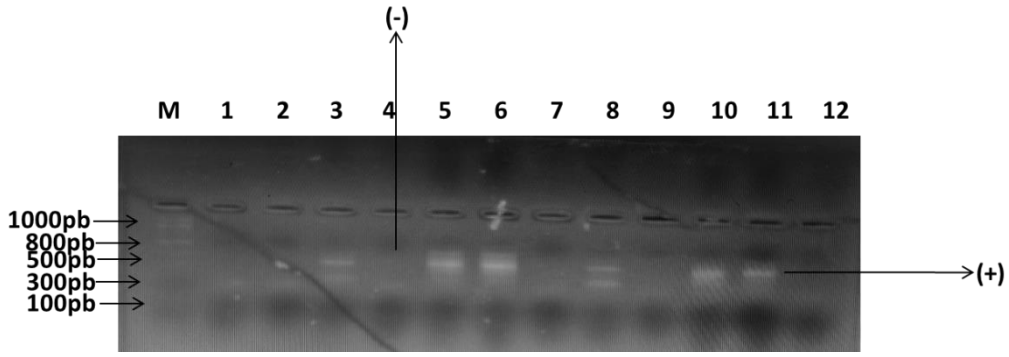


Figure21: détection du gène dfrA1 chez les *Pseudomonas spp.*

De 1 à 12 : souche. **M :** marqueur de taille.

II.4. Distribution selon les clades :

Répartitions des résultats selon les clades circulant pour *Pseudomonas spp* au sein de population de Médéa, donc les types et les nombre des clades sont mentionnées au tableau suivant :

Tableau 31 : les types de clades pour *Pseudomonas spp.*

Espèce	Type d'infection	Type de prélèvement	TEM	tetA	CmlA	dfrA1	Type de clade	nb
P. aeruginosa	Communautaire	4ECBU	–	–	–	–	1	5
P. aeruginosa	Nosocomiale	1 LCR	–	–	–	–		
P. aeruginosa	Communautaire	1 ECBU	–	–	–	+	2	2
P. aeruginosa	Nosocomiale	1 LCR	–	–	–	+		
P. aeruginosa	Communautaire	1 ECBU	+	–	+	+	3	2
P. aeruginosa	Nosocomiale	1 LCR	+	–	+	+		
P. aeruginosa	Communautaire	1 ECBU	+	–	–	+	4	1
P. aeruginosa	Nosocomiale	1 PUS	–	–	+	+	5	1

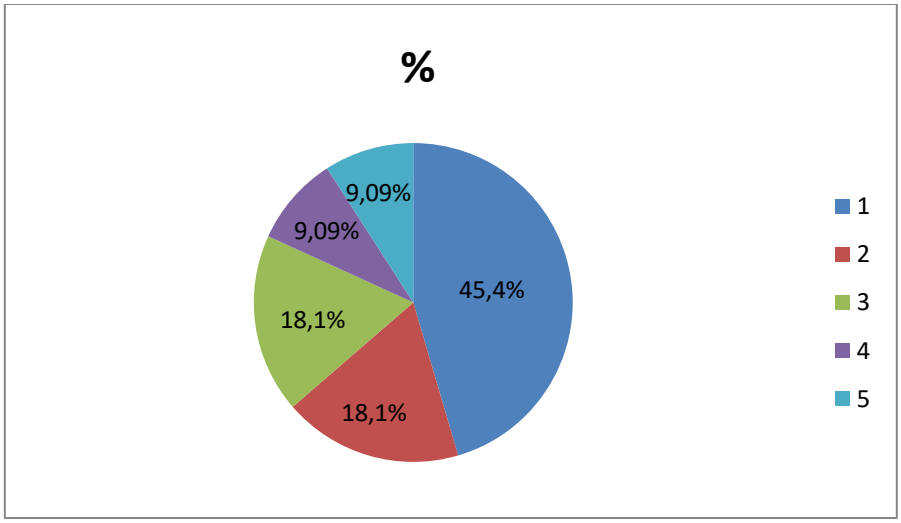


Figure22: répartition des souches *Pseudomonas spp.*

Il est observable que le cercle comprend 05 clades, le bleu prend le pourcentage dominant, suivi par le rouge et pour le vert, violet et bleu sont égale.

II.5. Comparaison des résultats phénotypique et génotypique :

Tableau32 : Comparaison entre la sensibilité et la résistance phénotypique et génotypique aux β-lactamines de type TEM chez *Pseudomonas spp*

	TEM	TCC	CAZ	IMP
S1	–	S	/	S
S2	–	R	I	/
S3	–	R	I	/
S4	–	/	/	/
S5	+	/	R	S
S6	–	/	R	S
S7	–	/	S	S
S8	+	S	R	S
S9	–	S	/	R
S10	+	S	/	S
S11	–	/	S	S

S : souche / **TCC :** Ticarcilline + ACclavu / **CAZ :** Ceftazidine / **IMP :** Imipenème

Le tableau montre qu'il existe une incohérence entre les résultats de sensibilité de bêta-lactamines utilisés et le résultat de la présence du gène de résistance dans les souches étudiées.

DISCUSSION

Cette étude se porte sur la caractérisation phénotypique et génotypique des isolats de *Proteus spp* et *pseudomonas spp* provenant de prélèvements cliniques de la wilaya de Médéa.

Dans notre étude, une analyse de la répartition des infections causées par *Proteus spp* en fonction de l'âge et du sexe a révélé une prédominance chez les femmes adultes (43%) par rapport aux hommes (31%), ainsi que chez les enfants (12%). De plus, une absence totale d'infections a été notée chez les enfants de sexe masculin. En effet plusieurs études qui ont mis en évidence que les espèces du genre *Proteus* sont fréquemment responsables des IU pour lequel les femmes adultes sont plus exposées de ce type d'infection que les hommes. Cette disparité entre les sexes peut être influencée par divers facteurs, notamment les caractéristiques anatomiques spécifiques aux femmes, tels qu'un urètre plus court, la proximité des orifices génital et anal, des pratiques d'hygiène insuffisantes, les rapports sexuels et la grossesse **(Kamga et al., 2014)**.

Par ailleurs, l'incidence plus élevée des infections chez les petites filles peut être expliquée par plusieurs facteurs prédisposant outre de la nature biologique du sexe féminin, des conditions telles que des anomalies et des obstructions des voies urinaires, la prématurité ou des maladies chroniques comme le diabète infantile.

Ces résultat sont proche à ceux publiés par (**Talebi et al., 2023a**) , dans son étude menée en Iran qui a rapporté la prédominance de l'infection à *Proteus spp* chez les femmes (72%) ,Une étude menée en Algérie par BOUDJEMAA en 2020 sur les infections d'origine communautaire et hospitalière a montré une prédominance de l'infection à *P.mirabilis* chez les femmes, avec un pourcentage de 48,10% et 55% respectivement .Cependant à l'âge préscolaire, les filles sont plus souvent infectées que les garçons **(Maleb et al., 2019)**.

Ainsi que avant l'âge de 8 ans l'incidence de 7 à 8 % des filles et 2 % des garçons chez les enfants ont déjà été touchés par une infection urinaire causée par *Proteus spp* et d'autres entérobactéries **(Maleb et al., 2019)**.

En ce qui concerne l'antibiogramme de *Proteus spp* aux β-lactamines, a montré les taux les plus élevés de résistance pour AMX (62%) et AMC (43%). Cela serait liée au fait que les β-lactamines sont parmi les antibiotiques les plus couramment utilisés. Selon l'étude par Amraoui et al en 2022 qui indique une taux de résistance modéré pour Amoxicilline (AMX) 54.54 % , Amoxicilline + ac.clavulanique (AMC) 45 ,46% Ce pourcentage se rapproche de celui mentionné par Leulmi en 2015 et qui rapporte que *Proteus spp* présente un haut niveau de résistance pour les aminopénicillines seules ou associées à l'acide clavulanique **(Amraoui et al., 2022)**.

Une certaine émergence de résistance ont été observés pour les IPM (6%), Cette émergence est probablement liée à la pandémie de covid et aussi que la résistance peut augment aux hôpitaux vu que les *Proteus spp* sont des germes nosocomials. Cependant nos résultats sont identiques avec les résultats montrent un taux de résistance de (5%) pour les Imipenème **(Hamdouch & Taibi, 2016) ,** Pour les Céphalosporines des niveaux de sensibilité assez importants ont été observés pour la CX(cefoxitine) de et CTX(cefotaxime) avec (75%), ceci est conforme avec les études de Bertrand en 2006 qui indique une sensibilité pour la Céfoxitine (54.54 %).Ce qui peut être due à l'absence de Céphalosporinase chromosomique **(Amraoui et al., 2022)**.

D'âpres les résultats de l'antibiogramme de *Proteus spp* aux autres antibiotiques, un taux de résistance très important a été remarquée vis-à-vis de la CS (75%) et de FT (62%). nos résultats sont identiques que celles de Pearson et Dance **(Hamdouch & Taibi, 2016)**. *Proteus spp* a une résistance naturelle à colistine (spécificité de l'espèce mirabilis)**,** ceci est dû à l'imperméabilité de la paroi. Les résultats de Jannat et al en 2021 montrent un haut niveau de résistance aux Furane autour une proportion de (90%) de *Proteus spp* sont multi résistante **(Amraoui et al., 2022)**.

Le taux de sensibilité aux aminosides sont : 87.5%pour AK (Amikacine) et 68.75% pour la GN (Gentamicine) et aussi para pour la Ciprofloxacine , ces résultats est peut-être durable à la sensibilité naturelle aux aminosides ,cela serait liée avec les travaux de Sissoko en 2006 qui indique que les souches de *Proteus mirabilis* sont sensibles à l'amikacine (100 %)**(Amraoui et al., 2022)**. Un taux important de sensibilité a été remarqué en tenant compte du fait que la gentamicine est moins active sur les espèces de *Proteus* **(Hamdouch & Taibi, 2016)**.

A l'opposé de nos résultats les souches de *Proteus mirabilis* d'origine hospitalière (CHU Oran) a révélé une forte résistance à la gentamicine **(Boudjemaa, 2020)**.

Le taux de sensibilité qui a été observée pour la Ciprofloxacine peut justifier par l'utilisation limitée du médicament , nos résultats non conforme pas aux travaux de Danielle Clave et Kassama en 2013 qui rapportent des taux de résistance plus élevées pour les quinolones de 100% **(Hamdouch & Taibi, 2016)**.

Concernant l'analyse comparative des gènes de résistance chez espèces bactériennes majeures : *proteus spp* mettrons en évidence les différences clés dans leur présence et leur distribution. Ont discutant des implications cliniques de nos résultats et de leur importance pour la gestion des infections bactériennes résistantes aux antibiotiques.

Pour le blaTEM-1 il était le gène le plus fréquemment observé chez les *proteus spp* avec une prévalence de (56,25 %), suivi de CITM (17,3 %), et aucun gène tet (A) n'a été détecté (0 %).

Ceci serait liée à L'utilisation fréquente et inappropriée d'antibiotiques bêta-lactamine pour la thérapie des infections urinaire en Algérie, ce qui favorise l'émergence de souches portant le gène blaTEM-1.

Ces résultat était proche d'une étude menée au Nigéria par **(Alabi et al., 2017)** qui a révélé une prévalence élevée aux blaTEM-1, soit 48,3%. Cette résistance été attribuée à l'utilisation de béta-lactamines surtout céphalosporines de troisième génération dans le traitement des infections urinaires. En contradiction avec les études menée en Algérie citées par (Leulmi), il se pourrait que seulement 26, 85% des isolats de *Proteus* ont étaient positif aux blaTEM-1**(Leulmi et al., 2019)**. Les résultats suggèrent éventuellement que cette résistance puisse être due à une utilisation intensive de bêta-lactamines dans le cadre de la thérapie, en particulier chez les personnes interrogées et/ou souffrant d'infections urinaires **(Leulmi et al., 2019)**.

Concernant le gène CITM, dans notre étude seulement 12,5 % des isolats de *Proteus spp* étaient positifs pour le gène CITM, présentant également une sensibilité élevée aux antibiotiques bêta-lactamines. Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Kim en Corée du Sud, où environ 28,9 % (C. Kim et al., 2021) des *Proteus* identifier a partir des chats et de chiens présentaient une positivité au gène CITM. Ceci peut être due a la pression sélective induite par les thérapies aux céphalosporines pourrait avoir conduit à une augmentation de l'expression d'AmpC (CITM) chez *Proteus spp* **(C. Kim et al., 2021)**.

Pour le recherché du gène tet(A) .dans nos résultats aucun souches de *Proteus spp* étaient porteuse du gène tet (A). La négativité de ces souches vis-à-vis ce gène peut être dû au la non utilisation des tétracyclines dans le traitement de la plupart des infections. Contrairement aux études menées en Irane montré par Telebi, qui a rapporté un pourcentage de 72,41% du gène tet(A) chez *Proteus mirabilis* et de 77,47% chez *Proteus vulgaris* **(Talebi et al., 2023b)** Ceci serait liée à la résistance naturelle des *P.mirabilis* et *P.Vulgaris* au tétracycline qui étaient généralement utilisé pour le traitement des infections des voies urinaires, des plaies et des otites.. **(Talebi et al., 2023b)**.

D'âpres les résultats de répartition des différents clades mentionnés sur le tableau numéro (28):

On note une certaine diversité génétique au sein de la population circulé de *Proteus spp* avec une domination spécialement pour les clades 01 et 02. (63.63%) car est un clade émergent, montre une résistance pour les Tem et sensibles chez et CITM.

Suivi par le clade 02 (54.54%) caractérisé par une négativité absolu vis-à-vis les TEM, tet(A) et CITM c'est parce que contient des souches non porteuse des gènes résistants.

Concernant le clade 03 (18.18%) les souches porteuses de TEM et CITM sont en permanant considéré comme des souches émergences.

En dernier le clade 04 (09.09%) une autre négativité total a été marqué.

En ce qui concerne la répartition des souches de *Pseudomonas spp* selon le sexe et l'âge, nous avons une prédominance a été observé chez les hommes adultes avec un pourcentage de 54%, tandis que chez les femmes (45%). Il est important de noter que notre étude n'a pas identifié d'infections à *Pseudomonas* chez les enfants des deux sexes. L'absence d'infections à *Pseudomonas* chez les enfants dans notre étude peut être liée à des différences dans l'exposition ou la susceptibilité à cette bactérie entre les groupes d'âge. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études, notamment une étude menée en Algérie qui a également observé une prédominance masculine avec un pourcentage de 53.81**%(Memdouh & Reddaf, 2018)**. Et une autre étude en Inde qui a rapporté une prédominance des hommes avec 62.5% **(Javiya et al., 2008)**.

L'antibiogramme de *Pseudomonas spp* aux β-lactamines a révélé des taux de résistance élevés vis-à-vis de la CAZ (Ceftazidime) avec un taux de 27% et de la TCC (Ticarcilline + AC clavu) avec un taux de 18%. De plus, une certaine émergence de la résistance aux IMP (Imipenème) a été observée (09%), Il est possible que l'émergence de la résistance soit attribuée au fait que *Pseudomonas spp* sont des germes nosocomiaux ayant la capacité de développer une multi-résistance.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans le dernier rapport du Réseau National de Surveillance des Antibiotiques, où le taux de résistance à la CAZ était de 35,92% **(Boussouf & Yahia Cherif, 2020)**. De même, des résultats similaires ont été observés au CHU Nedir Mohammed de Tizi Ouzou, qui a également signalé un taux de résistance de 60% à la TCC **(Bourahla & Haddache, 2015)**. Toutefois, nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés dans une autre étude qui a présenté un taux élevé de résistance aux IMP, atteignant 50%. **(Baaziz et al., 2022)**.

La sensibilité des souches de *Pseudomonas spp* aux autres familles d'antibiotiques reste élevée, atteignant jusqu'à 81% pour CS. Des taux de sensibilité de 72% ont également été observés pour AK, GN, TOB et CIP. Une sensibilité de 63% a été constatée pour NET, tandis que celle de LEV était de 54%. Seule la Rifampicine a montré une résistance, atteignant 18%.

Ces résultats indiquent que les différents antibiotiques testés peuvent être efficaces dans le traitement des infections causées par cette bactérie. Une étude en Algérie au CHU T.O pendant l'année 2015 a également relevé que la totalité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont à 100% sensible à la colistine **(Bourahla & Haddache, 2015)**.

En Algérie, une étude similaire a également montré une fréquence très proche, avec une très faible résistance observée pour l'Amikacine alors au contraire, en ce qui concerne la Gentamicine et la Tobramycine, un taux de résistance moyen de 50% a été remarqué , tandis que les isolats ont montré une résistance très élevée à la ciprofloxacine (66%) **(Baaziz et al., 2022).** Alors que une autre étude a rapporté une certaine résistance à la nétilmicine et lévofloxacine avec des pourcentage (8 %) et (12%) respectivement **(Bourahla & Haddache, 2015)**. Un résultat différent de nos observations dans un étude menée en Mali, a été noté des souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient une résistantes plus élevé à la rifampicine (66,7%) **(Zardelon ZITTI, 2014)**.

Dans notre étude portant sur les *Pseudomonas spp*, le gène dfr1 (41,67 %) été le plus fréquemment observé, suivi par une positivité similaire des gènes CmlA et tem-1 (25%). En revanche, aucun gène tet(A) n'a été détecté.

Concernant le gène dfr1, on a constaté que 41,67 % des *pseudomonas spp* étaient porteuses de ce gène, Ceci peut être due à la haute utilisation d'antibiotique triméthoprime pour la thérapie des infections urinaires a Médéa ce qui indique un taux de résistance très élevé pour le gène. notre résultats étaient proche a des études menée en Irane par **(Ebrahimi-shahabi, 2022)**. qui a rapporté que environ 66 % des souches de *pseudomonas spp* provenant notamment d'infections nosocomiales étaient porteuses de gène dfr1**(Ebrahimi-shahabi, 2022)**.Ces résultats suggèrent à cause de la forte utilisation de triméthoprime dans le traitement utilisées chez les services d'infection et chez les brûlés. Ce qui montre une haute résistance aux gène dfr1 avec un développement d'un intégrons de gènes de cassette. **(Ebrahimi-shahabi, 2022)**.

Pour ce qui est TEM-1, Cette étude montré que 25% des souche *p.aeroginosa* étaient porteuses de bla TEM-1 Ceci peut être liée a L'utilisation fréquente d'antibiotiques bêta-lactamine pour la thérapie des infections urinaire et nosocomiale en Algérie spécifiquement a Médéa, ce qui favorise l'émergence de souches portant le gène blaTEM-1. nos résultants étaient proche des études en menée en Romannie par Butiuc-Keul qui a rapporté 19.6% des isolats possédaient le gène TEM-1 surtout les *Pseudomonas putida*.le gène TEM-1 été plus observé dans ces souches **(Butiuc-Keul et al., 2021)** ,ceci serait liée à l'impact de résistantes aux bêta-lactamine sur la santé publique , en particulier par le biais de la contamination de l'eau**(Butiuc-Keul et al., 2021)**.

En contraire avec des études menée en inde par shahi concernant les patiens diabétique il a rapporté un prévalence de (89,47%) des isolats de *pseudomonas spp* qui ont étaient porteuses de gène TEM-1**(Shahi & Kumar, 2016)**. Il a justifié que peut être ceci serait liée la sélection inappropriés d'antibiotiques bêta-lactamine dans les traitement des ulcères du pied diabétique..**(Shahi & Kumar, 2016)**.

Cependant, pour le gène tet(A). tous les isolats du *pseudomonas spp* étaient non porteuses de ce gène dans cette étude (0% de tet(A) peut être due à la non utilisation des tétracyclines dans le traitement de la plupart des infections ,Nos résultats étaient proche des études en Romannie par Butiuc-Keul qui a rapporté 9,09 % des isolats possédaient le gène tet(A) **(Butiuc-Keul et al., 2021)**.

Ceci serait liée a l'impact de résistantes aux tétracycline sur la santé animale et humaine, en particulier par le biais de la contamination de l'eau **(Butiuc-Keul et al., 2021)**.

A l'opposite aux études menées en Égypte par Algammal sur des isolats prélevés à partir d'ulcères cutanés, 75,6% de ces isolats présentaient une résistance au gène tet(A) **(Algammal et al., 2020)**. Cette étude confirme que cette résistance élevée peut-être attribuable à l'utilisation indiscriminée de l'antibiotique tétracycline, ainsi qu'à l'émergence de gènes de résistance aux antibiotiques, ce qui pourrait conduire à l'apparition de souches multi-résistantes. **(Algammal et al., 2020)**.

Toujours dans notre étude, nous avons mentionné 25% des *pseudomonas spp* étaient porteuses de gène CmlA. Il s'agit de la première étude de résistance au gène CmlA chez les *pseudomonas spp* en Algérie.

On note une certaine diversité génétique au sein de la population des clades circulé de *Pseudomonas spp* avec une domination spécialement pour le clade 01 (45.45%) donc une négativité total vis-à-vis les TEM, tet(A), CmlA et dfrA1 et ça signifie que ces clades dominants représentent des souches non porteuse des gènes résistantes.

Concernant le clade 02 (18.18%) qui port seulement le dfrA1 conforme une résistance pour triméthoprime.

Le clade 03 avec le même pourcentage précédent (18.18%) une certain émergence à trois gènes de résistance en parallèle (TEM, CmlA et dfrA1) qui peut être considéré comme des souches multi-résistante.

Les clades 04 et 05 (09.09%) contient deux gènes résistants et les deux autres sont sensible c'est ta dire y a une certain émergence.

Dans notre étude, on a été observé une incohérence entre les résultats phénotypique et génotypique pour certains gènes de résistance chez les deux espèces étudiées (TEM et CITM chez *Proteus spp* et TEM chez *Pseudomonas spp*) qui codent pour la bêta-lactamase.

En effet, la présence du gène avec une sensibilité phénotypique montre que cette bactérie considérée comme antibio-résistant et les antibiotiques correspondant est non significative pour le traitement. Alors que l'absence du gène vis-à-vis une résistance phénotypique peut être due à une mutation sur le gène porté ou bien la présence d'autres gène de résistance codant pour les β-lactames.

Il convient de noter que l'absence des tests d'antibiogramme aux antibiotiques tels que le chloramphénicol, tétracycline et Trimethoprim a limité notre capacité à comparait la sensibilité ou la résistance phénotypique tandis que les souches de *Pseudomonas* étaient porteuses des gènes (CmlA et DfrA1) conforme aux la résistance à ces médicaments et concernant le gène tet(A) ont étaient constaté une négativité total vis-à-vis les deux bactéries.

Cette incohérence peut être attribuée à plusieurs facteurs, tels que les paramètres expérimentaux variables lors des examens effectués en laboratoire .Par exemple, le choix du milieu de culture ; les conditions de croissance et les concentrations d'antibiotiques utilisées lors des tests d'antibiogramme, ceci peuvent influencer les réponses bactériennes aux antibiotiques.

Lors de la recherche de ces gènes de résistance par PCR standard, il est important de prendre en compte la possibilité d'obtenir des résultats faux positifs ou faux négatifs. Il est à noter que l'absence d'un contrôle négatif adéquat peut contribuer à des interprétations erronées des résultats. De plus, il convient de souligner qu'il peut y avoir des erreurs potentielles lors des manipulations expérimentales, ce qui peut également affecter la fiabilité des résultats. Il est donc essentiel de mettre en place des contrôles appropriés et de prendre des précautions supplémentaires pour minimiser les erreurs expérimentales.

CONCLUSION

Conclusion

Ce travail est une étude prospective dont le but de trouver par PCR standard, des gènes de résistance à certain antibiotique chez les bactéries de gram négatif *Proteus spp* et *Pseudomonas spp.*

Par ailleurs. En présence de données phénotypiques, le portage des gènes détectés été validée par PCR (produits de PCR). Afin d'améliorer la spécificité de détection. L'analyse des 16 échantillons chez *Proteus spp* et 11 pour *Pseudomonas spp*. La prévalence de gènes de résistance au sein de la collection étudiée s'explique par l'identification des gènes bla TEM-1 et CITM et tet(A) chez *Proteus spp* et bla TEM-1 et tet(A),CmlA, dfrA1 chez *Pseudomonas spp*, après confirmation de leur présence, on observe fréquemment un phénomène de diversité entre les gènes liés à la résistance aux antibiotiques. Ceci nous permettrait d'approfondir l'étude de l'antibio-résistance à l'échelle environnementale et épidémiologique de la wilaya de Médéa afin de maîtriser le contrôle d'infection.

Pour les perspectives, il faut maîtriser le contrôle d'utilisation des antibiotiques pour traiter les infections humaine et animales afin de réduire la gravité de la résistance bactérienne.

- mettre en place des systèmes de surveillance de l'antibio-résistance pour détecter rapidement l'émergence de souches résistantes et suivre leur propagation.

-Promotion de pratiques d'hygiène et de prévention des infections.

-l'encouragement de la recherche et du développement de nouveaux antibiotiques est essentiel d'investir afin de lutter contre les souches bactériennes de plus en plus résistantes.

-Une vérification minutieuse de toutes les étapes du processus des tests utilisés et une analyse approfondie des résultats sont nécessaires pour obtenir des conclusions précises et significatives.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIE

Références bibliographiques

Abdelrahman, D. N., Taha, A. A., Dafaallah, M. M., Mohammed, A. A., Rahim, A., Hussein, M. El, Hashim, A. I., Hamedelnil, Y. F., & Altayb, H. N. (2022). *and class C β-lactamases gene frequency in Pseudomonas aeruginosa isolated from various clinical specimens in Khartoum State , Sudan : a cross sectional study [version 3 ; peer review : 2 approved] sectional study*. 1–16.

Abderrazak, S. B. E. N., ., & . (2004). *Et Methodes Apparentees Appliquees En Parasitologie Veterinaire* (Vol. 1).

Abgrall, S., Ader, F., Alexandre, K., Ansart, S., Bani-Sadr, F., Bernard, L., & Blot, A. (2022). *Proteus, Providencia, Morganella __ Microorganismes __ ePOPI*.

Agung, S., Tuba, S., Alkindi, A. S. R., ..., ..., & ... (2022). Tetracycline - StatPearls - NCBI Bookshelf. In *Journal of Chemotherapy*.

Alabi, O. S., Mendonça, N., Adeleke, O. E., & da Silva, G. J. (2017). Molecular screening of antibiotic-resistant determinants among multidrug-resistant clinical isolates of Proteus mirabilis from SouthWest Nigeria. *African Health Sciences*, *17*(2), 356–365. https://doi.org/10.4314/ahs.v17i2.9

Al-Agamy, M. H., Jeannot, K., El-Mahdy, T. S., Samaha, H. A., Shibl, A. M., Plésiat, P., & Courvalin, P. (2016). Diversity of Molecular Mechanisms Conferring Carbapenem Resistance to Pseudomonas aeruginosa Isolates from Saudi Arabia. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, *2016*. https://doi.org/10.1155/2016/4379686

Algammal, A. M., Hashem, H. R., Alfifi, K. J., Hetta, H. F., Sheraba, N. S., Ramadan, H., & El-Tarabili, R. M. (2021). atpD gene sequencing, multidrug resistance traits, virulence-determinants, and antimicrobial resistance genes of emerging XDR and MDR-Proteus mirabilis. *Scientific Reports*, *11*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-021-88861-w

Algammal, A. M., Mabrok, M., Sivaramasamy, E., Youssef, F. M., Atwa, M. H., El-kholy, A. W., Hetta, H. F., & Hozzein, W. N. (2020). Emerging MDR-Pseudomonas aeruginosa in fish commonly harbor oprL and toxA virulence genes and bla TEM, bla CTX-M, and tetA antibiotic-resistance genes. In *Scientific Reports* (Vol. 10, Issue 1). https://doi.org/10.1038/s41598-020-72264-4

Al-Orphaly, M., Hadi, H. A., Eltayeb, F. K., Al-Hail, H., Samuel, B. G., Sultan, A. A., & Skariah, S. (2021). Epidemiology of Multidrug-Resistant Pseudomonas aeruginosa in the Middle East and North Africa Region. *mSphere*, *6*(3), 1–15. https://doi.org/10.1128/msphere.00202-21

Amraoui, R., Bensaad, A., & Beldjezzar, A. (2022). *Isolement et identification de Proteus sp. Étude de l'antibiorésistance*. Université Frères Mentouri, Constantine.

Aouatef, B., Insaf, A. R., & Aya, B. (2022). *Isolement et identification de Proteus sp . Étude de l ' antibiorésistance*.

Aragón, L. M., Mirelis, B., Miró, E., Mata, C., Gómez, L., Rivera, A., Coll, P., & Navarro, F. (2008). Increase in β-lactam-resistant Proteus mirabilis strains due to CTX-M- and CMY-type as well as new VEB- and inhibitor-resistant TEM-type β-lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *61*(5), 1029–1032. https://doi.org/10.1093/jac/dkn056

Ariana, R. (2016). *済無No Title No Title No Title*. *January*, 1–23.

Arlet, G., Brami, G., Deere, D., Flippo, A., Gaillot, O., Lagrange, P. H., & Philippon, A. (1995). Molecular characterisation by PCR-restriction fragment length polymorphism of TEM β-lactamases. *FEMS Microbiology Letters*, *134*(2-3), 203–208. https://doi.org/10.1016/0378-1097(95)00405-8

Armand, L. (2021). *Entérobactéries Pseudomonas aeruginosa*.

Armbruster, C. E., & Mobley, H. L. T. (2013). *Merging mythology and morphology: the multifaceted lifestyle of Proteus mirabilis*. *30*(2), 186–194. https://doi.org/10.1055/s-0030-1253227.The

Armbruster, C. E., Mobley, H. L. T., Pearson, M. M., ..., ..., & ... (2018). Pathogenesis of Proteus mirabilis Infection. *EcoSal Plus*, *8*(1). https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0009-2017

Aryal, S. C., Upreti, M. K., Sah, A. K., Ansari, M., Nepal, K., Dhungel, B., Adhikari, N., Lekhak, B., & Rijal, K. R. (2020). Plasmid-mediated AMPC β-lactamase CITM and DHAM genes among gram-negative clinical isolates. *Infection and Drug Resistance*, *13*, 4249–4261. https://doi.org/10.2147/IDR.S284751

Asensio, L., PoitrasE, Houde, A., ..., ..., & ... (2009). *Principe de l'amplification par PCR*. 1–4.

Askari Rizvi, S. F. (2018). Tetracycline: Classification, Structure Activity Relationship and Mechanism of Action as a Theranostic Agent for Infectious Lesions-A Mini Review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, *7*(2), 5787–5796. https://doi.org/10.26717/bjstr.2018.07.001475

Atif, M. L., Bezzaoucha, A., Mesbah, S., Djellato, S., Boubechou, N., & Bellouni, R. (2006). Évolution de la prévalence des infections nosocomiales dans un centre hospitalier universitaire en Algérie (2001 à 2005). *Medecine et Maladies Infectieuses*, *36*(8), 423–428. https://doi.org/10.1016/j.medmal.2006.05.002

Baali, meriem yasmin, Manel, M., Ahlam, S., Sohaib, S., Examinatrice, B. D., & Wissam, A. (2022). *Mémoire En Vue de l ' Obtention du Diplôme de Master . L ' Extraction De l ' ADN Génomique De Bactéries Isolées À Partir Du Lait De Vache Cru*.

Baaziz, K., Merad, S., & Boussaid, H. (2022). *Les infections urinaires*. Université OEB.

Bale, B. I., Elebesunu, E. E., Manikavasagar, P., Agwuna, F. O., Ogunkola, I. O., Sow, A. U., & Lucero-Prisno, D. E. (2023). Antibiotic resistance in ocular bacterial infections: an

integrative review of ophthalmic chloramphenicol. *Tropical Medicine and Health*, *51*(1). https://doi.org/10.1186/s41182-023-00496-x

Beltrão, E. M. B., De Oliveira, É. M., Lopes, A. C. D. S., ..., ..., & ... (2021). First report of blaGES-1 in Proteus mirabilis clinical isolates. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, *54*, 3–5. https://doi.org/10.1590/0037-8682-0864-2020

BEN YOUSSEF, S. (2016). *Les phénicols 1*. 1–59.

BENABID, R. (2009). Rôle de l ' élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à Pseudomonas aeruginosa. *Defense*.

Benmerieme, S., & Mehanneche, D. (2016). *Effet de la salinité sur la production de la pyocyanine et pyoverdine et recherche de leurs effets sur quelques germes pathogènes. Spécialité : Biotechnologie des microorganismes*.

Bennamar, A., & Benaissa, N. (2022). *Etude de Consommation d ' Antibiotique Et Résistance aux Antibiotiques à EPH de Médéa*.

Bentroki, A. A., Gouri, A., Yakhlef, A., Touaref, A., Gueroudj, A., & Bensouilah, T. (2012). Résistance aux antibiotiques de souches isolées d'infections urinaires communautaires entre 2007 et 2011 à Guelma (Algérie). *Annales de Biologie Clinique*, *70*(6), 666–668. https://doi.org/10.1684/abc.2012.0760

Beranger, M. (2020). *SPV1: Extractionde la fraction d'ADN, libre de nucléosomes, contenant les génes actifs du testicule ou du foisde varrat/SPV2: controle de 16 couplees d'amorces par PCR(Polymérase chain reaction)*. *52627*.

Bhattacharya, P., Singha, M., Senapati, K., Saha, S., Mandal, S., Mandal, S. M., Ghosh, A. K., & Basak, A. (2018). Chloramphenicol-borate/boronate complex for controlling infections by chloramphenicol-resistant bacteria. *RSC Advances*, *8*(32), 18016–18022. https://doi.org/10.1039/c8ra02227e

Bidet, P., Verdet, C., Gautier, V., Bingen, E., Arlet, G., & . (2005). First description of DHA-1 ampC β-lactamase in Proteus mirabilis. *Clinical Microbiology and Infection*, *11*(7), 591–592. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01178.x

Biquand, A. (2018). *Les infections à Pseudomonas aeruginosa et leurs traitements en 2017 To cite this version : HAL Id : dumas-01811962 Ariane Biquand Les Infections à Pseudomonas aeruginosa et leurs traitements en 2017*.

Bischoff, K. M., White, D. G., Hume, M. E., Poole, T. L., Nisbet, D. J., & ... (2005). The chloramphenicol resistance gene cmlA is disseminated on transferable plasmids that confer multiple-drug resistance in swine Escherichia coli. *FEMS Microbiology Letters*, *243*(1), 285–291. https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.12.017

Blanca, M., Romano, A., Torres, M. J., Férnandez, J., Mayorga, C., Rodriguez, J., Demoly, P., Bousquet, P. J., Merk, H. F., Sanz, M. L., Ott, H., & Atanasković-Marković, M. (2009).

Update on the evaluation of hypersensitivity reactions to betalactams. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *64*(2), 183–193. https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2008.01924.x

Blazquez, J., Morosini, M. I., Negri, M. C., Baquero, F., ..., & ... (2000). Selection of naturally occurring extended-spectrum TEM β-lactamase variants by fluctuating β-lactam pressure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *44*(8), 2182–2184. https://doi.org/10.1128/AAC.44.8.2182-2184.2000

Boudjemaa, H. (2020). *Prévalence et caractérisation moléculaire de la résistance aux antibiotiques chez Proteus mirabilis*. Hassiba Benbou Ali de Chlef.

Boulahlib, N., & Gherraz, C. (2020). Recherche des souches d'Escherichia coli productrices des BLSE d'origine alimentaire. In *1* (Vol. 44). Larbi Ben M'Hidi Oum El Bouaghi.

Boulahouat, M., & Ouamer, A. M. (2020). *Le Coût Économique et Social des Infections Nosocomiales en Algérie The Economic and Social Cost of Nosocomial Infections in Algeria*. *01*(2019), 411–430.

Boulakroune, D., & Maayouf, N. el houda. (2021). *Caractérisation phénotypique des bactéries du genre pseudomonas*. L'arbi Ben M'hidi - Oum El Bouaghi.

Bourahla, N., & Haddache, W. (2015). *Etude de la résistance du Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques au CHU Nedir Mohammed de Tizi Ouzou pendant l'année 2015*. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

Bourahla, N., & Haddache, W. (2016). *Etude de la résistance du Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques au CHU Nedir Mohammed de Tizi Ouzou pendant l'année 2015*.

Bouskraoui, M., Zouhair, S., Soraa, N., Benaouda, A., Zerouali, K., & Mahmoud, M. (2017). Guide pratique des bactéries pathogènes. In *Société Marocaine d'infectiologie pédiatrique et de vaccinologie*.

Boussouf, O., & Yahia Cherif, N. (2020). *Epidémiologie et profils de résistance de Pseudomonas aeruginosa à l ' Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC) Remerciement*. Mentouri Constantine.

Bouzemlel, I., & Cheblaoui, N. (2021). *Etude cytobactériologique de liquide céphalo-rachidien au niveau de l'EPH Medea*. faculté de science de yahia farès.

Brahmia, R., Medareg, N., Tolba Iiham, S., ..., ..., & ... (2016). La resistance des bactéries aux antibiotiques dans l'hopital de Ouedzenati. In *Memoire*. 8 Mai 1945 Guelma.

Brian, J. W. (2022). *Triméthoprime et sulfaméthoxazole - Maladies infectieuses - Édition professionnelle du Manuel MSD*.

Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). Bush and Bradford - 2016 - β-Lactams and β-Lactamase Inhibitors An Overview.pdf. *Cold Spring Harbor Perspectives in Meddicine*, *Table 1*, 22.

Références bibliographiques

Butiuc-Keul, A., Carpa, R., Podar, D., Szekeres, E., Muntean, V., Iordache, D., & Farkas, A. (2021). Antibiotic Resistance in Pseudomonas spp. Through the Urban Water Cycle. *Current Microbiology*, *78*(4), 1227–1237. https://doi.org/10.1007/s00284-021-02389-w

Buxeraud, J. (2020). *Les pénicillines*.

Buxeraud, J., & Faure, S. (2016). Les aminosides ou aminoglycosides. *Actualites Pharmaceutiques*, *55*(558), 13–16. https://doi.org/10.1016/j.actpha.2016.06.003

Caron, F. (2012). L'antibiogramme : Un quadruple outil pour le clinicien. *Journal Des Anti-Infectieux*, *14*(4), 168–174. https://doi.org/10.1016/j.antinf.2012.10.002

Caron, F., GALPERINE, T., ETIENNE, M., MERENS, A., FLATEAU, C., AZRIA, R., & BONACORS, S. (2014). DIAGNOSTIC ET ANTIBIOTHERAPIE DES INFECTIONS URINAIRES BACTERIENNES COMMUNAUTAIRES DE L'ADULTE. In *Splif*.

Caruso, C., Valluzzi, R. L., Colantuono, S., Gaeta, F., Romano, A., & . (2021). β-Lactam Allergy and Cross-Reactivity: A Clinician's Guide to Selecting an Alternative Antibiotic. *Journal of Asthma and Allergy*, *14*, 31–46. https://doi.org/10.2147/JAA.S242061

Charles, V. P., & Toai, B. (2022). *Cephalosporins - StatPearls - NCBI Bookshelf* (Vol. 17, pp. 1–17).

Chau, N. T. T., Hieu, N. X., Thuan, L. T. N., Matsumoto, M., Miyajima, I., & ... (2011). Identification and characterization of actinomycetes antagonistic to pathogenic Vibrio spp. Isolated from shrimp culture pond sediments in thua Thien Hue-Viet Nam. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, *56*(1), 15–22. https://doi.org/10.5109/19532

Chen, C. Y., Chen, Y. H., Lu, P. L., Lin, W. R., Chen, T. C., & Lin, C. Y. (2012). Proteus mirabilis urinary tract infection and bacteremia: Risk factors, clinical presentation, and outcomes. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, *45*(3), 228–236. https://doi.org/10.1016/j.jmii.2011.11.007

CHOPRA, I., & ROBERTS, M. (2001). *Tetracycline Antibiotics : Mode of Action , Applications , Molecular Biology , and Epidemiology of Bacterial Resistance*. *65*(2), 232–260. https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232

Chouh, F., Amina, C., Siad, R., ..., ..., & .. (2019). *Profil de résistance aux antibiotiques des bacilles Gram négatif isolés à partir des urines au laboratoire de microbiologie au CHU Nedir Mohammed de Tizi-Ouzou durant l'année 2018*.

Clasen, J., Birkegård, A. C., Græsbøll, K., Folkesson, A., ..., & ... (2019). Evolution of TEM-type extended-spectrum β-lactamases in Escherichia coli by cephalosporins. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *19*, 32–39. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.03.010

Coudron, P. E. (2005). Inhibitor-Based Methods for Detection of Plasmid-Mediated AmpC β-Lactamases in Klebsiella spp., Escherichia coli, and Proteus mirabilis. *Journal of Clinical Microbiology*, *43*(8), 4163–4167. https://doi.org/10.1128/JCM.43.8.4163

D'Argenio, D. A., Gallagher, L. A., Berg, C. A., Colin, M., ..., & ... (2000). Drosophila melanogaster as a model host for studying Pseudomonas aeruginosa infection. *JOURNAL OF BACTERIOLOGY, Vol. 183*(4), 1466–1471. https://doi.org/10.1038/nprot.2009.124

Dallemagne, M. J. (1959). Pharmacologie et pharmacothérapie dentaire. *Biochemical Pharmacology*, *2*(2), 155. https://doi.org/10.1016/0006-2952(59)90084-x

Dauvergne, E. (2019). *Détection de gènes de résistance aux antibiotiques dans les bactéries isolées des produits de la mer*. 56.

Debabza, M. (2015). *Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire*. Badji Mokhtar-Annaba.

Del Bano, j p. (2021). *ECBU : technique, résultats, interprétation | Le Guide Santé*.

Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., Bingen, É., Quentin, R., & ... (2007). Bactériologie médicale, techniques usuelles. In *Revue Francophone des Laboratoires* (Vol. 2007, Issue 397). https://doi.org/10.1016/s1773-035x(07)80677-0

Deschaght, P., De Baere, T., Van Simaey, L., Van Daele, S., De Baets, F., De Vos, D., Pirnay, J. P., & Vaneechoutte, M. (2009). Comparison of the sensitivity of culture, PCR and quantitative real-time PCR for the detection of Pseudomonas aeruginosa in sputum of cystic fibrosis patients. *BMC Microbiology*, *9*, 1–7. https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-244

Diggle, S. P., & Whiteley, M. (2020). Microbe profile: Pseudomonas aeruginosa: Opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology (United Kingdom)*, *166*(1), 30–33. https://doi.org/10.1099/mic.0.000860

Drzewiecka, D. (2016). Significance and Roles of Proteus spp. Bacteria in Natural Environments. *Microbial Ecology*, *72*(4), 741–758. https://doi.org/10.1007/s00248-015-0720-6

Dubreuil, L., Goldstein, F., Jarlier, V., Morel, C., Philippon, A., Rouveix, B., Sirot, J., Soussy, C., & Thabaut, A. (2020). Comité de l 'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. *Société Française de Microbiologie*, *1.1*, 181.

Ducel, G., Fabry, J., Nicolle L., ..., ..., & ... (2002). Prévention des infections nosocomiales Guide pratique 2e édition. In *Organisation mondiale de la Santé* (Vol. 24, Issue 1).

Ebrahimi-shahabi, R. (2022). *Genetic Cassettes Profiling of Class I Integron and Antimicrobial Susceptibility Profiles Among Pseudomonas aeruginosa Isolates Collected from Patients in North of Iran*. *15*(2), 4–8. https://doi.org/10.5812/jjm-120079.Research

El-Gaby, M. S. A., Ammar, Y. A., El-Qaliei, M. I. H., Ali, A. M., Hussein, M. F., & Faraghally, F. A. (2020). Sulfonamides: Synthesis and the recent applications in medicinal chemistry. *Egyptian Journal of Chemistry*, *63*(12), 5289–5327. https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2020.33860.2707

El-Tarabili, R. M., Ahmed, E. M., Alharbi, N. K., Alharbi, M. A., AlRokban, A. H., Naguib, D., Alhag, S. K., El Feky, T. M., Ahmed, A. E., & Mahmoud, A. E. (2022). Prevalence, antibiotic profile, virulence determinants, ESBLs, and non-β-lactam encoding genes of MDR Proteus spp. isolated from infected dogs. *Frontiers in Genetics*, *13*(October), 1–13. https://doi.org/10.3389/fgene.2022.952689

Facciolà, A., Gioffrè, M. E., Chiera, D., Ferlazzo, M., Virgà, A., & Laganà, P. (2022). Evaluation of antibiotic resistance in Proteus spp: a growing trend that worries Public Health. Results of 10 Years of Analyiss. *The New Microbiologica*, *45*(4), 269–277.

Fanglian, H. (2011). *E. coli Genomic DNA Extraction*. www.bio-protocol.org/e97

Fanny, R. (2011). *HYPERSENSIBILITE AUX SULFAMIDES ANTIBACTERIENS DANS LE SYNDROME DE STEVENS-JOHNSON*.

Gaurab, K. (2018). ESBL (Extended Spectrum beta-Lactamases) and types - Online Biology Notes. *Pharmaceutical Microbiology*.

Gholami-Ahangaran, M., Moravvej, A. H., Safizadeh, Z., Nogoorani, V. S., Zokaei, M., & Ghasemian, S. O. (2021). The evaluation of ESBL genes and antibiotic resistance rate in Escherichia coli strains isolated from meat and intestinal contents of turkey in Isfahan, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, *22*(4), 318–325.

Goldenberger, D., Ritzler, M., Altwegg, M., ..., ..., & ... (1995). *A Simple " Universal " DNA Extraction Procedure Using SDS and Proteinase K Is Compatible with Direct PCR Amplification*. *1*, 368–371.

Griffith, E. C., Wallace, M. J., Wu, Y., Kumar, G., Gajewski, S., Jackson, P., Phelps, G. A., Zheng, Z., Rock, C. O., Lee, R. E., & White, S. W. (2018). The structural and functional basis for recurring sulfa drug resistance mutations in Staphylococcus aureus dihydropteroate synthase. *Frontiers in Microbiology*, *9*(JUL), 1–16. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01369

Grossman, T. H. (2016). *Tetracycline Antibiotics and Resistance*. 1–24.

Gu, W., Wang, W., Tong, P., Liu, C., Jia, J., Lu, C., Han, Y., Sun, X., Kuang, D., Li, N., & Dai, J. (2020). Comparative genomic analysis of Proteus spp. Isolated from tree shrews indicated unexpectedly high genetic diversity. *PLoS ONE*, *15*(2). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229125

Guern, L. (2019). *Résistance chez les bacilles Gram négatif*.

Gupta, K., Hooton, T. M., Stamm, W. E., ..., ..., & ... (2001). Increasing antimicrobial resistance and the management of uncomplicated community-acquired urinary tract

infections. In *Annals of Internal Medicine* (Vol. 135, Issue 1, pp. 41–50). https://doi.org/10.7326/0003-4819-135-1-200107030-00012

Hamdouch, C., & Taibi, A. (2016). *Proteus mirabilis au niveau CHU Constantine Caractérisation biochimique , microbiologique et la mutagénèse*.

Hamilton, A. L., Kamm, M. A., Ng, S. C., Morrison, M., ..., & ... (2018). Proteus spp. as putative gastrointestinal pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, *31*(3), 1–19. https://doi.org/10.1128/CMR.00085-17

Hatzenbuehler, J., & Pulling, T. J. (2011). Diagnosis and management of osteomyelitis. *American Family Physician*, *84*(9), 1027–1033. https://doi.org/10.2165/00019053-199916060-00003

Heikrujam, J., Kishor, R., Behari Mazumder, P., .., ..., & ... (2020). The Chemistry Behind Plant DNA Isolation Protocols. *Biochemical Analysis Tools - Methods for Bio-Molecules Studies*, 1–12. https://doi.org/10.5772/intechopen.92206

Hernández, A., Sánchez, M. B., Martínez, J. L., ..., ..., & ... (2011). Quinolone resistance: Much more than predicted. *Frontiers in Microbiology*, *2*(FEB), 1–6. https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00022

Holt, J. G., , Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Stanley, J. T., William, S. T., & ... (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams and Wilikins*.

http://www.thermo.com/pierce. (n.d.).

Ioannou, P., & Vougiouklakis, G. (2020). Infective endocarditis by proteus species: A systematic review. *Germs*, *10*(3), 229–239. https://doi.org/10.18683/germs.2020.1209

Izard, T., & Ellis, J. (2000). The crystal structures of chloramphenicol phosphotransferase reveal a novel inactivation mechanism. *EMBO Journal*, *19*(11), 2690–2700. https://doi.org/10.1093/emboj/19.11.2690

Jacoby, G. A. (2009). AmpC B-Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, *22*(1), 161–182. https://doi.org/10.1128/CMR.00036-08

Jalolitdin, N., & Erkinovich, S. (2022). *Bacteria of the genus proteus as sanitary indica ive microorganisms of water bodies*. *4*(1), 4–6. https://doi.org/10.37532/puljem.22.4(1).1

Javiya, V., Ghatak, S., Patel, K., & Patel, J. (2008). *Antibiotic susceptibility patterns of Pseudomonas aeruginosa at a tertiary care hospital in Gujarat , India*. *40*(5), 230–234.

Jeannot, K. (2017). Actualités sur la Résistance chez Pseudomonas aeruginosa et stratégie d ' utilisation des antibiotiques anti- Pseudomonas. *DESC Pathologie Infectieuse et Tropicale Actualités*.

Jeon, J. H., Lee, J. H., Lee, J. J., Park, K. S., Karim, A. M., Lee, C. R., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2015). Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases

conferring antibiotic resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(5), 9654–9692. https://doi.org/10.3390/ijms16059654

Jia, J., Wang, X., Deng, P., Ma, L., Baird, S. M., Li, X., & Lu, S. E. (2020). Pseudomonas glycinae sp. nov. isolated from the soybean rhizosphere. *MicrobiologyOpen*, *9*(9), 1–16. https://doi.org/10.1002/mbo3.1101

Johnson, D. I. (2018). *Bacterial Pathogens and Their Virulence Factors*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-67651-7_24

JONES, C. S., OsBoRNEt, D. J., & J, S. (1992). *Cloning of a probe for a previously undescribed enterobacterial tetracycline resistance gene*. *1981*, 106–108.

Kamga, H. G., Nzengang, R., Toukam, M., Sando, Z., & Shiro, S. K. (2014). *infections urinaires communautaires dans la ville de Yaoundé (Cameroun) Ph ´ enotypes de r ´ esistance des souches d ' Escherichia coli responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaound ´ e (Cameroun)*. *January*. https://doi.org/10.4303/ajpm/235891

Kansaye, C. H. (2020). *Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées de pus, d'hémoculture et de selles au CHU du point G*. UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO.

Kemnic, T., & Coleman, M. (2021). Trimethoprim Sulfamethoxazole - StatPearls - NCBI Bookshelf. In *StatPearls*.

Khanfar, H. (2017). *MOLECULAR EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE (ESBL) PRODUCING BACTERIA FROM A HOSPITAL WITHIN SAUDI ARABIA . Institute of Biomedical and Biomolecular Sciences*. university of portsmouth.

Kim, B., Euzéby, J. P., Abbott, S. L., Coker, C., Ronald, A., & Kumarasamy, K. (2011). *Fiche Technique Santé-Sécurité _ Agents Pathogènes – Proteus spp*.

Kim, C., Jung, W. K., Shin, S. R., Noh, S. M., Yang, Y. J., & Shin, S. (2021). *AmpC β - Lactamase producing Proteus mirabilis isolates from dogs and cats in South Korea*. *45*(1), 18–22.

Kirby, J. T., Sader, H. S., Walsh, T. R., Jones, R. N., ..., & ... (2004). Antimicrobial Susceptibility and Epidemiology of a Worldwide Collection of Chryseobacterium spp.: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). *Journal of Clinical Microbiology*, *42*(1), 445–448. https://doi.org/10.1128/JCM.42.1.445-448.2004

Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R., Connolly, L. E., ..., & ... (2016). *Aminoglycosides : An Overview*. 1–18.

Kwon, J., Yang, M., Ko, H., Kim, S., Park, C., & Park, S. (2022). *Antimicrobial Resistance and Virulence Factors of Proteus mirabilis Isolated from Dog with Chronic Otitis Externa*. 1–9.

Lam, J. S., Taylor, V. L., Islam, S. T., Hao, Y., Kocíncová, D., & ... (2011). Genetic and functional diversity of Pseudomonas aeruginosa lipopolysaccharide. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 2, Issue JUNE). https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00118

Lee, S., Kang, H., Do, Y., Lee, G., Kim, J., & Han, H. (2016). High-precision THz dielectric spectroscopy of Tris-HCl buffer. *Journal of the Optical Society of Korea*, *20*(3), 431–434. https://doi.org/10.3807/JOSK.2016.20.3.431

Leulmi, Z., Kandouli, C., Mihoubi, I., Benlabed, K., Lezzar, A., & Rolain, J. M. (2019). First report of bla OXA-24 carbapenemase gene, armA methyltransferase and aac(6′)-Ib-cr among multidrug-resistant clinical isolates of Proteus mirabilis in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *16*, 125–129. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.08.019

Lewis, C., & Allen, D. (2001). General prescribing principles. Improving practice. *Nursing Standard (Royal College of Nursing (Great Britain) : 1987)*, *17*(38), 2p. https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933

Liang, P., Fang, X., Hu, Y., Yuan, M., Raba, D. A., Ding, J., Bunn, D. C., Sanjana, K., Yang, J., Rosas-Lemus, M., Häse, C. C., Tuz, K., & Juárez, O. (2020). The aerobic respiratory chain of Pseudomonas aeruginosa cultured in artificial urine media: Role of NQR and terminal oxidases. *PLoS ONE*, *15*(4), 1–20. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231965

Livermore, D. M. (1995). B-Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, *8*(4), 557–584. https://doi.org/10.1128/cmr.8.4.557-584.1995

Lombes, A., Bonnin, R. A., Laurent, F., Guet-Revillet, H., Bille, E., Cattoir, V., Fangous, M. S., Le Brun, C., Fihman, V., Janvier, F., Otto, M. P., Potron, A., Corvec, S., D'epenoux, L. R., Mizrahi, A., & Dortet, L. (2022). High Prevalence of OXA-23 Carbapenemase-Producing Proteus mirabilis among Amoxicillin-Clavulanate-Resistant Isolates in France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *66*(2). https://doi.org/10.1128/aac.01983-21

Lupo, V. (2018). *Origine et évolution des bêta-lactamases de classe D*. Université de Liège.

Lv, P., Hao, G., Cao, Y., Cui, L., Wang, G., & Sun, S. (2022). Detection of Carbapenem Resistance of Proteus mirabilis Strains Isolated from Foxes, Raccoons and Minks in China. *Biology*, *11*(2), 1–18. https://doi.org/10.3390/biology11020292

Macwilliams, M. P., & Liao, M.-K. (2016). Luria Broth (LB) and Luria Agar (LA) Media and Their Uses Protocol. *American Society for Microbiology*, *October 2006*, 1–4.

Maleb, A., Lahrache, K., Lamrabat, S., Rifai, S., Amrani, R., Messaoudi, S., Benajiba, N., Rkain, M., Frikh, M., & Elouennass, M. (2019). Les infections urinaires infantiles au centre

hospitalier universitaire Mohammed VI d ' Oujda (Maroc). *Journal de Pediatrie et de Puericulture*, 1–8. https://doi.org/10.1016/j.jpp.2019.07.001

Marshall, B., Morrissey, S., Flynn, P., & Levy, S. B. (1986). *A new tetracycline-resistance determinant , class E , isolated from Enterobacteriaceae*. *50*, 111–117.

Martínez, J. L. (2019). Mechanisms of action and of resistance to quinolones. *Antibiotic Drug Resistance*, *01805*(Suppl 2), 39–55. https://doi.org/10.1002/9781119282549.ch2

Mazumder, S., Bronze, M. S., Talavera, F., Glatt, A., Gonzalez, G., Jackson, R. L., & Struble, K. (2023). *Proteus Infections_ Background, Pathophysiology, Epidemiology*.

Mebarki, M. (2018). Isolement et caractérisation des bactéries impliquées dans les infections communautaires à la région de M'CHEDALLAH. *Gestion*, 2007–2008.

Memdouh, S., & Reddaf, N. (2018). *Mémoire Thème Les infections à Pseudomonas aeruginosa au CHU de Constantine*.

Mohsen, S., Dickinson, J. A., Somayaji, R., ..., ..., & ... (2020). Mise à jour sur les effets indésirables des traitements antimicrobiens en pratique communautaire. *Canadian Family Physician*, *66*(9), E228–E237.

Mokhtari, L. (2017). *Sélection et étude de peptides inhibiteurs multi-cibles visant les Mur ligases chez Pseudomonas aeruginosa*.

Moulin, M., & Antoine, C. (2002). *Pharmacologie* (MASSON (Ed.); 2 edition).

Murray, P. R., Pfaller, K., Rosenthal, S., Michael, P. ., .., & ... (2012). *Medical Microbiology(chaptre22)* (7th editio).

Naas, T., Poirel, L., Nordmann, P., ..., ..., & ... (2008). *Minor extended-spectrum b - lactamases*. *14*, 42–52.

Nairobi, O. (2006). *iX fW ' l oC*.

Njoya, A. M., Eheth, J. S., Yogne, Y. P., Metsopkeng, C. S., Moldovan, C.-V., Belengfe, S. C., Ngando, L., Simo, M. K., Nana, P. A., Tamnou, E. B. M., Masseret, E., Sime-Ngando, T., & Nola, M. (2022). Proteus bacteria species from hospital sewage and Mfoundi River in Yaounde (Cameroon, Central Africa): Comparison of the diversity, abundance and susceptibility against some β-lactams, Quinolones and Aminoglycosides antibiotics. *Journal of Advances in Microbiology Research*, *3*(2), 34–46. https://doi.org/10.22271/micro.2022.v3.i2a.47

O'Hara, C. M., Brenner, F. W., Miller, J. M., ..., ..., & ... (2000). Classification, identification, and clinical significance of Proteus, Providencia, and Morganella. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 13, Issue 4). https://doi.org/10.1128/CMR.13.4.534-546.2000

Odoi, H., Boamah, V. E., Boakye, Y. D., & Agyare, C. (2021). *Prevalence and Phenotypic and Genotypic Resistance Mechanisms of Multidrug-Resistant Pseudomonas aeruginosa*

Strains Isolated from Clinical , Environmental , and Poultry Litter Samples from the Ashanti Region of Ghana. *2021*.

Oliveira, C., Amador, P., Prudêncio, C., Tomaz, C. T., Tavares-ratado, P., & Fernandes, R. (2019). ESBL and AmpC β-lactamases in clinical strains of Escherichia coli from Serra da Estrela, Portugal. *Medicina (Lithuania)*, *55*(6). https://doi.org/10.3390/medicina55060272

Oliver, R. (2021). Aminoglycosides* Overview. *Angewandte Chemie International Edition, 6(11), 951–952.*, 2013–2015.

Ovung, A., & Bhattacharyya, J. (2021). Sulfonamide drugs: structure, antibacterial property, toxicity, and biophysical interactions. *Biophysical Reviews*, *13*(2), 259–272. https://doi.org/10.1007/s12551-021-00795-9

Pachori, P., Gothalwal, R., Gandhi, P., ..., ..., & ... (2019). Emergence of antibiotic resistance Pseudomonas aeruginosa in intensive care unit; a critical review. *Genes and Diseases*, *6*(2), 109–119. https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.04.001

Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., Cheng, Z., & ... (2019). Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*, *37*(1), 177–192. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013

Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., Bonomo, R. A., ..., & ... (2011). Carbapenems: Past, present, and future. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *55*(11), 4943–4960. https://doi.org/10.1128/AAC.00296-11

Pham, T. D. M., Ziora, Z. M., Blaskovich, M. A. T., ..., ..., & ... (2019). Quinolone antibiotics. *MedChemComm*, *10*(10), 1719–1739. https://doi.org/10.1039/c9md00120d

Philippon, A. (2013). Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE). *Immuno-Analyse et Biologie Specialisee*, *28*(5-6), 287–296. https://doi.org/10.1016/j.immbio.2013.04.006

Prasastha Ram, V., Venkateswara Rao, L., Srinivasa Rao, T., Subramanyam, K. V., Suresh, Y., & Srinivas, K. (2022). A Study on Antibiogram and Beta-lactam Resistance of Proteus mirabilis Isolated fromAnimals and Humans in Andhra Pradesh, India. *Indian Journal of Animal Research*, *56*(5), 607–612. https://doi.org/10.18805/IJAR.B-4184

Quénard, F., Drancourt, M., Brouqui, P., ..., .., & ... (2018). Les effets indésirables des aminosides dans la tuberculose résistante : le « traitement court », une solution ? *Médecine et Maladies Infectieuses*, *48*(4), S117. https://doi.org/10.1016/j.medmal.2018.04.296

Rafiee, R., Eftekhar, F., Tabatabaei, S. A., & Tehrani, D. M. (2014). *Prevalence of Extended-Spectrum and Metallo β -Lactamase Production in AmpC β -Lactamase Producing Pseudomonas aeruginosa Isolates From Burns*. *7*(9), 23–28. https://doi.org/10.5812/jjm.16436

Rajalakshmi, S. (2017). Different Types of Pcr Techniques and Its Applications. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, *7*(3), 285–292.

Rakotovao-Ravahatra, Z. D., Randriatsarafara, F. M., Rasoanandrasana, S., Raverohanta, L., Rakotovao, A. L., ..., ..., & ... (2017). Phénotypes de résistance des souches d'escherichia coliresponsables d'infection urinaire au laboratoire du centre hospitalo-universitaire de befelatanana antananarivo. *Pan African Medical Journal*, *26*, 1–10. https://doi.org/10.11604/pamj.2017.26.166.11828

Ramachanderan, R., & Schaefer, B. (2021). Tetracycline antibiotics. In *ChemTexts* (Vol. 7, Issue 3). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/s40828-021-00138-x

Rawat, D., & Nair, D. (2010). Extended-spectrum ß-lactamases in gram negative bacteria. *Journal of Global Infectious Diseases*, *2*(3), 263. https://doi.org/10.4103/0974-777x.68531

Razik, F., & Zeroual, M. (2019). *Phénicolés (chloramphénicol et thiamphénicol) - EM consulte* (p. 5).

Ringold, G., Dieckmann, B., Lee, F., ..., ..., & ... (1981). *Co-expression and amplification of dihydrofolate reductase cDNA and the Escherichia coli XGPRT gene in Chinese hamster ovary cells*.

Roberts, M. C. (2003). Tetracycline therapy: Update. *Clinical Infectious Diseases*, *36*(4), 462–467. https://doi.org/10.1086/367622

Ryan, K. ., & Ray, george. . (2003). Medical microbiology 2003. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).

Sagar, A. (2022). Hektoen Enteric Agar- Composition, Principle, Preparation, Results, Uses. *Microbe Notes*.

Sajjan, S. (2022). *Antibiogram and molecular detection of beta-lactamase genes in Proteus mirabilis isolated from pork, chicken meat and chicken cloacal swabs*. *11*(7), 4777–4781.

Sathiananthamoorthy, S. (2018). *Characterisation of the Urinary Microbial Community and Its Association With Lower Urinary*. College London.

Sbiti, M., Bouhamidi, B., Louzi, L., ..., ..., & ... (2017). Arthrite septique à proteus mirabilis. In *Pan African Medical Journal* (Vol. 26). https://doi.org/10.11604/pamj.2017.26.197.12271

Schmidt, Agga, G. E., Bosilevac, J. M., Brichta-Harhay, D. M., Shackelford, S. D., Wang, R., Wheeler, T. L., & Arthur, T. M. (2015). Occurrence of antimicrobial-resistant Escherichia coli and Salmonella enterica in the beef cattle production and processing continuum. *Applied and Environmental Microbiology*, *81*(2), 713–725. https://doi.org/10.1128/AEM.03079-14

Schultz-Ascensio, E. (2018). Diffusion d ' îlots génomiques de multirésistance aux antibiotiques chez Proteus mirabilis. *Thèse de Doctorat : Infectiologie et Vaccinologie. Tours : Université de Tours*, 1–170.

Selvarajan, R., Obize, C., Sibanda, T., Abia, A. L. K., Long, H., & ... (2023). Evolution and Emergence of Antibiotic Resistance in Given Ecosystems: Possible Strategies for Addressing the Challenge of Antibiotic Resistance. *Antibiotics*, *12*(1). https://doi.org/10.3390/antibiotics12010028

Shahi, S. K., & Kumar, A. (2016). Isolation and genetic analysis of multidrug resistant bacteria from diabetic foot ulcers. *Frontiers in Microbiology*, *6*(JAN), 1–13. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01464

Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. D., Kamal, M. A., & ... (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *22*(1), 90–101. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.08.002

Shakil, S., Ali, H. M., Zarrilli, R., & Khan, A. U. (2012). Extended spectrum beta lactamases: A critical update. *Multidrug Resistance A Global Concern*, *18*(4), 115–129. https://doi.org/10.2174/978160805292911201010115

Shams, E., Nateghi, B., Eshaghiyan, A., & Behshood, P. (2019). *TEM Gene Detection in Clinical Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli Samples*. *7*(1), 43–51. https://doi.org/10.18502/rmm.v7i1.5258

Sharma, P. C., Jain, A., Jain, S., ..., .., & ... (2009). Fluoroquinolone antibacterials: A review on chemistry, microbiology and therapeutic prospects. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, *66*(6), 587–604.

Shehata, S. B. (2022). *Taq Polymerase: The Key to PCR Testing*.

Shetty, P. (2020). The Evolution of DNA Extraction Methods. *American Journal of Biomedical Science & Research*, *8*(1), 39–45. https://doi.org/10.34297/ajbsr.2020.08.001234

Song, Q., Xu, Z., Gao, H., Zhang, D., ..., & .. (2018). Overview of the development of quinolone resistance in Salmonella species in China, 2005-2016. *Infection and Drug Resistance*, *11*, 267–274. https://doi.org/10.2147/IDR.S157460

SOUSSY, J. (2013). COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE. *Comité De L'Antibio*, *2012*(en 2012).

Stabler, S. (2022). *Prise en charge des infections urinaires*.

Sutton, M. D., Kim, M., Walker, G. C., ..., ..., & ... (2001). Genetic and Biochemical Characterization of a Novel. *Microbiology*, *183*(1), 347–357.

Talebi, A., Momtaz, H., & Tajbakhsh, E. (2023a). *Frequency distribution of virulence factors and antibiotic resistance genes in uropathogenic Proteus species isolated from clinical samples*. *January*, 1–8.

Talebi, A., Momtaz, H., & Tajbakhsh, E. (2023b). Frequency distribution of virulence factors and antibiotic resistance genes in uropathogenic Proteus species isolated from clinical samples. *Letters in Applied Microbiology*, *76*(2), 1–8. https://doi.org/10.1093/lambio/ovac043

Tang, K., & Zhao, H. (2023). Quinolone Antibiotics: Resistance and Therapy. *Infection and Drug Resistance*, *16*(February), 811–820. https://doi.org/10.2147/IDR.S401663

TOUMI, D. A. (2008). LES AMINOSIDES Dr Adnene TOUMI Service des Maladies Infectieuses CHU Fattouma Bourguiba-Monastir. *Service Des Maladies Infectieuses CHU Fattouma Bourguiba - Monastir*, *80*.

Tran, H. A., Vu, T. N. B., Trinh, S. T., Tran, D. L., Pham, H. M., Ngo, T. H. H., Nguyen, M. T., Tran, N. D., Pham, D. T., Dang, D. A., Shibayama, K., Suzuki, M., Yoshida, L. M., Trinh, H. S., Le, V. T., Vu, P. T., Luu, T. V. N., Bañuls, A. L., Trinh, K. L., … Van Doorn, H. R. (2021). Resistance mechanisms and genetic relatedness among carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa isolates from three major hospitals in Hanoi, Vietnam (2011-15). *JAC-Antimicrobial Resistance*, *3*(3), 1–9. https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab103

Tunkel, A. R., Hartman, B. J., Kaplan, S. L., Kaufman, B. A., Roos, K. L., Scheld, W. M., & Whitley, R. J. (2004). Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clinical Infectious Diseases*, *39*(9), 1267–1284. https://doi.org/10.1086/425368

Varela-Ramirez, A., Abendroth, J., Mejia, A. A., Phan, I. Q., Lorimer, D. D., Edwards, T. E., & Aguilera, R. J. (2017). Structure of acid deoxyribonuclease. *Nucleic Acids Research*, *45*(10), 6217–6227. https://doi.org/10.1093/nar/gkx222

Veyssiere, A. (2020). *La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019 Anaïs Veyssiere To cite this version : HAL Id : dumas-02432394 DIPLOME D ' ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE Présentée et s*. 106.

Volkers, M. (2019). No TitleΕΛΕΝΗ. *Αγαη*, *8*(5), 55.

White, P. A., Stokes, H. W., Bunny, K. L., Hall, R. M., ..., & ... (1999). Characterisation of a chloramphenicol acetyltransferase determinant found in the chromosome of Pseudomonas aeruginosa. *FEMS Microbiology Letters*, *175*(1), 27–35. https://doi.org/10.1016/S0378-1097(99)00171-8

Wróbel, A., Arciszewska, K., Maliszewski, D., Drozdowska, D., ..., & ... (2020). Trimethoprim and other nonclassical antifolates an excellent template for searching modifications of dihydrofolate reductase enzyme inhibitors. *Journal of Antibiotics*, *73*(1), 5–27. https://doi.org/10.1038/s41429-019-0240-6

Zardelon ZITTI, T. (2014). *MISE EN PLACE DE LA SURVEILLANCE DES RESISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES DES GERMES RESPONSABLES D'INFECTIONS URINAIRES DANS LE LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX*. UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO.

Références bibliographiques

ZAWAIRA, F., Alimata, D.-N., CABRAL, D., FALL, I.-S., MIHIGO, R., HAROUNA, M., FOUDA BITA, A. A., & MWENDA, D. M. J. (2018). *Procédures opérationnelles Standard pour la Surveillance , la Préparation et la Riposte aux Epidémies de Méningite en Afrique Procédures opérationnelles Standard pour la Surveillance , la Préparation et la Riposte aux Epidémies de Méningite en Afrique*.

Ziad, R., & Sebboua, R. (2021). *Bactériologie de la suppuration au CHU de Constantine (étude sur 16 mois)*. Frères Mentouri Constantine 1.