Rèpublique Algèrienne Dèmocratique Et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Yahia Fares -Mèdèa-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie

Mémoire Présentè en vue de l'obtention du diplôme de Master En Microbiologie Appliquée

Option : MICROBIOLGIE APPLIQUEE

Par :

Haddouche Nour El Houda

Benouared Nabila

Kheznadji Karima

Thème :

Caractèrisation des Phènotypes de rèsistance aux Beta-Lactamine des souches d'Entèrobactèries Uropathogènes.

Devant le jury composè de :

Président :	Kaaboub El-Aid	MCB	SNV Médéa
Examinatrice:	Razali Kahina	MAA	ISV Blida
Encadreur :	Salhi Omar	MCA	ISV Blida
Co-encadreur :	Rahal Mohamed	MCA	SNV Médéa

Année universitaire : 2022/2023


بسم الله الرحمن الرحيم

Remerciements

«Nos remerciements s'adressent d'abord à Dieu, crèateur de toutes choses de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail, Et qui nous a éclairé les chemins par la lumière de son immense ».

Aussi Nous remercions :

Notre Encadreur de mèmoire, **Le Docteur Omar Salhi** et Le co-encadreur **Docteur Rahal Mohamed**

d'avoir acceptè de nous avoir encadrè dans la conception et l'èlaboration de ce travail, et aussi pour le dèvouement manifestè malgrè toutes ses nombreuses occupations .

Mr. KAABOUB

d'avoir ménagé son temps pour présider ce jury

Mlle RAZALI

pour avoir bien voulu siéger dans ce jury afin d'examiner et critiquer ce mémoire et nous éclairer par ces précieux conseils.

Docteur de Bactèriologie à L'hopital de Mohamed Boudiaf à Mèdèa Et Mme. Manacer Dalila , Mme. Cheblaoui Nouria, Mme. MarmouzMadina Les Microbiologistes de l'ètablissement de Mouhamed Boudiaf à Mèdèa,

Aucun remerciement ne saurait exprimer notre respect et considération pour les orientations que vous avez consenties pour notre recherche et notre partie pratique Au niveau de l'hopital Mohamed Boudiaf de Mèdèa .

Mr. Bengherbia Baraa Et Mme Fares Roufaida de nous avoir Donnè un coup de main.

A nos Parents

Pour l'enfance merveilleuse qu'ils nous ont offerte ainsi que pour leurs encouragements. Pour leurs soutiens et leurs aides. Avec tout notre amour.

A tous nos amis

Pour leurs bonnes humeurs, leurs gentillesses. Pour tout ce qu'ils nous ont appris Merci à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre qui ont contribué à la réalisation de ce travail, et que nous ne pouvons citer individuellement

Dèdicaces

Je dèdie ce travail

A la personne qui compte le plus pour moi , Mon père Haddouche Fayçal, Je te dois ce que je suis et ce que je sarai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fièrtè et ne jamais te dècevoir .

A la source de vie et de joie, Ma chère Maman Fadila, Tu as toujours ètèprèsente à mes cotès pour me consoler quand il fallait. En ce jour mèmorable, pour moi ainsi que pour toi, recoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et mon profond estime .

A Mon cher frère Abdelhak et ma chère petite sœur Sabrina .

A ma grand-mère Aisset Fatiha que dieu le tout puissant te prèserve.

A mon oncleFodhil et sa femme Rachida, mes tantes Fatiha, Meriem, Khadidja, Kheira, Zouhra ainsi mes cousins et cousines matèrnelet tous les membres de la famille Boudrae .

A mes oncles Hichem, Mohamed, Sofian, spècialement Farid haddouche pour son soutien et encouragement, ma tante Assiaet mes cousins et cousines patèrnelles .

A Mes Tantes Farida et Zoulikha Et SourayaAisset .

A Ma chère cousine Nesrine et mon cousin Zinedinne Zidane.

A ma chère amie Amira et sa maman Kahina .

A mes chères binomes Nabila et Karima .

A mes collegesde promotion de 2ème annèes Master en Microbiologie appliquèeKaouther, Chaima et Ikram .

A la mèmoire de mon oncle Moussa Haddouche et mes grands-pères qui n'ont pas pu assister a mon travail ; Que dieu les accueilles dans son royaume.

A tous mes proches, et tous ceux qui m'aiment♥

Nour El Houda♥

Dédicaces

Avec tous mes respect , avec l'expérience de ma reconnaissance ,

je dédie ma remise de diplôme et ma joie

A la source de ma joie et mon bonheur, ma chére maman massikabengherbia , et mon grand soutien mon chèr père smailkheznadji et toute la famille kheznadji

A celui qui m'a donné l'amour et continuité ,mon cher mari Abderzek , et mes adorables enfants mon fils mohamed et ma fille ines

A ma chère sœur zineb et mes chèrs frères Abdo et mouain

A mes chères tantes et mes chère cousines sarakenzaamelaminamarwayasmine et cousin et toute la famille bengherbia

A ma belle-mère et mon beau-père et toute la famille de mon mari, les plus jeunes (abderahmen et akrem) et les plus agée et toute la famille hantabli

A mes merveilleuse amies et binomes

A tous ceux que nous sont aimons et qui nous aiment

Karima

Dédicaces

Avec tous mes sentiments de respect,avec l'expérience de ma reconnaissance,je dédie ma remise de diplôme et ma joie

Mes remercilents s'adressent d'abord à dieu,créateur de toutes choses, pour sonsouffle et tous ses innombrables bienfaits .

A mon paradis,a la prunelle de mes yeux, a la source de ma joie et mon bonheur,malune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié maman .

A celui qui m'a fait unne femme ;ma source de vie,d'amour et d'affection,a monsupport qui était toujours a mes cotés pour me soutenir et m'encourager,amonprince papa.

A mon cher marie BARAA mon bonheur,mon grand amour, qu'était mon bonassistant tout au long de mon travail, il m'a encouragé et m'a soutenue jusqu'audernier point, que dieu le préserve et paie ses pas .

A mes enfants, ma vie eyad et maria vous étre mon bonheur infini ,mon paradis surterre , ma plus belle lumière que dieu te protèges

A mon cher frère mustapha et sa petite famille, et mes cher frères ilyes et mahdi

A ma belle-mère et le père de mon mari que dieu l'accuille dans son vaste paradis ; et toute la famille de monmari

A mes chères sœurs amel et imen

A toute ma famille

A tous mes amies et spècialement : houdakawtherchaimaikram En souvenir desmoments merveilleux que nous avons passés et la pure amitié. Je vous souhaiteplus de succès.

A mon promoteur et co-promoteur

NABILA

Les Abrèviations

ADH : l'Arginine-dihydrolase

ADN : Acide dèsoxyribonuclèique

AM : Aminopénicillines

AMC :Amoxiciline +Acide clavulanique

AMX : Amoxiciline

ARN : Acide ribonuclèique

Arn-R : Acide ribonuclèique ribosomique

ATB : Antibiotique

ATM :Aztréonam

BLSE : Betalactamase à spectre étendu

BMR : Bactérie multirésistante

BU : Bandelettes urinaire

C.D : Phénotype céphalosporinase déprimée

C1G:Céfalosporine Première génération

C2G : Cèfalosporine Deuxième génération

C3G : Cèfalosporine troisieme génération

C4G : Cèfalosporine quatrième gènération

CAZ :Ceftazidime

CIP :Ciprofloxacine

CL :Colistine

CN :Céfalexine

CRO :Ceftriaxone

CTT : Céfotétan

CTX :Céfotaxime

CXM : Céfuroxime

CZ :Céfazoline

E. aerogenes : Enterobacter aerogenes

E.Coli : Escherichia Coli

ECBU : Examen cytobactériologique des urines

ECEH : Les E. coli entéro-hémorragiques

ECEI : Les E. coli entéro-invasifs

ECEP : Les E. coli entéropathogènes

ECET : Les E. coli entérotoxinogènes

FOX :Céfoxitine

FOX:Céfoxitine

GB :Globule blanc

GLU : Glucose

GM :Gentamicine

GR :Globule rouge

H2S : Sulfure d'hydrogène

IND : Indole

IPM :imipénéme

IU : Infection urinaire

K. Oxytoca : KlebseillaOxytoca

K. Pneumoniae : Klebseilla pneumoniae

Lac : Lactose

LDC : Lysine-dècarboxylase

LE : leucocyte estérase

LPS : lipopolysaccharide

LPS : Lypopolysacharide

MA : céfamandole

MAL : Maltose

MER :méropénème

NIT : Nitrate Rèductase

NR : Nitrate réductase

ODC : l'Ornithine-dècarboxylase

ONPG : L'O-Nitrophènyl-β-D-galactopyranoside

OXA :Oxaciline

P.B.N : Phénotype pénicillinase de bas niveau

P.H.N : phénotype pénicillinase haut niveau

P.S : Phénotype sensibles

PBP : Penicillin Binding protein

PG :Péniciline G

PIP : Pipéracilline

PLP: Protèine de fixation de la pènicilline

PNA : Pyélonéphrite aiguë

PNAC : Pyélonéphrite aiguë compliqèe

R : Résistance naturelle

RM : Rouge de mèthyle

S. Paratyphi : SelmonellaParatyphi

S. Sonnei : ShigellaSonnei

SCN : Staphylocoques a coagulase négative

TDA : Tryptophane dèsaminase

TEM :Temoneira

TIC : Ticarcilline

UPEC : Escherichia coli uropathogène

URE : Urèe

VP : Voges Proskauer

VPP : La valeur prédictive positive

Résumé

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques connaît une évolution mondiale préoccupante avec un impact croissant des β-lactamases à spectre étendu (BLSE), notamment avec l'émergence récente ces dernières années, de nouveaux types de BLSE.

Ces entérobactéries productrices de BLSE sont responsables d'infections uropathogènes dans les hôpitaux et maintenant communautaires. Jusqu'à maintenant, aucune donnée n'est disponible pour permettre de connaître la situation actuelle sur les différents types de BLSE produits par les entérobactéries, dans l'hôpital de Médéa.

Le but de cette étude était de caractériser le type de BLSE, la prévalence, et de rechercher une possible dissémination clonale des souches cliniques d'entérobactéries productrices de β- lactamase à spectre élargi (EBLSE), isolées chez les patients hospitalisés à l'hôpital de Médéa, Algérie

Au total, cent soixante trois souches d'entérobactéries ont été isolées chez quaatre cent trente six patients. Trente souches (7.4 %) ont été productrices de BLSE, répartie comme cela : 13 *Escherichia coli*, 9 *Klebsiella pneumoniae*, 6 *Enterobacter cloacae*, et 2 *Citrobacter freundii.* Excepté pour l'imipénème, la sensibilité aux antibiotiques testés montre une résistance totale à la majorité des céphalosporines de 3éme génération, ainsi qu'une résistance très fréquente aux Aminosides et Fluoroquinolones.

Les β-lactamases étaient prédominantes (97 %). La céphalosporinase et carbapénémases était retrouvé chez trois souches d'*E-coli, Klepseilla et Enterobacter*.

Notre étude a révélé la diffusion de BLSE et de céphalosporinases et carbapénémases dans notre établissement qui expose à un problème croissant de prise en charge thérapeutique. Il s'agit d'un premier rapport réalisé à Médéa.

Mots clés : Entérobactéries, Résistance aux antibiotiques, Epidémiologie, BLSE, céphalosporinases, carbapénémases.

Abstract

Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae is evolving at a worrying rate worldwide, with a growing impact from extended-spectrum β-lactamases (ESBLs), particularly with the recent emergence of new ESBL types.

These ESBL-producing Enterobacteriaceae are responsible for uropathogenic infections in hospitals and now in the community. To date, no data are available to assess the current situation regarding the different types of ESBL produced by enterobacteria in Médéa hospital.

The aim of this study was to characterize ESBL type, prevalence and to investigate possible clonal dissemination of clinical strains of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae (EBLSE) isolated from patients hospitalized at the hospital in Médéa, Algeria.

A total of one hundred and sixty-three strains of Enterobacteriaceae were isolated from four hundred and thirty-six patients. Thirty strains (7.4%) were ESBL producers, distributed as follows: 13 Escherichia coli, 9 Klebsiella pneumoniae, 6 Enterobacter cloacae, and 2 Citrobacter freundii. With the exception of imipenem, sensitivity to the antibiotics tested showed total resistance to the majority of 3rd-generation cephalosporins, as well as very frequent resistance to Aminosides and Fluoroquinolones.

β-lactamases were predominant (97%). Cephalosporinase and carbapenemases were found in three strains of E-coli, Klepseilla and Enterobacter.

Our study revealed the spread of ESBLs and cephalosporinases and carbapenemases in our establishment, which poses a growing problem in terms of therapeutic management. This is the first report from Médéa.

Key words: Enterobacteriaceae, Antibiotic resistance, Epidemiology, ESBL, cephalosporinases, carbapenemases.

ملخص

للمضادات الحيوية تطورًا مثيرًا للقلق في جميع أنحاء العالم مع تأثير Enterobacteriaceae تشهد مقاومة ، ولا سيما مع الظهور الأخير في السنوات الأخيرة لأنواع جديدة β-lactamases (ESBL) متزايد من طيف ESBL. من

هي المسؤولة عن العدوى المسببة للأمراض البولية في المستشفيات ESBL هذه البكتيريا المعوية المنتجة لـ ESBL والآن في المجتمعات. حتى الآن ، لا توجد بيانات متاحة لمعرفة الوضع الحالي للأنواع المختلفة من Médéa. ، في مستشفى enterobacteriaceae التي تنتجها

، والانتشار ، والبحث عن انتشار نسيلي محتمل لسلالات ESBL كان الهدف من هذه الدراسة هو توصيف نوع ، المعزولة عن المرضى في المستشفيات. من المدية ، β-lactamase (ESBL) سريرية من الأمعائية المنتجة الجزائر

في المجموع ، تم عزل مائة وستة وستين سلالة من البكتيريا المعوية من أربعمائة وستة وثلاثين مريضًا. ثلاثون Klebsiella 9، Escherichia coli ، موزعة على النحو التالي: 13 ESBL سلالة (7.4٪) أنتجت باستثناء الإيميبينيم ، تظهر .Citrobacter freundii ، و 2 Enterobacter cloacae 6، pneumoniae الحساسية للمضادات الحيوية التي تم اختبارها مقاومة تامة لغالبية الجيل الثالث من السيفالوسبورينات ، بالإضافة إلى مقاومة متكررة جدًا للأمينوسيدات والفلوروكينولونات.

في carbapenemases كانت إنزيمات بيتا لاكتاماز هي السائدة (97٪). تم العثور على السيفالوسبوريناز و Enterobacter. و Klepseilla و E-coli ثلاث سلالات من

في مؤسستنا مما يعرض carbapenemases و cephalosporinases و ESBL كشفت دراستنا عن انتشار لمشكلة متنامية للإدارة العلاجية. هذا هو أول تقرير صدر في ميديا.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا المعوية ، مقاومة المضادات الحيوية ، علم الأوبئة ،

ESBL ،cephalosporinases ،carbapenemases.

Liste des Tableaux

N°	Titre de Tableau	Page
01	Étiologie microbiologique des infections urinaires	14
02	quelques genres des entérobactéries et leurs principales èspeces	24
03	Les caractères biochimiques d'Escherichia coli	26
04	caractères différentiels entre les différentes espèces du genre Escherichia	28
05	les caractères biochimiques de Kleibsella	31
06	Croissance et fermentation du glucose	32
07	Caractères biochimiques d'identification des espèces d'Enterobacter	36
08	Classe et cible d'action des antibiotiques	40
09	Liste des β-lactamines	41
10	Bêta-lactamines actuellement disponibles sur le marché classées par noyaux et sous-famille	44
11	Résistance naturelle chez les entérobactéries	44
12	Classification des β-lactamases	57
13	Exemples de dénomination de certaines BLSE	58
14	Liste des antibiotiques utilisés	86
15	Préparation des boites de cloxaciline	90
16	Tableau d'interprétation des résultats du Carba NP Test	92
17	Répartition des éléments de l'examen cytologique	95
18	L'Aspect macroscopique des Isolats	97
19	Effectif et fréquence d'isolement des genres et des espèces isolés	98
20	Les résultats de l`identification des souches par la galerie API 20E	101
21	Répartition des souches d'Entérobactéries isolés selon les tranches d'âge et le sexe de patients	106
22	Profil de sensibilité des souches testé des Entérobactéries aux différents antibiotiques testés.	106
23	Résultats des tests de détection de BLSE.	108
24	Répartition globale des souches E-BLSE	111
25	Répartition globale des souches E-CHN	116
26	Résultats du test Carba NP	119
27	Répartition globale des souches E-CP	119
28	Profil de sensibilité des souches testé des Entérobactéries productrice de CP aux différents antibiotiques testés.	122

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Anatomie du système urinaire chez les deux sexes, vue antérieure	**03**
02	Forme topographique des types des infections urinaires	**07**
03	Sonde urinaire	**15**
04	Mécanismes d'acquisition d'infection urinaire sur sonde	**16**
05	Escherichia Coli encemencè sur milieu Macconckey	**24**
06	Klebseilasppensemencè sur milieu Macconckey	**29**
07	Enterobactersppencemensè sur milieu Macconkey	**34**
08	Structure et aspect microscopique des Entérobactéries	**37**
09	Mode d'action des bêtalactamines	**43**
10	Structures de quelques B-lactamines	**44**
11	Les β-lactamines traversent la membrane externe à travers les porines pour atteindre leurs cibles	**51**
12	Mécanisme d'hydrolyse d'uneβ-lactamine par une β -lactamase	**55**
13	Mécanisme d'hydrolyse d'une β-lactamine par une β-lactamase	**58**
14	Les BLSE dérivées de TEM	**60**
15	Les BLSE dérivées de SHV	**61**
16	Phylogénie des β-lactamases chromosomiques de Klutverasp. Et des CTX-M	**62**
17	Unitè de bactèriologie	**64**
18	L'ètablissement de Mohamed Boudiaf	**64**
19	Les services au niveau de l'ètablissement hospitalier de Mèdèa	**65**
20	Le matèriels de laboratoire de bactèriologie	**68**
21	Les verreries et le petits matèriels de bactèriologie	**70**
22	Gèlosehektoen	**70**
23	Gèlose nutritive	**70**
24	Galerie API 20 E (photo originale)	**71**
25	Huile de vasline	**71**
26	Les colorants utilisè dans la coloration de gram (photo originale)	**71**
27	schéma du protocole de recherche	**73**
28	Les prèlèvements des urines	**74**
29	Une culture rèalisèe et obervèe sous microscope sur une cellule Nageotte	**75**
30	Photo original de les ètapes de la mise en culture	**76**
31	Escherichia Coli	**77**
32	Klebseillaspp	**77**
33	Les ètapes de la prèparation de frotti (photos originals)	**78**
34	L'inoculum ou la suspension bactèrienne	**81**
35	Remplissage des tubes de la galerie API 20E	**81**
36	L'ètuve ou on incube les boites	**82**
37	Prèparation de la gèlose (Muller Hinton) dans les boites de pètri	**84**

38	La suspension bactèrienne	**84**
39	ensemecement de la gèlose	**85**
40	Dèposition des disques d'ATB	**85**
41	l`application des disques d`antibiotiques sur les boites	**85**
42	Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de synergie	**88**
43	Schéma de détection de BLSE par le test du double disque	**89**
44	Principe du Carba NP test	**91**
45	Les résultats de carba NP test	**92**
46	L'aspect de l'urine	**93**
47	Un schéma de résultats de l'examen cytologique des urines	**94**
48	le pourcentage de la présence des éléments cellulaires dans	**95**
49	Résultat d'une coloration de Gram (Bacilles à Gram négatif)	**96**
50	Observation microscopique de la souche S 04	**98**
51	Observation microscopique de la souche S 36	**98**
52	Klebsiella oxytoca	**100**
53	Enterobacter cloacae	**100**
54	Serratia fonticola	**100**
55	Répartition des souches en fonction des services	**105**
56	Photographies de tests de synergie positifs	**109**
57	Photographies de tests du double disque positifs	**109**
58	Répartition des BLSE selon les espèces	**110**
59	Répartition des entérobactéries-BLSE selon les tranches d'âge.	**112**
60	Répartition des entérobactéries-BLSE selon le sexe de patients	**112**
61	Répartition des entérobactéries-BLSE selon le sexe de patients	**112**
62	6.3.3. Répartition des entérobactéries- BLSE en fonction de service	**113**
63	Profil de sensibilité des souches des Entérobactéries productrice de BLSE aux différents antibiotiques testés.	**113**
64	résultat du test à la Cloxacillin pour une souche de K. pneumoniae	**115**
65	Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction d'espèce	**115**
66	Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction de l'âge	**116**
67	Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction de sexe	**117**
68	Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction de service	**117**
69	Profil de sensibilité des souches testé des Entérobactéries productrice de CHN aux différents antibiotiques testés.	**118**
70	Résultats de test carba NP.	**119**
71	Répartition globale des souches E-CP selon le sexe	**120**
72	Répartition globale des souches d'entérobactéries productrice de carbapénèmas selon le service	**121**

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Les Abréviation

Résumè

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Introduction……..01

Premiére partie : partie bibliographique

Chapitre 1 :
Généralité……..03

1 - Anatomie et physiologie de l'appareil urinaires ……..03

1.1 -les reins **……..03**

1.2- Les uretères **……..04**

1.3- La vessie **……..04**

1.4- L'urètre **……..04**

2- les infections urinaires

2.1-Définition de l'Infection Urinaire **……..05**

2.2-Épidémiologie**……..05**

2.3-Les types d'infections urinaires**……..06**

2.3.1- La cystite **……..06**

2.3.2- L'urétrite infectieuse**……..07**

2.3.3- La pyélonéphrite**……..07**

2.3.4- La prostatite aiguë**……..07**

2.4- Classification clinique et topographique**……..08**

2.5- Les infections nosocomiale **……..09**

2.6- Physiopathologie des infections urinaires**……..09**

2.6.1- Mode de contamination**……..09**

2.6.2- Facteurs de risque**……09**

2.6.3- Défense naturel de l'hôte **……13**

3 -Étiologie bactérienne des infections urinaires……14

4 -Les infections urinaires sur sonde……14

5 -Diagnostic bactériologique des infections urinaire……18

5.1- Tests rap-Examen cytobactériologique des urines**……18**

5.2- Examen cytobactériologique des urines**……19**

Chapitre 2 : Gènèralitès des Entèrobacèries

1-Les Bacilles à gram nègatif……22

2- Les Entèrobactèries……22

2-1 - Dèfinition**……22**

2-2 – Hisorique et Taxonomie**……23**

3- Les classifications des principales Entèrobactèries……23

3-1 – Escherichia coli**……24**

3-1-1 -Habitat**……25**

3-1-2 – Caractères Bactèriologiques**……25**

3-1-2-1- Caractère morphologique et cultureu**……25**

3-1-2-2- Caractères biochimique**……26**

3-1-2-3- Caractère antigènique**……26**

3-1-3 –Pouvoir Pathogène**……27**

3-1-4- Facteurs de virulence**……27**

3-1-4-1- Facteurs d'uropathogénicité liés à l'adhésion**……28**

3-1-4-2- Facteurs d'uropathogénicité non liés à l'adhésion**……28**

3-2 - Klebseilla**……29**

3-2-1 - Habitat**……30**

3-2-2 – Caractères Bactèriologiques**……30**

3-2-2-1- Caractère morphologique et cultureu**……30**

3-2-2-2- Caractère biochimique……..31
3-2-2-3- Caractère antigènique……..32
3-2-3 – Pouvoir Pathogène……..32
3-2-4- Facteur de virulence……..33
3-3 –Entèrobacter……..33
3-3-1 - Habitat……..34
3-3-2 - Caractères Bactériologie……..35
3-3-2-1- Caractère morphologique et cultureu……..35
3-3-2-2- Caractère biochimique……..35
3-3-2-3- Caractère antigénique……..36
3-3-3 – Pouvoir Pathogène……..38
3-3-4- Facteur de virulence……..38
Chapitre III : Rèsistance bactériennes aux antibiotique
1-Généralité sur les antibiotiques
1.1- Définition des antibiotiques……..39
1.2- Classification des antibiotiques……..39
2-les beta- lactamines……..40
2.1-Généralité……..40
2.2-Structure……..41
2.3-Mode d'action des β lactamine……..42
2.4-Familles de β lactamines……..43
3-Rèsistance aux antibiotiques……..47
3.1- Dèfinition……..47
3.2-Types de rèsistance……..48
3.2.1-Rèsistance naturelle……..48
3.2.2-Rèsistance acquise……..48
3.3-Mècanisme de rèsistance bacterienne aux Antibiotiques……..49

4-Rèsistance des entérobactéries aux antibiotiques…….51

4.1-Entèrobactèries et beta lactamine**…….51**

4.2-Rèsistance naturelle ou phénotypes (sauvages) **…….51**

4.3-Rèsistance acquise**…….52**

I-Les β-lactamases des bacilles à gram negatifs…….53

1- Dèfinition**…….53**

2- Source et localisation**…….54**

3- Mode d'action**…….54**

4- La classification**…….55**

II-Les β-lactamases à spectre èlargi…….57

1- Mécanisme d'action des β-lactamases à spectre élargi**…….57**

2- Dènomination des beta- lactamases a spectre èlargi**…….58**

3- Les diffèrents types de BLSE**…….59**

Deuxiéme Partie : Partie Pratique

I- Matériels Et Méthode……63

1- Objectif ……63

2- Cadre d'ètude ……63

3- Matériels ……65

4- Mèthodes……72

5- Tests Complèmentaires de l'Antibiogramme ……87

5.1- Recherche de la production des Beta-lactamases à spectre élargi (BLSE) ……87

5.2- Recherche de l'hyper production des Cèphalosporinases chez les Entérobactéries ……89

5.3- Recherche de la production des Carbapénémases chez les Entèrobactéries……90

II- Résultats et discussions……93

III. Conclusion et Perspectives……123

Introduction :

Les antibiotiques de la famille des β-lactamines ont été confrontés à l'émergence de la résistance. Celle-ci apparut rapidement, dés 1942, avec la première souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la pénicilline. Cependant, La résistance bactérienne aux antibiotiques (ATB) est en perpétuelle évolution.

Cette résistance bactérienne est la résultante d'interactions complexes entre la bactérie d'une part et son environnement d'autre part. Elle est liée essentiellement à un usage excessif des antibiotiques aussi bien en médecine humaine, qu'en médecine vétérinaire ou dans l'alimentation animale. Les bactéries pour faire face à la pression de sélection exercée par les antibiotiques utilisent des parades leur permettant de s'adapter aux conditions hostiles de leur environnement (Ben redjeb et al. 2000).

Les infections causées par les souches productrices de BLSE sont associées à une morbidité et une mortalité élevées, à une prolongation de la durée de l'hospitalisation et à une augmentation des coûts d'hospitalisation (Masterton et al. 2003 ; Patterson. 2001).

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à la résistance aux β lactamines, des souches cliniques d'entérobactéries d'isolement courant dans hôpital, compte tenu aussi du faite que ces antibiotiques sont très fréquemment prescrits pour le traitement des infections dues à ces bactéries en absence d'antibiogramme.

Mais malheureusement, aucune étude n'a été consacrée aux entérobactéries productrices de BLSE émergents à l'hôpital de Médéa, ni sur l'écologie microbienne, ni sur l'état globale de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

De ce fait, les objectifs de cette étude étaient de déterminer les résistances associées au sein de l'espèce, caractérisation de β-lactamases qui se produisent et de mettre en évidence les souches d'entérobactéries productrices des β-lactamases à spectre étendu (EBLSE) isolées des patients hospitalisés à l'Hôpital de Médéa, Algérie.

Nous nous sommes proposé de présenter cette thèse en trois parties :

- Une 1ére Partie, est consacrée à un bref rappel sur les entérobactéries et les différents types d'infections qu'elles génèrent, ainsi que leurs mécanismes de résistance aux β-lactamines, avant de définir plus précisément les BLSE.
- La 2éme parie, décrit le matériel et méthodes pour l'analyse détaillée de nos souches cliniques isolées des patients hospitalisés aux différents services de l'hôpital de Laghouat.

- Enfin, la 3éme partie, notre travail est réservé à la présentation et discussion de l'ensemble des résultats obtenus.

Chapitre I : Anatomie et physiologie du système urinaire

Sur le plan anatomique, le système urinaire se divise en voies supérieures (composées de deux reins et deux uretères) et en voies inférieures (la vessie et l'urètre) (**G.Toradaet al ,2011) (A.Dhem et J.Milaire , 2007) .**

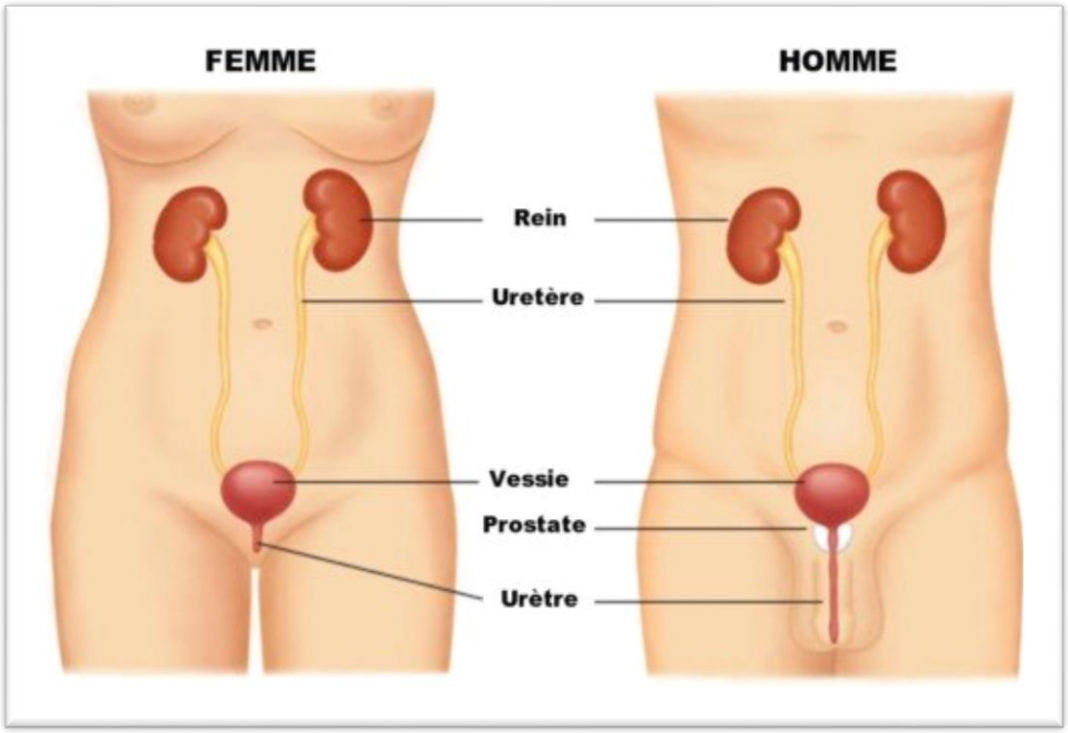


Figure 01 : Anatomie du système urinaire chez les deux sexes, vue antérieure (Annonyme 1,2002)

1.1 -Les reins :

Les reins,au nombre de deux, sont des organes rougeâtres dont la forme rappelle celle d'un haricot. Ils sont situés entre le péritoine pariétal et la paroi postérieure de l'abdomen (retropéritonéaux), par rapport à la colonne vertébrale, les reins sont situés entre la dernière vertèbre thoracique et la troisième vertèbre lombaire. Les reins mesurent en moyenne de 10 à 12 cm de longueur, de 5,0 à 7,5 cm de largeur et 2,5 cm d'épaisseur. (**GJ. Tortora et S.R. Grabowski , 1994) (A.Dhem et J.Milaire , 2007) .**

Les reins assurent trois fonctions principales :

- Excrétion des déchets des métabolismes.

- Maintien de la composition et du volume du liquide extracellulaire (Équilibre hydroélectrolytique et Équilibre acido-basique.)

- Fonction endocrine (synthèse de rénine, de l'érythropoïétine, Transformation de la vitamine D en sa forme active).**(S. LANG,et F. SILBERNAGL , 2002) .**

1.2- Les uretères :

La principale fonction des uretères est le transport de l'urine depuis le bassinet (pelvis rénal) jusqu'à la vessie urinaire ; leur moitié supérieure se trouve dans l'abdomen et leur moitié inférieure dans le bassin. Il y a deux uretères, un pour chaque rein.

Chaque uretère, d'unelongueur variant de 25 à 30 cm. Le diamètre des épaisses parois des uretères va en s'accroissant vers la partie inférieure, mais il atteint moins de 1,7 cm à leur point le plus large. (**Tortora et Grabowski, 1994) (A.Dhem et J.Milaire, 2007).**

1.3-La vessie :

La vessie est un organe du système urinaire. C'est une petite poche présente chez l'homme et la femme qui a pour rôle de stocker l'urine puis de l'évacuer quand elle est pleine.

Chez l'homme, la vessie se trouve immédiatement en avant du rectum. Chez la femme, elle est située en avant du vagin et en dessous de l'utérus.

La capacité moyenne de la vessie est de 700 à 800 ml. (**GJ. Tortora et S.R. Grabowski , 1994) (A.Dhem et J.Milaire ,2007) .**

1.4-L'urétre :

L'urètre est un canal qui évacue l'urine de la vessie. L'urine qui provient des uretères s'accumule dans la vessie. Chez la femme, il est situé directement derrière la symphyse pubienne et en avant de la paroi antérieure du vagin. Lorsqu'il n'est pas dilaté, son diamètre mesure environ 6 mm et sa longueur, est d'environ 3,8 cm.(**GJ. Tortora et S.R. Grabowski ,1994) .**

L'urètre masculin est un conduit musculeux d'une longueur de 18 à 22 cm. Situé immédiatement sous la vessie, l'urètre traverse verticalement la prostate (urètre prostatique) pénètre ensuite dans le diaphragme uro-génital (urètre membraneux) puis dans le pénis (urètre spongieux), et longe le corps de ce dernier en s'incurvant. (**G.Torada, et al 2011) .**

2-Les infections urunaires :

2.1-Définition des infections urinaires :

Une infection urinaire est une infection qui peut toucher une ou plusieurs parties du système urinaire : les reins, les uretères, la vessie et l'urètre..(**Solano, 2014).**

Elle correspond à l'agression d'un tissu par un ou plusieurs micro-organismes générant une réponse inflammatoire, des signes et symptômes de nature et d'intensité variable selon le terrain, elle associe :

- au moins un des signes suivants : fièvre (> 38°C), impériosité mictionnelle, pollakiurie, brûlures mictionnelle ou douleurs sus-pubiennes, en l'absence d'autre cause infectieuse ou non.

- à une uroculture positive. (L'association d'une bactériurie supérieure à 105 germes/mL, et d'une leucocyturie supérieure a 104 leucocytes/ml sous réserve d'un prélèvement correct des urunes).**(A. François et al , 2013) (R. Solomon, 2001).**

sur le plan anatomique on distingue les infections urinaires hautes (pyélonéphrite) et basses (cystite), cependant, certains y incluent les infections associées de certaines annexes génitales (la prostatite et parfois l'épididymite et l'urétrite)**(B.Lobel et C-J Soussy , 2007) .**

. Cliniquement, il est important de distinguer les IU simples et compliquées . **(R. Girard et P.Bénite 2009) (E.Pily ,2008).**

2.2-Épidémiologie :

Les infections urinaires sont les plus fréquentes des infections bactériennes nosocomiales (près de 40 % des cas d'infections nosocomiales, le plus souvent à germe multi résistant)**(T.Lecompte et L. Letranchant, 2010) (F. Moulin, et al 1998) .**

Et occupe la seconde position dans les infections communautaires après les infections de l'arbre respiratoire, aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte. Elles constituent actuellement l'un des motifs fréquents de consultation dans les services médicaux**. (G.Torada et al , 2011) (T.Lecompte et L. Letranchant 2010) (J.D.Cavallo et al ,2000).**

« Chez l'enfant » :

Elle est le plus souvent liée à une malformation de l'appareil excréteur (la plus fréquente est le reflux vésico-urétéro-rénal) en particulier chez le garçon**(E.Pily ,2008) (T.Lecompte et L. Letranchant,2010)** .

sa prévalence diffère selon l'âge et le sexe, elle est plus élevée chez les petits garçons en dessous de l'âge de 3 mois et les petites filles au-dessus de l'âge de 1 an. La récidive des infections urinaires chez l'enfant est fréquente (30 % des cas). **(T.Lecompte et L. Letranchant , 2010)**

«Chez la femme » :

L'infection urinaire est plus fréquente chez la femme que chez l'homme pour des raisons anatomiques, et connaît deux pics de fréquence :

l'un au début de la vie sexuelle et l'autre après la ménopause .

la prévalence de ces infections chez la femme est de l'ordre de 5 % (20 % après l'âge de 65 ans)

on considère en outre qu'au moins 50% des femmes seront affectées par une infection urinaire au cours de leur vie **. (J.N.Cornu et al , 2008) .**

« Chez l'homme » :

La prévalence des IU chez l'homme est inférieure à 0.1 % ,cette prévalence augmente après l'âge de 50 ans en relation avec une pathologie de la prostate.

(Deviens supérieure à 10 % après l'âge de 65 ans). Les infections urinaires hautes restent toutefois plus rares que les IU basses.

(E.Pily , 2008) (J.N.Cornu et al ,2008) .

« Chez le sujet âgé » :

Le terrain immunitaire défaillant, les maladies sous-jacentes, l'hospitalisation éventuelle, etc. sont des facteurs de risque dans les IU chez le sujet âgé. **(T.Lecompte et L. Letranchant , 2010) (M. Delmée , 2003-2004)**

La prévalence de la bactériurie s'élève de moins de 5 % chez les femmes jeunes et 0,1 % chez les hommes au-dessous de 65 ans, à 25 % chez les femmes et 10 % chez les hommes au-delà de 65 ans. **(B.Lobel et C-J Soussy ,2007) .**

2.3-Les types d'infections urinaires :

Il existe quatre types d'infection urinaires :

2.3.1 - La cystite :

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

* Pollakiurie : mictions fréquentes ou peu abondantes, avec parfois impériosité.

* Brûlures mictionnelles, urines troubles, parfois hématurie macroscopique.

* Une cystite peut être totalement asymptomatique, révélée par l'examen microscopique des urines)**(Anglaret, 2003).**

2.3.2- L'urétrite infectieuse :

Si l'infection touche uniquement l'urètre, il s'agit souvent d'infection sexuellement transmissible courante chez les hommes et les femmes.

Le germe en cause : la chlamydia et le gonocoque **(Anglaret, 2003).**

2.3.3- La pyélonéphrite :

La symptomatologie associe :

* Des signes de cystite, qui peuvent précéder les autres symptômes de plusieurs jours, mais être absents dans 40 % des cas.

* Une fièvre, avec parfois des frissons et des signes septiques variés (pouvant aller jusqu'au choc septique). Cette fièvre peut parfois être isolée (en particulier chez la personne âgée et le nourrisson) **(Anglaret, 2003)**

2.3.4 La prostatite aiguë :

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

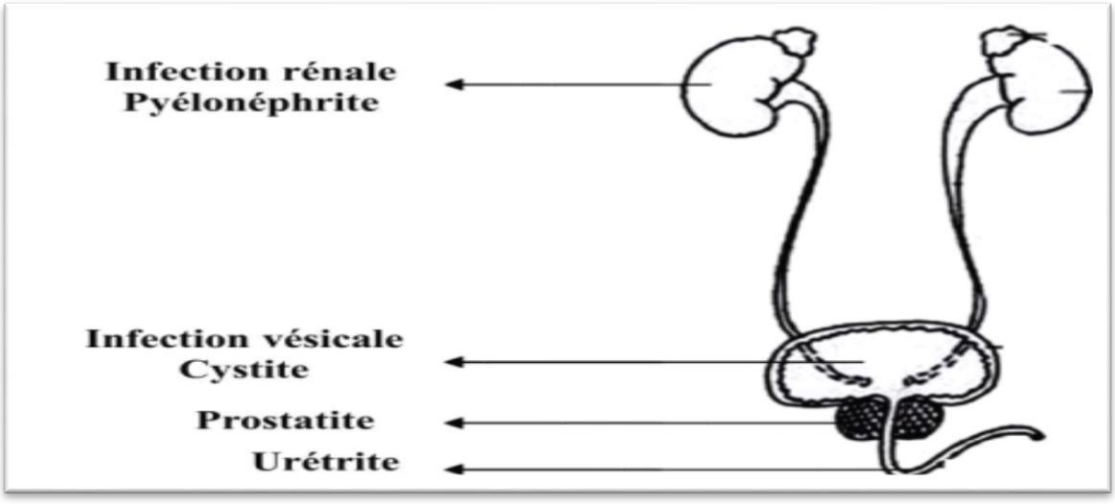


Figure 02 : Forme topographique des types des infections urinaires (Boutoille, 2011).

2.4- Classification clinique et topographique :

A-Infection urinaire basse simple : cystite non compliquée

Le terme de « cystite infectieuse » est réservé à la femme. Chez l'homme, en effet, l'atteinte vésicale et l'atteinte prostatique sont souvent associées (par définition, il n'existe pas de cystite chez l'homme. C'est une prostatite aiguë).**(T.Lecompte et L. Letranchant ,2010) (T.Olivier , 2005)**

La cystite représente 95% des IU , touche la femme jeune (15-65 ans) et se manifeste par des brûlures mictionnelles, une pollakiurie, des mictions impérieuses, des douleurs hypogastriques et parfois une hématurie macroscopique qui n'est pas un facteur de gravité. Le début est généralement brutal. Les cystites simples ne se compliquent que rarement de PNA. **(A. François et al , 2013) (T.Olivier , 2005) (H. Leroy et P. Tattevin , 2012)**

B- Infection urinaire basse compliquée: cystite compliquée

On parle d'IU basse compliquée en présence d'un ou plusieurs des facteurs de risques en plus des signes de cystite.

Ces critères sont des facteurs de risque d'une évolution clinique défavorable.

La clinique est superposable à celle d'une IU basse simple, mais il peut exister une dysurie témoin d'une uropathie sous-jacente. Le pronostic est dominé par un risque important de récidive. **(E.Pily 2008) (J-M Antonie et al, 2006) .**

C- Cystite récidivante :

les récidives ne sont pas liées à des uropathies, mais plutôt dues à un foyer infectieux persistant, mais dans plus de 90 % des cas il s'agit de réinfection exogène à partir de la flore colique.

L'utilisation de spermicides et de diaphragmes a été incriminée, mais le plus souvent il s'agit d'une prédisposition génétique ; la prise en charge implique la recherche de facteurs favorisants, le bilan complet de la région pelvienne et le traitement (antibiothérapie au long cours peut entraîner la sélection de souches résistantes, d'autres voies thérapeutiques ont été développées.**(H. Leroy et P. Tattevin , 2012) (F. Dagues et al , 1995) .**

D- Infection urinaire haute simple : Pyélonéphrite aiguë (PNA) :

La pyélonéphrite aiguë (PNA) est un état inflammatoire, transitoire, d'origine infectieuse, atteignant le rein et sa voie excrétrice (calices, bassinet et uretères) par voie canalaire plus souvent qu'hématogène, responsable d'un œdème, d'un afflux leucocytaire et d'une ischémie localisée du parenchyme rénal . **(T.Olivier ,2005) (F. Joffre et A Cinqualbre ,1991)**

La clinique de cystite se complique des signes témoignant de l'atteinte parenchymateuse rénale : température supérieure à 38 °C, frissons, douleurs lombaires spontanées ou provoquées, le plus souvent unilatérales. Les signes de cystite sont fréquents, mais leur absence (40 % des cas environ) ne permet pas d'éliminer le diagnostic de pyélonéphrite**(E.Pily , 2008) (T.Olivier 2005)**

E- Infection urinaire haute cée : Pyélonéphrite aiguë compliquée (PNAC):

Ce sont les PNA qui surviennent dans un contexte d'anomalies fonctionnelles ou morphologiques du tractus urinaire ou sur un terrain augmentant le risque septique ou la résistance aux antibiotiques. Deux critères sont nécessaires pour affirmer une PNAC : la présence d'une pyurie et d'un ou plusieurs facteurs de gravité.

Le tableau clinique est comparable à celui d'une pyélonéphrite simple. Le pronostic est plus préoccupant que celui des pyélonéphrites simples, avec un risque tout particulier de suppuration locale, sepsis grave, résistance au traitement, de récidive ou de séquelles.**(J-M Antonie et al,2006) (G. Rostoker et al, 1991) .**

2.5-Les infections urinaires nosocomiales :

Le caractère nosocomial d'une infection est un élément essentiel dans la prise en charge médicale et surtout thérapeutique du patient. Le rapport de «l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012» présente les parts relatives des différentes infections nosocomiales. Les infections urinaires (29,9 %) représentaient la première place avec comme facteur favorisant majeur, la pose de sonde urinaire **(Mamod, 2016).**

2.6-Physiopathologie des infections urinaires:

Normalement, les reins, les urètres, la vessie et la partie supérieure de l'urètre sont maintenus dans des conditions stériles, à l'exception de la flore de l'urètre distal colonisé par des microorganismes d'origine digestive, cutanée et génitale (il peut s'agir de staphylocoques a coagulase négative (SCN), de streptocoques, de lactobacilles, de diphtéroides, de Neisseria non pathogène et d'Entérobactéries).

(M. Delmée ,2003-2004) (ECN.PILLY , 2014) .

2.6.1- Mode de contamination:

Les IU communautaires sont quasi constamment de mécanisme ascendant avec invasion de la vessie par la flore urétrale , puis éventuellement du rein (ou de la prostate chez l'homme), soit par

carence des défenses de l'hôte, soit par implantation dans la flore urétrale d'une souche bactérienne particulièrement virulente dite uropathogène, la pyélonéphrite aiguë de la femme survient lorsque les agents pathogènes de la flore fécale colonisent le vagin proximal, remontent vers la vessie puis vers les reins via le les uretères. **(E.Pily ,2008) (J.N.Cornu et al ,2008) (M. Delmée ,2003-2004) .**

La voie de contamination hématogène ne s'observe qu'au cours des certains états pathogènes particuliers (septicémie, bactériémie) et les germes isolés associent à la flore habituellement observée d'autres espèces bactériennes (Staphylococcus aureus, Salmonella, Candida, etc.), la voie lymphatique est exceptionnel. **(J.N.Cornu et al , 2008)**

Dans les hôpitaux, les risques de contracter ce type d'infections sont élevés surtout liés à l'usage de cathéters urinaires. Parce que l'anus est situé près de l'orifice de l'urètre, les bactéries intestinales (E. coli, Proteus, Klebsiella, Pseudomonas et Enterococcus) sont souvent à 1'origine des infections urinaires. **(G.Torada,et al ,2011) .**

En présence de sonde elles peuvent avoir divers mécanismes d'acquisition :

- Acquisition lors de la mise en place de la sonde.
- Voie endoluminale : moins fréquente depuis l'utilisation des systèmes clos.
- Voie extraluminale : les bactéries remontent dans la vessie le long de la surface externe de la sonde
- Acquisition par voie lymphatique ou hématogène.

Le personnel médical voire les patients eux-mêmes peut être des porteurs colonisés par le pathogène et, de ce fait, devenir des réservoirs de transmission des agents infectieux. **(E.Pily ,2008) (L.Perlemuter et al ,2009) .**

2.6.2-facteurs de risque :

2.6.2.A- Facteurs liés à l'hôte :

2.6.2. A.1- Facteurs extrinsèques :

Le facteur extrinsèque correspond à tout élément introduit pour une raison ou une autre dans le patient et qui contribue directement ou indirectement à augmenter le risque infectieux

•**Sonde vésicale** : les manœuvres urinaires et le sondage à demeure sont responsables de 80 % des IU liées aux soins et représentent un facteur de risque non discuté. Les autres instrumentations (endoscopie, chirurgie urologique) sont responsables de 5 % des cas.

Le sondage favorise non seulement l'acquisition, mais aussi la pérennisation de l'infection à travers trois mécanismes : la perturbation du transit urinaire, l'altération des moyens de défense vésicale liée aux dommages de l'urothélium, et la production d'un biofilm à la surface de la sonde.**(J.N.Cornu et al ,2008) (L.Perlemuter et al ,2009)** .

• **Contraceptifs locaux** : (spermicides, diaphragme utérin, etc.) par modification de la flore vaginale**.(E.Pily,2008) (J.N.Cornu et al ,2008) .**

• **L'environnement** : L'environnement est le cadre dans lequel le patient est soigné, c'est-à-dire le service, mais aussi le personnel soignant qui l'entoure.

2.6.2.A.2- Facteurs intrinsèques :

Les facteurs intrinsèques sont ceux inhérents au patient. Ils sont secondaires à une anomalie anatomique, une dysfonction organique ou une maladie concomitante.

• **Sexe féminin** : l'urètre féminin est court (3-4 cm) et topographiquement proche du vagin et du périnée qui sont régulièrement colonisés par des bactéries d'origine fécale; par opposition, l'urètre masculin est long de 20 centimètres environ et est moins exposé aux infections. En outre la sécrétion prostatique présente certain caractère antimicrobien.**(J.N.Cornu,2008) (M. Delmée ,2003-2004)**

• **Âge avancé** :> 65 ans et surtout chez des patients atteints de multiples comorbidités (Alzheimer, Parkinson, diabète, incontinence urinaire, constipation chronique , hypertrophie de la prostate , et l'insuffisance hormonale chez la femme, etc.).**(J.N.Cornu,2008)**

•**La grossesse** : Les caractéristiques physiologiques, mécaniques et hormonales de la grossesse favorisent la stase urinaire et la contamination de l'urètre par des bactéries gastro-intestinales et périnéales. **(J.N.Cornu,2008) .**

• **Lithiases rénales** : facilitent l'adhérence des bactéries à l'urothélium par lésion itérative du film de mucopolysaccharide naturel protecteur. **(J.N.Cornu,2008)**

•**Immunodépression et anomalies métaboliques** : diabète sucré, VIH, transplantation d'organe, corticothérapie au long cours, etc. **(.J.N.Cornu,2008)**

•**Anomalie anatomique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire :** hypertrophie prostatique, les tumeurs, reflex vésico-urétrale, corps étranger, rein unique, polykystose rénale, prolapsus pelvien génito-urinaire, etc. **(B.Lobel et C-J Soussy,2007) (E.Pily,2008)**

• **Facteurs génétiques** : Génétiquement, les groupes sanguins ABO ne sécrétant pas de facteurs Lewis manifestent une plus grande susceptibilité aux IU. **(J.N.Cornu, 2008) .**

2.6.2.A.2- Facteurs liés aux germes pathogènes (Virulence bactérienne) :

Les facteurs de virulence sont des produits ou des composants bactériens qui contribuent à la virulence ou au pouvoir pathogène.

• **Les adhésines :** Les micro-organismes pathogènes se fixent d'une manière très spécifique à des tissus particuliers (l'urothélium dans le cas des IU), les facteurs d'adhésion sont appelés adhesines ce phénomène est essentiel pour comprendre le rôle pathogène dans la genèse et la diffusion de l'IU. **(C.Vildé et J-L. Nauciel, 2007) (KLEIN, PRESCOTT)**

• **Les endotoxines :** De surcroit, les bactéries arborent lipopolyscharides qui ont des propriétés immunogènes et joue un rôle d'endotoxine (par la partie lipidique « le lipide A ») qui est à la différence des toxines protéiques, le lipopolysaccharide résiste à des températures élevées, n'est pas naturalisable par des anticorps et possède des effets biologiques comparables quelle que soit l'espèce bactérienne dont il provient. **(J.N.Cornu,2008) (C.Vildé et J-L. Nauciel ,2007)**

Ces endotoxines sont responsables de l'atonie des voies urinaires aggravant ainsi l'infection sur le plan systémique, elles sont à l'origine des manifestations générales comme la fièvre (effet pyrogène), l'hyperleucocytose et le risque de choc septique. **(. C.Vildé et J-L. Nauciel ,2007) (A.Meyer et al,2004)**

• **La capsule :** Certaines souches bactériennes possèdent une capsule visqueuse de nature polysaccharidique ou protéique qui entoure leur paroi d'une couche plus ou moins compacte et qui empêche les cellules phagocytaires d'adhérer à la bactérie, ce qui les protège de la phagocytose. **(C.Vildé et J-L. Nauciel ,2007) (A.Meyer et al ,2004)**

• **Autres :** L'hémolysine produite par certaines colonies d'E. coli contribue aux lésions rénales. II existe aussi une relation certaine entre la présence de Proteus et la formation de lithiase.**(M. Schaechter et al ,1991)**

2.6.3-Défense naturel de l'hôte contre les IU :

Les défenses naturelles de l'homme sont multiples et permettent dans les conditions normales de lutter contre le risque d'infection urinaire, les principaux moyens physiologiques de défense contre les IU sont des moyens aspécifiques : flux urinaire, fréquence de mictions complètes, intégrité et imperméabilité de l'urothélium. **(J.N.Cornu et al, 2008) (P. Pavese,2002) .**

Un certain nombre de facteurs présents dans les urines (concentration élevée en urée, acides organiques urinaires, pH acide) empêchent la multiplication bactérienne et leurs adhésions à l'urothélium. **(J.N.Cornu et al,2008) .**

La flore saprophyte est un maillon important de la défense antibactérienne, elle permet de limiter la multiplication de germes pathogènes. **(P. Pavese ,2002)**

Le système immunitaire joue aussi un rôle important contre l'installation d'une infection urinaire et donne un effet bactéricide au mucus vésical grâce à une immunité humorale (IgA sécrétoire).

Le dernier rempart de la cellule épithéliale est son sacrifice pour rejeter la cellule bactérienne dans la cavité vésicale où l'ensemble cellule épithéliale/bactérie sera phagocyté par les polynucléaires neutrophiles. **(J.N.Cornu,2008) (P. Pavese ,2002)**

3- Étiologie bactérienne des infections urinaires :

3.1--Etiologie des infections urinaires communautaires :

Les IUC sont généralement causées par un seul microorganisme. Les germes causals sont avant tout les Entérobactéries et principalement E. coli (≈ 80 %). P. mirabilis, Klebsiella pneumoniæ, Enterobacter, Serratia, Citrobacter viennent ensuite. **(H. Leroy et P. Tattevin,2012) (J. Daniel et al,1991)**

Les cocci à Gram positif sont surtout représentés par Staphylococcus saprophyticus (10 % à 15 % des infections), responsable d'IU chez la femme jeune, Staphylococcus aureus étant plutôt retrouve chez les malades de plus de 50 ans. Les seuls streptocoques responsables d'infection urinaire sont les entérocoques et les streptocoques du groupe B, ces derniers n'étant impliqués que dans les cystites. (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé) **(F, Lecompte,1999)**

Beaucoup plus exceptionnellement les cocci à Gram négatif (gonocoque) surtout chez homosexuels, et les anaérobies stricts d'origine digestive (après une fistule colovésical.

3.2-Etiologie des infections urinaires nosocomiales :

Les IUN sont dues à un germe endogène dans 2/3 des cas , ils sont caractérisés par une grande diversité des bactéries en cause, une relative rareté des bactéries uropathogènes usuelles et une grande fréquence des micro-organismes hospitaliers, notamment des BMR. Par exemple, une récente enquête européenne ressort la hiérarchie : E.coli 36 %, Candida albicans 10 %, Pseudomonas aeruginosa 7%, Enterobacter 4 %, Acinetobacter 2 %. Les IUN représentent le 1 er réservoir de BMR dans les hôpitaux . **(ECN et PILLY,2014) .**

Ces répartitions peuvent bien sûr varier d'un hôpital à l'autre, en fonction de l'écologie bactérienne locale**. (F. Dagues et al1995) (KG. NABER et al ,1988) .**

Autres : Chlamydiæ trachomatis, mycoplasme, Trichomonas vaginalis **(T.Olivier,2005)**

Infection urinaire non compliquée	Infection urinaire compliquée
Escherichia coli *Staphylococcus saprophyticus* *Klebsiella spp.* *Proteus mirabilis* *Enterobacter cloacae* *Enterococcus faecalis*	*Escherichia coli* *Klebsiella spp.* *Enterobacter cloacae* *Serratia marcescens* *Proteus mirabilis* *Pseudomonas aeruginosa* *Enterococcus faecalis* Streptocoques du groupe B *Candida albicans*

Tableau 01 : Étiologie microbiologique des infections urinaires (JD. Sobel, D. Kaye,2000)

4-Les infections urunaires sur sonde :

4.1-Définition du sondage urinaire :

Les sonde urinaires sont des dispositifs médicaux utilisés à la fois dans les paramètres de maison, de soins infermières et à l'hôpital .

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

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



Figure 03 : Sonde urinaire (Teleflex, 2018).

4.2-Les infections urinaires sur sonde :

Les infections urinaires sur sondes sont le type le plus représentatif des infections nosocomiales **(Hounane, 2011).**

La mise en place d'une sonde urinaire perturbe les défenses de l'hôte contre les microorganismes et rend l'infection ainsi possible.

L'espace entre la face externe de la sonde et la muqueuse urétrale est un lieu d'interactions, constituant une porte d'entrée pour les microorganismes. Du biofilm recouvre et fixe la bactérie entre la muqueuse et le cathéter, dès les six premières heures de sondage. Ce biofilm est produit par les bactéries sur une matrice protéique de l'hôte. Composé majoritairement de glycocalyx, il leur permet de faire face aux défenses mécaniques et biochimiques de l'hôte et de résister à l'antibiothérapie **(Debabza, 2015).**

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

4.2.A- Acquisition lors de la mise en place de la sonde :

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

4.2.B-Acquisition par voie endoluminale :

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

4.2.C- Acquisition par voie extraluminale périurétrale :

Les bactéries d'origine digestive issues de la flore fécale colonisent le méat urinaire puis migrent au niveau de l'urètre et de la vessie par le biais du biofilm se formant à la surface externe de la sonde urinaire. Ce mode d'acquisition est responsable de 70 % de bactériurie chez la femme et 30 % chez l'homme (Figure 03) **(Astrid, 2014).**

4.2.D- Acquisition par voie lymphatique ou hématogène :

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

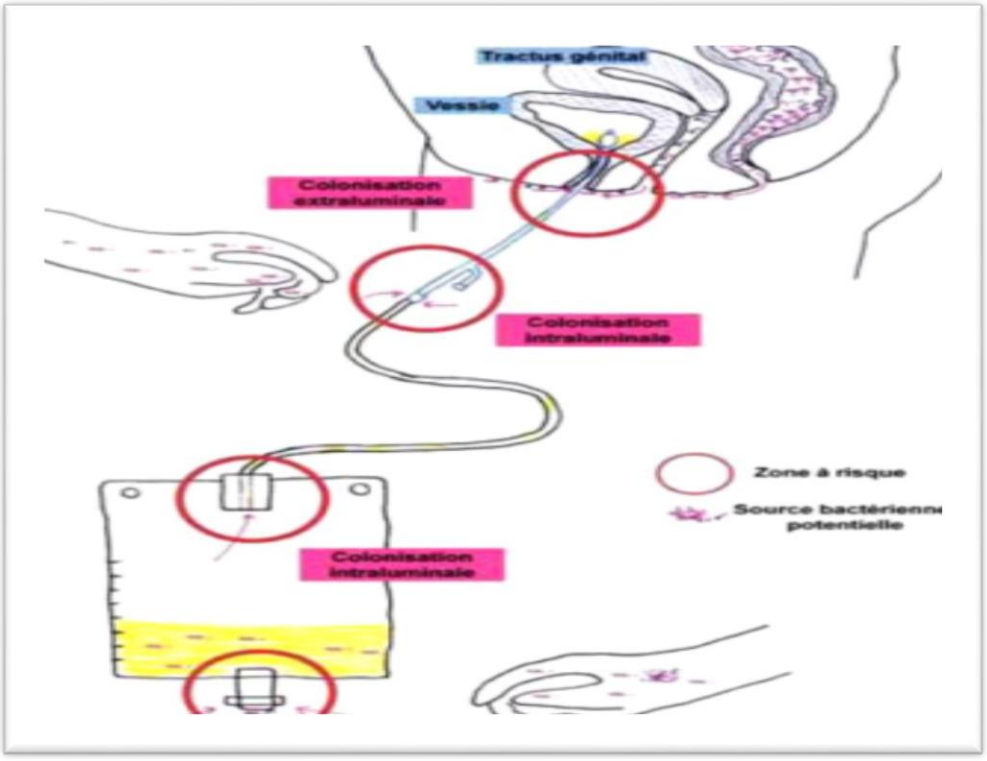


Figure 04 : Mécanismes d'acquisition d'infection urinaire sur sonde (Hounane, 2011)

4.3- Les facteurs de risque d'un sondage urinaire :

4.3.A- La durée du sondage :

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

4.2.B- Le sexe féminin :

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

4.2.C- Le diabète :

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

4.2.D- L'absence d'antibioprophylaxie :

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

4.2.E- Le lieu d'hospitalisation semble avoir un impact :

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

4.2.F-Le sondage inapproprié :

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

4.2.G- Une rupture du système de drainage clos :

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

5- Diagnostic bactériologique des infections urinaires :

5.1-Tests rapides de dépistage d'une infection urinaire :

« les bandelettes urinaire »

Les plus utilisées sont des méthodes enzymatiques utilisant des bandelettes urinaires (BU), qui permettent la détection d'une leucocyturie et d'une bactériurie. **(R.Courcol et al) (J.-D. Cavallo et É. Garrabé,2003) .**

La leucocyturie est recherchée par mise en évidence d'un enzyme, le leucocyte estérase (LE) produite par les polynucléaires (neutrophiles, basophiles, éosinophiles) ou les monocytes, ce test est assez sensible et permette de détecter une leucocyturie supérieure ou égale à 104 leucocytes /ml **(G. Echeverry et al ,2010).**

Des faux positifs sont sensibles en cas de contamination par la flore vaginale ou de présence de Trichomonas, d'une hyperalbuminurie, d'acide ascorbique, de nitrofurantoïne, ou de gentamicine.**(R.Courcol et al) (F. Denis et M. Cécile ,)**

La bactériurie est recherchée indirectement par la recherche d'un nitrate réductase (NR) enzyme qui réduit les nitrates en nitrites, produite par de nombreuses bactéries principalement les E.coli et a moins grande échelle Proteus, les salmonelles, les bacilles dysentériques. **(A. Balcells, 1993)**

Le seuil de détection de l'activité nitrate réductase correspond à un seuil de 105 UFC/ml pour les Entérobactéries. Alors que les résultats faussement positifs sent inexistants, les résultats peuvent être faussement négatifs lors d'infection par des bactéries ne produisant pas de nitrate réductase (Staphylococcus spp., Enterococcus spp, Pseudornonas spp, Acinetobacter spp, Candida spp.) ou en cas de régime alimentaire pauvre en nitrates ou au cours d'un traitement diurétique.

(R.Courcol et al) (A. Balcells ,1993)

L'association de ces deux tests améliore la valeur prédictive négative du dépistage prédictive négative VPN des BU (VPN > 95 %). Elle permet donc d'éliminer une infection avec moins de 5 % de faux négatifs. **(R.Courcol et al) (A. Balcells ,1993)** .

5.2-Examen cytobactériologique des urines (ECBU) :

5.2.1--Démarche d'un examen cytobactériologique des urines :

5.2.1.A--La phase pré-analytique :

1-Prélèvement :

L'objectif est de recueillir l'urine vésicale, normalement stérile, en évitant sa contamination lors de la miction par la flore commensale qui colonise l'urètre et la région périnéale. (**J.-D. Cavallo et É. Garrabé,2003) (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé ,2007) .**

5.2.1.B-La phase analytique :

L'ECBU comprend deux analyses, l'analyse cytologique et l'analyse bactériologique, cependant l'examen macroscopique procure quelques renseignements préliminaires.

1-Examen macroscopique :

Les urines sont normalement jaune clair et doivent être limpides, l'aspect trouble ne correspond pas forcement a une infection suppurative ; il peut s'agir de façon plus banale d'une décharge importante de cristaux d'urates (roses) ou de phosphates amorphes (blanchâtres).**(H. Darbas et al, 2007) (D. Cheristol ,1978) .**

La coloration des urines n'est pas synonyme d'hématurie et peut être liée à une prise médicamenteuse (rifampicine) **(F. Janviera et al,2008) .**

La valeur prédictive positive (VPP) de cet examen est faible et son VPN est de l'ordre de 95 % ce qui signifie qu'une urine limpide peut être infectée dans 5 % des cas.**(G. ABS et al ,2011)**

2-Examen cytologique :

L'analyse cytologique peut être réalisée par une méthode automatisée ou manuelle. Elle comprend une méthode quantitative pour le dénombrement des hématies (GR) et des leucocytes (GB), et une méthode qualitative pour déterminer la présence de cristaux, cellules épithéliales, cylindres, bactéries, levures, parasites.**(C. Auvray, R. Baraduc et al,2013)**

-Aspect quantitatif :

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon (non centrifugées et fraichement émises) on dénombre les leucocytes et les hématies à l'aide d'un dispositif à numération type cellule de Malassez, Lemaur ou Nageotte de préférence à usage unique. Leur nombre est rapporté par millilitre. **(D. Cheristol,1978) (H. Darbas et al, 2007)**

La Leucocyturie est considérée comme le témoin d'une atteinte inflammatoire des tissus de l'arbre urinaire , à l'état physiologique, l'urine contient moins de 10 3 leucocytes et 5000 hématies par ml en cas d'infection urinaire, un processus inflammatoire se traduit par la présence de plus de 104 leucocytes/ml, parfois en amas, fréquemment associé à une hématurie supérieure à 104 hématies/ml dans environ 30 % des cas. **(J.-D. Cavallo et É. Garrabé,2003) (. F. Janviera et al ,2008)** .

Depuis quelques années, il existe également des techniques automatisées de numération. Ces méthodes utilisent la cytométrie en flux couplée à une détection de fluorochrome ou une technique d'analyse d'images après capture par système vidéo.

Elles permettent une détection quantitative rapide d'une grande variété de particules urinaires estiment la bactériurie à partir d'un seuil minimum de 103 ou 104 /ml.**(F. Janviera et al ,2008) (Epidémiologie bactérienne des cystites non compliquées en Lorraine. s.l ,2011)**

-Aspect qualitatif :

L'examen du frottis réalisé à partir du culot de centrifugation et coloré au Gram peut conforter permet d'observer les éventuels micro-organismes présents et oriente le choix des milieux deculture selon leur(s) morphologie(s) et leur(s) affinité (s) tinctoriale(s).

Il permet également de visualiser :

Les cristaux qui sont physiologiquement présents dans l'urine. Seuls, les cristaux de cystine et une quantité abondante de cristaux d'acide urique sont anormaux, et seuls les cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien ont un intérêt dans le diagnostic d'une infection urinaire, car ils sont en faveur d'une infection par une bactérie uréasique**(R.Courcol et al) (F. Denis et M. Cécile)**

Les cellules épithéliales provenant de la desquamation de l'urètre externe ou celles d'origine vaginale peuvent apparaître en urine et représentent une contamination possible et fréquente du spécimen et entraîne le rejet de l'examen . **(T. Rasamiravaka,2011)**

Les levures, Trichomonas (ces derniers se repèrent surtout grâce à leur mobilité qui se perd progressivement puis totalement en quelques heures après le prélèvement), des spermatozoïdes.

5.2.1.C-Interprétation des urocultures :

En 1960, les travaux de Kass ont défini :

- Bactériurie < 103 UFC/ ml : absence d'infection.

- Bactériurie > 105 UFC/ ml : infection probable.

- Entre 103 et 104 UFC/ ml : zone d'incertitude

(F. Denis et M. Cécile.)

Des études (notamment celles de Stamm et al, M. Véron et A.Kazmierczak) ont montré qu'une bactériurie inférieure à 104 bactéries/ml peut se rencontrer chez des malades présentant d'authentiques infections urinaires. **(F. Denis et M. Cécile) (P. BERCHE,1979)**

En, conséquence, lors de la dernière conférence de consensus sur les infections nosocomiales (Paris, 27 novembre 2002), il a été établi en conséquence qu'une bactériurie est à prendre en considération si elle est ≥ 103 UFC/ ml (≥ 106 CFB/L) sous respect strict des conditions de prélèvement, de transport et d'analyse des urines.**(F. Bruyère et al ,2008) .**

Chapitre II : Les Entèrobactèries

I- Les bacilles à gram nègatif :

Les bacilles à Gram négatif, sont les bactéries les plus frèquement impliquées en pathologie infectieuse humaine, notamment en milieu hospitalier à proximitè du laboratoire de bactèriologie **(Delmée ;2004)**.

Ceux-ci sont divisés en deux groupes principaux : les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires **(Liassine, 2000).**

Les bacilles à Gram négatif ,ces dernières décennies ont provoquès de nombreuses études.Leur importance est en rapport avec leur multirésistance aux antibiotiques favorables.**(Gueye, 2007).**

II -Les Entèrobactèrie

II-1- Dèfinition et historique des Entèrobactèries

Entérobactéries ou bactéries entériques (du grec enterikos, appartenant à l'intestin) .Sont les germes le plus souvent isolées dans les Infection urinaire c'est pour cela on les a appelèsuropathogène**(Ben Abdallah et Hamlaoui, 2016).**

Ils sont nommés (Enterobacteriaceae) en fonction de leurs spécificités qui composent cette famille qui sont des hôtes normaux ou pathogènes du tube digestif des humains et des animaux.On les trouve aussi au niveau des vois aériennessupérieures , sur les organes génitaux, la cavité buccale.Elles peuvent persister en dehors d'organismes vivants, Par exemple : dans le sol, l'eau et dans certaines denrées alimentaires **(Fauchère et Avril,2002).**

Toutes les Entèrobactèries ont une dèfinition commune :

- Sont des Bacilles à Gram négatif (dont les dimensions varient de 1 à 6 µm de long et 0,3 à 1 µm de large). **(Avril et al., 2000)**

- Mobiles avec ciliature péritriche(Par exemple: Yersinia pseudotuberculosis et Yersinia enterolitica) ou immobiles (Exemple : le genre Klebsiella).

-Des aérobies-anaérobies facultatifs.

- oxydase négative (à la différence des Vibrio et Pasteurella).

- Poussent facilement sur des milieux de culture ordinaires à 37°C.

- Possèdent une catalase (à l'exception de l'espèce Shigelladysenteriae).

- Ne sont pas sporogènes**. (Denis ;Edwards ;Farmer.et al 2003).**

-réduire les nitrates en nitrites, et d'acidifier le glucose par voie fermentative avec souvent la production de gaz **(Avril et al. 2000).**

- Sont des chimio-organotrophes, beaucoup sont prototrophes : Elles sont capable de synthètiser tous leurs besoins nutritive àpartir d'une source unique de carbone (sucre, ...) et d'énergie (électrons) **(Avril et al., 2000).**

II-2- Historique et taxonomie

Un grand groupe de bactèries qui est constituè ayant une forte similitude par les entèrobactèrie .Cette constitution è ètèproposès par Rahn en 1937

Lesentérobactéries sont des Eubactéries, appartiennent à :

- la division des Proteobacteria.

- la classe des Gammaproteobacteria.

-l'ordre des Enterobacteriales .

- la famille desEnterobacteriaceae.

La dècomposition des genres et espèces repose sur la comparaison descaractéristiques physiologiques, biochimiques, antigéniques et génétiques de bactérie.

L'évolution constante des recherches génomiques à profondément changèla taxonomie des bactéries, et celle des entérobactéries en particulier. Une identification très précise de toutes les espèces est permet par leséquençage des gènes codant pour l'ARNr 16S et surtout des gènes codant l'ARN polyméraseB et aussi l'hybriation ADN/ADN **(Mamod, 2016).**

III -Les classifications des principales Entèrobactèries

La famille des entérobacteriaceae comprend 53 genres et plus de 170 espèces bactériennes .

Certains genres comme Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Shigella et Yersinia sont plus fréquemment isolés en bactériologie clinique.

Tableau 02 quelques genres des entèrobactèries et leurs principales èspeces : (Anonyme 01,2023)

Genres	Principales èspeces
Escherichia	Escherichia coli
Shigella	Shigelladysenteriae, S. sonnei, S. boydii
Salmonella	Salmonella enterica> 2000 sérotypes dontSalmonella Typhi, S. paratyphi A, B, C
Klebseilla	K.pneumoniae, K. oxytoca
Enterobacter	Enterobactercloacae, E. aerogenes
Serratia	Serratiamarcescens
Proteus	Proteus mirabilis, Proteus vulgaris
Providencia	Providenciarettgeri, Providenciastuartii

III-1- Escherichia Coli :

L'èspèce de type du groupe des Enterobacteriaceae quel est la plus souvent pathogène pour l'homme . Isolé pour la première fois en 1885 parThèodorEscherich. **(Avril et al., 2000).**

Escherichia coli (colibacille) est l'espècebactèrienne qui a ètè la plus ètudiée par les fondamentalistes pour des travaux de physiologie et de gènètique**(Jean et al., 2018**).

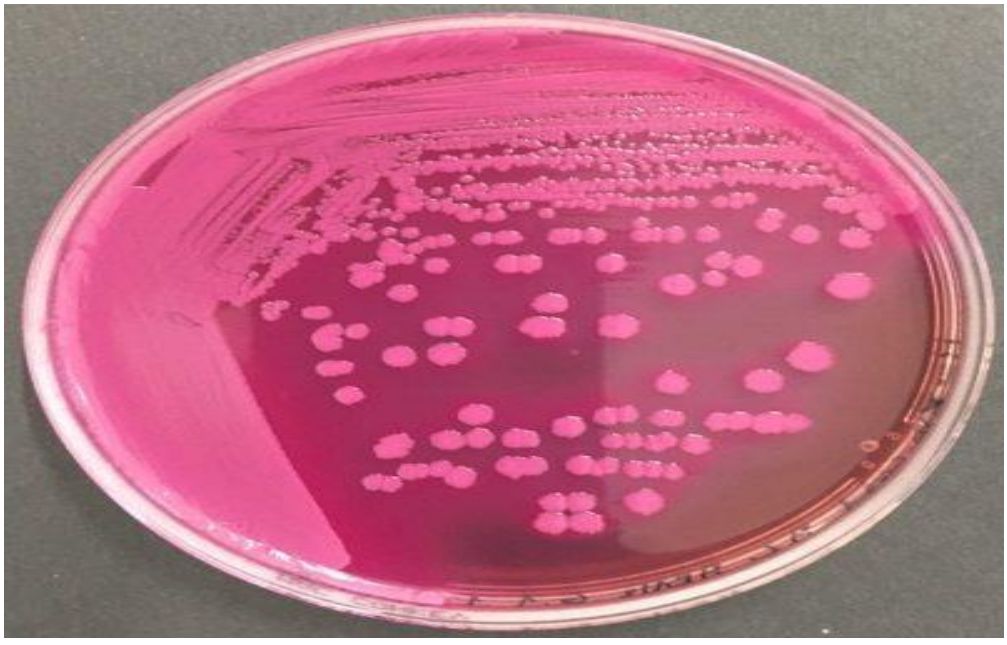


Figure 05 : Escherichia Coli encemencè sur milieu Macconckey (Anonyme 02 ;2023)

III-1-1- Habitat

Escherichia coli se retrouve en abondance dans la flore commensale humaine, en particulier dans le tube digestif de l'homme qu'elle colonise dès les premières heures de la naissance.Par ailleurs, elle est très répondue dans l'environnement : eau(tèmoin d'une contamination fècale)**(Kapeer et al., 2004).**, sols, et dans les aliments **(Baraduc et al. 2000)**.

Elle constitue l'espèce dominante de la flore aérobie anaéro-tolérante **(Ahoyo et al., 2007 ; Bonacorsi et al., 2001)**

III-1-2- Caractères bactèriologique

III-1-2-1- Caractères morphologiques et culureux :

-Des Bacille à gram nègatifs assez grand de taille comprise entre 1 et 1,5 µmde largeur et 2 à 6 µm delongueur .

- Une bactérie fine et allongée.

- Souvent mobile.

- Asporulèes

- Aéro-anaérobie facultatif.

-Oxydase négatif.

-Nitrate positif et qui fermente le glucose **(Farmer et al. 2007)**

-Escherichia coli se développe facilement en 24 heures à 37°C sur la plupart des milieux utilisés au laboratoire de bactériologie de routine, en particulier le milieu de MacConkey, le BCP ou l'Hektoen. **(Freney ;2006).**

III-1-2-2- Caractères Biochimiques :

Les colibacilles possèdent de nombreuses caractéristiques biochimique grace àleur grande variété enzymatique .Elle exprime les caractères généraux des entérobactéries qui sont décrites dans **:**

le tableau 03 :Les caractères biochimiques d'Escherichia coli (Ben Abdallah et Hamlaoui, 2016).

Test	GLU	LAC	H2S	GAZ	CS	ONPG	GEL	MAL	NIT	LDC	ODC	ADH	URE	TDA	IND	RM	VP	ESC
Rèsultat	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	+	+	-	-

III-1-2-3- Caractères antigèniques :

L'étude de cette structure antigénique est d'une grande utilité car certains sérotypes ont une pathogénicité particulière. KAUFMAN a différencié trois variétés d'antigène, O, H, K :**(Ben Abdallah et Hamlaoui, 2016).**

-**Antigènes somatiques O :**Sont des facteurs somatiquesconstituès de complexes de phopholipides-polysaccharides. Ces antigènes sont différenciés en fonction de la nature de leurs groupements terminaux et de leur ordre dans la chaîne des polysaccharides.**(Lymberopoulous, 2004).**

il existe environ160 antigènes O différents .

- **Antigènes capsulaires K :** ils sont de nature polysaccharidique ; environ 70 Antigènesd'enveloppe différents ont été reconnus.

1. **L'antigène L :**est le plus fréquent mais est thermolabile, de sorte que le chauffage provoque une perte de la puissance antigénique, la capacité à fixer les anticorps et la capacité à masquer l'antigène O**.(Pohl et al., 1998).**

2. L'antigène A : est rare, il s'agit d'un antigène capsulaire (les Escherichia coli encapsulé sont relativement rèpandus dans les infections des voies urinaires). L'antigène A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire) **(Pohl et al., 1998).**

3. L'antigène B : est toujours présent chez les Escherichia coli enthéropathogènes de gastro-entérite pour nourrissons.

Il prèsente une thermolabilité intermédiaire : au boutd'une demi-heure à100°C il reste toujours de l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par«trouage» de l'enveloppe, la fixation de l'anticorps est toujours positive mais le pouvoir antigénique est progressivement perdue (selon la durée de chauffage) **(Pohl et al., 1998).**

- Antigènes flagellaires H : Les antigènes H ne sont pasutilisè pour identifier des Escherichia coli pathogènes mais présentent un intérêt du point de vue épidémiologique important(l'identification de l'antigène H est un élément à assurer ,il s'agit d'une même souche), ils sont de nature protéique.

On en connaît 52 types, ils ne sont présents que chez les souches mobiles **(Marc et al., 1999 ; Avril et al., 2000).**

III-1-3- Le pouvoir pathogène

Les colibacilles, hôtes normaux de l'intestin,La plupart sont commensaux,cause des infections spontanées de l'appareil urinaires (plus de 80%) et de gastro-entérites, et des infections nosocomiales **(Dembelle, 2006).**

Escherichia coli uropathogène (UPEC) : cette dénomination a été employée pour regrouper les souches d'Escherichia coli les plus spécifiquement impliquées dans les IU (infction urinaires), les UPEC (uropathogenic Escherichia coli) sont caractérisés par un certain nombre de facteurs de virulence qui jouent ensemble un rôle dans leur pathogénie. **(Don et al)**

Certaines entéropathies pouvant être dues à certaines souches d'Escherichia coli appartenant à l'un des groupes d'Escherichia coli suivants:

-Les E. coli entéro-hémorragiques (ECEH): Ces bactéries peuvent produire des toxines et causent des diarrhées sanglantes.

- Les E. coli entérotoxinogènes (ECET): ils sont responsables de la « diarrhée des voyageurs» et des syndromes épidémiques dans les pays du tiers monde.

- Les E. coli entéro-invasifs (ECEI): ils peuvent pénétrer dans les cellules etde causer des syndromes dysentériformes avec invasion de la muqueuse intestinale.

- Les E. coli entéropathogènes (ECEP): ils sont responsables de gastro-entérites infantiles.

Escherichia coli est l'une des principales causede diarrhée aigüe à l'èchelle mondiale. **(Berche, 2003).**

III-1-4- Facteur de virulence

Les souches responsable des infections extra-intestinales prèsentent des facteurs de virulence qui contribuent au passage par la bactèries des divers stades du processus pathophysiologique d'adhèsion,invasion et de multiplication **(Jauréguy ;2009).**

III-1-4-1- Facteurs d'uropathogénicité liés à l'adhésion :

La migration d'Escherichia coli dans les voies urinaires malgrè l'ècoulement urinaires nècessite la fixation de structure bactèriennesspècifiqueaux récepteurs à la surface des cellules épithéliales.Cette interaction moléculaire doit être plus grande que les forces de répulsion électrostatique associées à des charges négatives sur les surfaces cellulaires et bactériennes.**(Mariani-Kurkdjian ;2004).**Escherichia coli peut traduire diffèrents types de fimbriae:fimbriae type 1, fimbriae type P, et fimbriae.La prévalence des P-fimbriae(adhésinespapG) est plus èlevèe chez les souches responsables d'infections des voies urinaires et de bactériémies**.(Mariani-Kurkdjian ;Johnson ;2004).**

III-1-4-2- Facteurs d'uropathogènicitè non liés à l'adhésion:

-Ce sont les toxines et les systèmes de captage du fer : hly, cnf1, aerobactin, yersiniabactin (fuyA), iroN.

-L'endotoxine de la bactérie (LPS) :

*Une fracture de la paroi èpithèlialerènal

*Associée à l'hémolysine

*Facilite la pénétration de la bactérie dans l'endothélium des capillaires et mène ainsi à la bactériémie.

-Les polysaccharides capsulaires, y compris le sérotype K1, contribuent à la virulence du germe par l'élimination des bactéries de la phagocytose et la lyse sérique.(**Jauréguy ; Mariani-Kurkdjian ;2009).**

Tableau 04 : caractères diffèrentiels entre les diffèrentesèspeces du genre Escherichia.(Denis et al.,2007)

	E.coli immobile, agazogène	E.coli mobile	E.fergusonii	E.hermanii	E.vulneris	E.albertii
Pigmentation jaune des colonies	-	-	-	+	D	-
Gaz en glucose	-	+	+	+	+	+
Indole[1]	+	+	+	+	-	-

LDC[1]	D	D	+	-	+	+
ODC[1]	D	D	+	+	-	+
Lactose*	D	+	-	D	-	-

D= variable selon les souches

[1] = caractères disponibles sur galerie AP1 20^{E} (bioMerieux)

*= Fermentation

III-2- Klebseilla

Les bactéries du genre Klebsiella sont nommèes en 1887 par trevisan pour honorer Klebs Edwin (un microbiologiste allmand du XIXèmè siècle. **(Dworkin et al. ,2006).**

Le genre Klebsiella appartient à la famille des Entérobacteriaceae, dans laquelle il se regroupe avec le genre Shigella immobile.

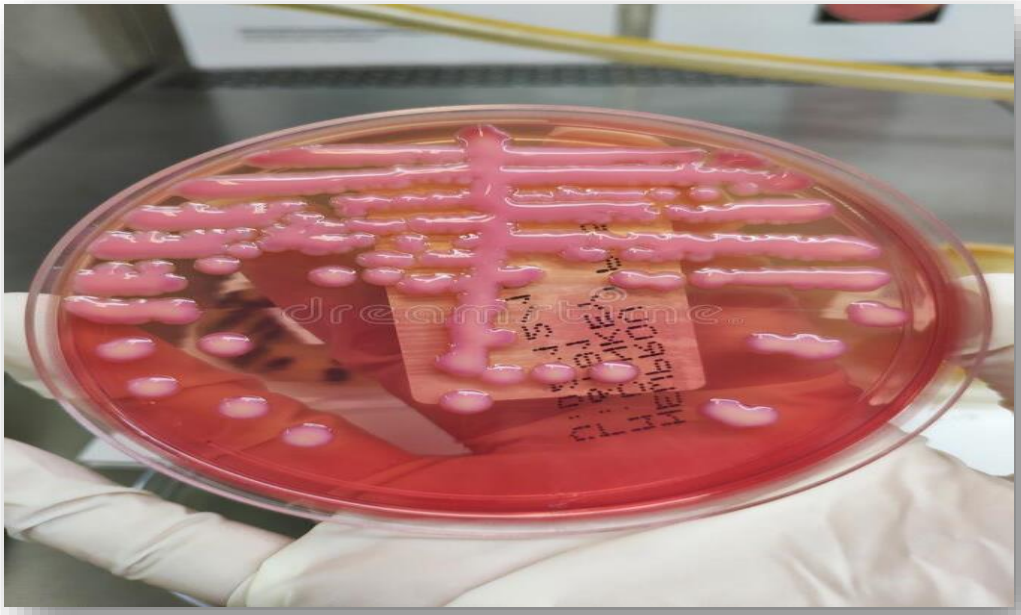


Figure 06 :Klebseilasppensemencè sur milieu Macconckey (Anonyme 03 ;2000)

- Règne : Bacteria
- Embranchement : Proteobacteria
- Classe : Gamma Proteobacteria
- Ordre : Enterobacteriales
- Famille : Enterobacteriaceae
- Genre : Klebsiella**(Anonyme 04 ;2023)**

- Espèce :On distingue six èspeces qui sont reconnues jusqu'à maintenant dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques :

-Quatresèspeces qui ont un pouvoir pathogène pour l'homme (K. pneumoniae, K. oxytoca, K. ozaenae et. K. rhinoscleromatis).

-Deux èspeces qui sont rarement pathogènes, trouvèes dans l'environnement (K. terrigenaet K. planticola) **(Avril et al., 2000).**

III-2-1- Habitat :

Les espèces du genre Klebsiella sont ubiquistes.

Klebsiellapneumoniae et Klebsiellaoxytocasont les espèces les plus souvent connues.sontinversès dans la nature. Nous pouvons les isoler de l'eau, des végétaux (des plantes) et d'une variètèd'aliments.Elles sont rencontrées dans la flore fécale de l'homme. Elles sont souventcommensal sur la peau, les muqueuses et les voies respiratoires supérieures.**(Avril et al., 2000).**

K. ozaenae et K. rhinoscleromatis sont strictement adaptées au tractus respiratoire de l'homme. Elles sont ainsi souvent responsables d'affections sévères et souvent chroniques de l'arbre respiratoire.

K. rhinoscleromatis est l'agent du rhinosclérome et K. ozaenae peut être l'agent d'infections bronchiques chroniques dans les bronchiectasies ou la mucoviscidose. En raison de parentés génomiques, les taxonomistes considèrentles espèces K. ozaenae et K. rhinoscleromatis comme des sous-espèces de Klebsiellapneumoniae, soit respectivement K. pneumoniaesubsp. ozaenae et K. pneumoniaesubsp. rhinoscleromatis.

Le portage digestif de Klebsiella est plus frèquent chez les malades hospitalisés que dans la population normale.L'infection des malades est soit avec leurs propres souches, soit avec des souches qui sont responsables de petites épidémies hospitalières.**(Boughachiche et Sebais, 2016).**

III-2-2- Les caractères bactèriologique

III-2-2-1- Les caractères morphologiques et cultureux :

Les Klebsielles sont des Enterobacteriaceae :

- Des bacilles à Gram négatif (coloration bipolaire fréquente)**.(Boughachiche et Sebais, 2016).**

- De 0.5 µm sur 3 µm (dimension comparable par rapport à celle de Eschericiacoli).**(Le Minor et véron, 1989).**

-A extrémités arrondies.**(Le Minor et véron, 1989).**

- Généralement entourées d'une capsule polysaccharidique, plus ou moins volumineuse selon les espèces bactériennes et selon les types antigéniques capsulaires.**(Farmer ; janda.J et le Minor.L ;1998)**

-Asporogènes.**(Le Minor et véron, 1989).**

-Toujours immobiles (sauf K. mobilis).**(Don . Brenner, et al.)**

-Muqueuses et ayant une tendance à la confluence (en relation avec la

présence d'une capsule)

Sur les milieux classiques d'isolement pour les entérobactéries (Drigalski, EMB, Hektoen, Mac Conkey), en 18 à 24 heures à 37˚C**(Boughachiche et Sebais, 2016).**

III-2-2-2- Les caractères biochimique :

Ces bactériespossèdent un mètabolismerèspèratoire et fermentatif**(Boughachiche et Sebais, 2016)** ; fermentant le glucose par la voie du butane-2,3-diol .**(Flandrois, 1997 ; Maza et al., 2004).**

N'hydrolysant ni l'ADN ni le Tween 80, fermentant de nombreux sucres dont l'inositol**.(Boughachiche et Sebais, 2016).**

Tableau 05 : les caractères biochimiques de Kleibsella (Freney et al.,2000).

	VP	***RM***	***ONPG***	***Urèè***	***Indole***	***Citrate de simmon***
K.pneumoniae	+	-	+	+	-	+
K.oxytoca	+	-	+	+	+	+
K.ozaenae	-	+	+	+/-	-	+/-
K.rhinoscleromatis	-	+	-	-	-	-

Tableau 06 : Croissance et fermentation du glucose à : (Jean FRENEY et al.,2000).

4°C	-	-	-	-	+	+	+
10°C	-	-	-	+	+	+	+
41°C	+	+	+	+	-	+	+

III-2-2-3- Les caractères antigènques

Les espèces qui appartiennent au genre Klebsiella ont les antigènes O (somatique) et K (capsulaire) et enfin l'antigène d'adhèrence

L'Antigène somatique O :

La recherche sur les antigènes O est peu intéressante parce qu'ils sont peu nombreux (13 antigènes O différents).

L'Antigène capsulaire K :

On compte 77 types de capsulaires : K1 à K72, K74, K79 à K82.

Klebsiellapneumoniae et Klebsiellaoxytoca sont réparties sur un grand nombre de types capsulaires.

Klebsiellaozaenae appartient le plus souvent au type 4, plus rarement aux types 1, 5, 6, 22. Klebsiellarhinoscléromatis fait partie que du type 3. **(Richard et al.,1992).**

L'Antigène d'adhèrence :

Nommè aussi fimbriae , il est de nature protèique et portè par des pili communs **(freney et al. ;2000).**

III-2-3- Le pouvoir pathogène

K. pneumoniae est responsable des infections spontanées dans 25 cas, mais particulièrement des infections nosocomiales(de 10%), en particulier chez les patients hospitalisésprincipalement chez les malades immunodéprimés, cancéreux, brûlés, cirrhotiques, diabétiques, chez les vieillards, nourrissons, nouveau-nés et prématurés .Elle est également à l'origine de différentes infections : suppuratif, urinaire, respiratoire, hépatique intraabdominal, biliaires qui peuvent être à l'origine de bactériémie et surtout de septicémie de pronostic sévère , fasciite nécrosante.**(Sahly et al. 2004 ; Stone et al. 2003).**

K. oxytoca sont isolées principalement de maladies broncho-pulmonairesaiguës ou subaiguës, mais aussi d'infections des voies urinaires, hépatobiliaires ou de pus **.(Riegel ;2002).**

III-2-4- Les facteurs de virulence

La virulence des bactéries est définie comme l'intensité de la pathogénicité, c'est-à-dire le degré de pathogénicité.Le pouvoir pathogène d'une bactérie est sa capacité de causer des maladies chez un hôte spécifique.**(Podschun et al., 1998)**.

Les facteurs de virulence sont :

-Les produits bactériens impliqués dans l'activité pathogène.

-On peut diviser ces facteurs en plusieurs groupes selon leur fonction .

- Par conséquent, les facteurs d'adhérence permettent aux bactéries de se

fixer aux surfaces hôtes.

-Les sidephores garantissent la solubilisation et la pénétration des ions Fe_3

dans les cellules bactériennes.

-Les capsules agissent en tant que barrière de protection contre les acteurs et les activitès du système immunitaire de l'hôte.

Le rôle pathogène actuel de Klebseille s'explique par leur aptitude à résister à la phagocytose grâce à leur capsule mais également par leur multirésistance aux antibiotiques**. (Dworkin et al., 2006).**

III-3- Enterobacterspp

Les entèrobactériesdu genre Enterobacteron été décrit pour la première fois en 1960par Hormaeche et Edwards. En 1963 la commission judiciaire du comitè internationale de nomenclature des bactèries a placè le nom Enterobacter sur la liste des nom conservès **(Grimont et Grimont,2006).**



Figure 07 : Enterobactersppencemensè sur milieu Macconkey (Anonyme 05 ;2023)

Et qui appartient aux :

- Règne : Bacteria
- Embranchement : Pseudomonadota
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre Enterobacterales
- Famille : Enterobacteriaceae
- Genre Enterobacter**(Hormaeche& Edwards 1960)**

E. cloacae, E. aerogenes, E.agglomerans, E. gergoviae, E. sakazakii, E. asburiae et E. intermedius font partie des espèces rencontrées en bactériologie médicale **(Avril et al., 2000)** .Enterobactercloacaecomplex etEnterobacteraerogenes sont les espèces les plus fréquemment rencontrées en milieu clinique**(Grimont et Grimont P. A.D, 2006).**

III-3-1- Habitat

Enterobacter sont des commensals du tractus gastro-intestinal des humains et des animaux . Ils sont prèsents aussi dans l'environnement naturel tel que les eaux , le sol, la peau , les muqueuses et ègalement dans une vaste gamme des produits alimentaires **(Avril et al., 2000).**

Enterobactercloacae complexe etEnterobacteraerogenes sontles espèces les plus prèsentes dans les hopitaux ; ont ètèisolès en tant que polluants communs provenant d'une variètè de surfaces inertes, du matèriel de prèparation et du matèrielmèdical et chirurgical. Aussi bien que les mains et l'habillement du personnel mèdical**(Lehner, 2011).**

III-3-2- Caractère bactèriologique :

III-3-2-1- Caractère morphologique et cultureux :

Les espèces du genre Enterobacter sont :

- Des bacilles droits (batonnets) à Gram négatif.
- Aèro-anaèrobie facultative.
- Mobilespar des flagelles péritricheset asporogénes.
- De 0,6 à 1 μm de largeur et 1,2 à 3 μm de longueur
- Qui poussent facilement sur tous les milieux d'isolement pour bacilles à Gram négatif.
- Les colonies des E. sakazakii sont pigmentées en jaune et aussi il peut etre produit par des colonies des souches d'E. agglomerans**(Didier, 1998 ; Avril et al., 2000).**
- ils se présentent de manière isolée, groupée, ou en courtes chainettes.
- Le GC % de leur ADN est de 52 à 60 % des souchesisolèesd'Enterobacteraerogenes sont entourées d'une capsule, la capsule est gènèralement plus fine que celle de Klebsiella**(Grimontet Grimont P. A.D, 2002 ; Lehner, 2011).**
- L'isolement d'Enterobacterspp est rèalisèe sur les environnements de laboratoire classiques utilisés pour l'isolation des entérobactéries (Drigalski, éosine bleu de méthylène, MacConkey et Hecktoen), Au bout de 18 à 24 heures à ph neutre et à tempèrature optimale de croissance de37°C former des colonies rondes,légèrement irisées ou mates, sèches ou mucoïdes et avec des contours irréguliers. Des changements de couleur sur le milieu sont observables après la fermentation du lactose chez 80% des souches **(Lehner, 2011).**

III-3-2-2- Caractère biochimique :

Les espèces de ce genre présentent les mêmes caractères biochimiques généraux desentérobactéries, elles fermentent le glucose avec production d'acide et de gaz , ainsi que :

Tableau 07 : Caractères biochimiques d'identification des èspeces d'Enterobacter (Clave,2011)

	LDC	ADH	Urèe	ESC	GEL	βXYL	INO	SOR	SAC	RAF	MEL
E.cloacaeSubspcloacae	-	+	-	-	V	+	(-)	+	+	(+)	+
E. cloacaesubspdissolvens	-	+	+f	+	V	+	V	+	+	+	+
E. asburia	-	V	+/-	+	-	+	-	+	+	(+)	V
E. cancerougenus	-	+	-	+	+*	-	-	V	-	-	-
E.hormaechei	-	V	(+)	-	-		-	-	+	-	-
E.kobei	-	+	+/-	-	-	+	+	+	+	+	+
E.nimiperssuralis	-	-	-	+			-	+	-	-	+
E.aerogenes	+	-	-		V	+	+	+	+	+	+
E. amnigenus 1	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+
E. amnigenus 2	-	V	-	+	-	+	+	+	+	+	+
E. cowanii	-	-	-	+			-	+	+	+	+
E. Gergoviae	V	-	+f	+	-	-	-	-	+	+	+
E. ludwigii	-	+	-	-v	-		+	+	+	+	+
E. pyrinus			+	+	-		+	-	+	-	+
E. radicintans	-	+	-	+			-	+	+		-
E. sakazakii	-	+	-	+	(+)	+	V	-	+	V+	+

+/- : variable en fonction des mèthodes

f : faible

() : Gènèralement

* : c'est-à-dire à 27°C

V : variable

III-3-2-3- Caractère antigènique :

Comme toutes les bactèriesentèrique le genre Enterobacterpossedent aussi des principaux antigènes qui sont les suivantes :

- **Antigène O :** il s'agit de l'antigène de paroi, constituè de lipopolysaccharides (LPS) ou d'une glycoprotèine thermostable rèsistante à l'alcool et à l'acide localisè sur la paroi bactèrienne de certains souches gram negatives.la fraction de protèine produit le complexe antigènique, tandis que la partie polyoside montre la spècificitè de l'antigène**.(Carip,2008).** Chez certains t antigène est associè à une autre partie lipidique cause une toxicitè et qui en est responsable de : la fièvre, leucopènie, hypotension, bradicardie,coagulation intravasculaire dissèminèe et mort **(douhane ,2021).**
- **Antigène H :** l'antigène flagellaire avirulent qui caractèrise des èspèces d'entèrobactèries mobiles comme le genre Enterobacter qui sont composèes de flagellineprotèineux, thermolabile, dètruit par l'alcool ou les enzymes protèolytiques. **(Cristian,2008)**

  L'agglutination se produit par la formation d'anticorps anti-Hdèdiè au diagnostic sèrologique de l'infection à des entèrobactèries .
- **Antigène K :** antigène envloppèappelè aussi capsulaire de nature polysaccharidique entoure des èspèces capsulaires de la famille des Enterobacteriaceae (pour Enterobacter on a l'espece capsulaire Enterobacteraerogeneses). Parmi les antigènes K , il existe d'autres antigène L, A, B chez certains èspèces comme Escherichia coli , shigella et aussi l'antigène Vi pour certains Salmonella ou citobacter .**(Bouzeraa et Berrihil,2018).**

  L'antigène K est capable de dissimuler l'antigène O en faissant bouillir et de ce fait les souches bactèriennes qu'ils possèdent inagglutible par l'anticorpO , puis on les rècupèrera après avoir rèchauffè.**(Ajdakar,2015)**

La localisation des ces antigènes O,H,K au niveau d'une Enterobactèrie est ullistrè par la figure 04

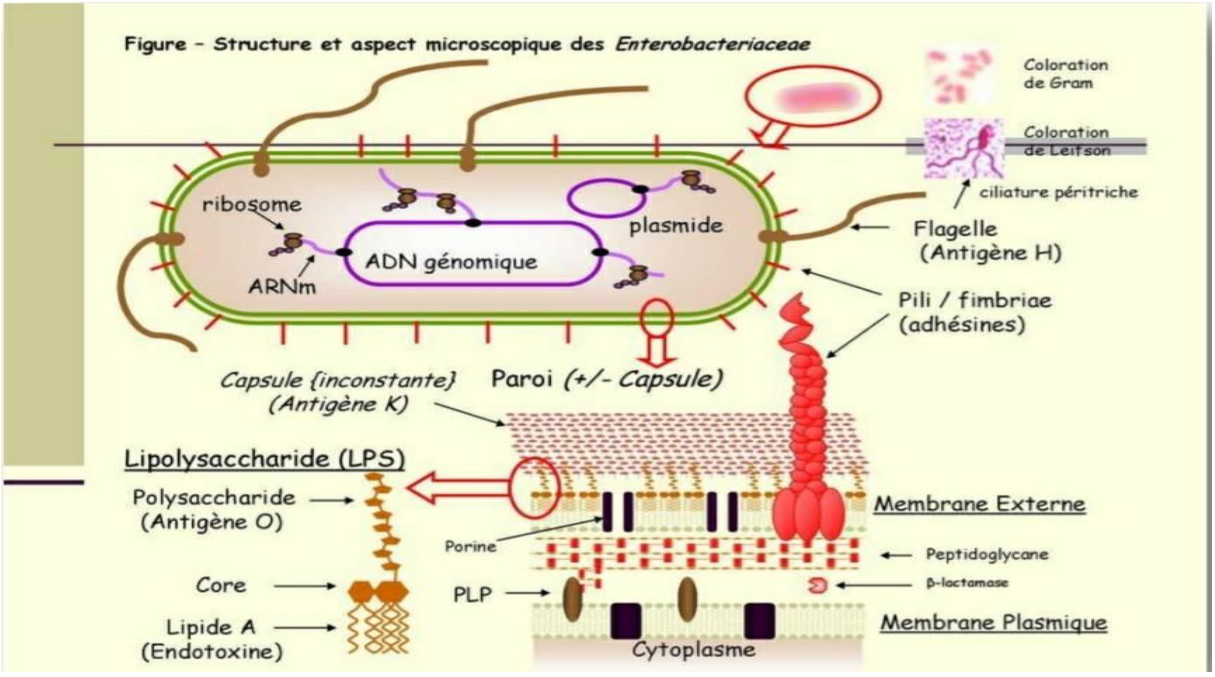


Figure 08 : Structure et aspect microscopique des Entérobactéries (François et al., 2007)

III-3-3 Le pouvoir pathogène

Enterobacterprèsente une pathogènicitè et une virulence nècessaires pour devenir une bactèrie pathogène opportuniste susceptible de provoquer une variètè d'infection et de maladies chez l'homme, l'animal et meme chez des vègètaux**(Davin-Regli,Lavigne et pages, 2019)**.

La prèsence des flagelles chez cette famille permttre la mobilitè et plus encore effectuer de nombreuses autres fonctions comme : la formation de biofilm, l'adhèrence et l'exportation protèique**(Douhane,2021).**

Ces germes pathogène sont responsable à des infection nosocomiales tels que les infection urinaires, de bactèrièmie,de méningites ou de diffèrentes suppurations **(Abdelmalek et Lezzar, 2016).**

III-3-4- Facteurs de virulence :

En 1970 l'espèce Enterobactersp. a été désignè comme un agent pathogène nosocomial, mais on la rencontre beaucoup moins souvent que les souches d'Escherichia coli et de Klebsiella**(Sanders,1997).**

D'une facongènèrale ce type d'infection dans le service de la réanimation affecte les patients immunodéprimés tel que : les patients diabètiques, les nouveau-nés et les bèbèsprématurés, les brulés et polytraumatisés et les patients atteints de leucémie **(Davin-Regli, Lavigne et Pages, 2019).**

Prolonger la durée du séjour dans les équipements de soins et les appareilsMédicaux (cathéters, cathèthers urinaire, cathèthersendotrachéale …) sont ègalementconsidérés aussi comme des facteurs de risques qui provoquent des infections principalement en raison des espèces d'ECC**(Douhane, 2021).**

En France en 1976, E. gergoviae a été isolé à partir d'échantillons respiratoires de plaies de culture sanguine, l'urine est signalèe comme agent épidémiologique responsable d'une bactériémie chez les nouveau-nés **(Davin-Regli, Lavigne , 2019).**

Chapitre III : Resistance bacterienne aux antibiotiques

I.1- Généralité sur les Antibiotiques:

I.1.1 - Définition des Antibiotiques:

Le terme antibiotique (utilisé pour la première fois par R.DUBOS en 1940), A été défini par plusieurs scientifiques en tant que substance chimique ayant le pouvoir d'inhiber le développement oumeme d'éliminer les bactéries, Souvent ils aident les défenses naturelles du corp (système immunitaire) a détruire les bactéries.

Les origines principales des antibiotiques sont des champignons parfois des bactéries.

Actuellement la plus part des antibiotiques utilisé sont obtenus par semi-synthèse agissant par:

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

I.1.2 - Classification d'ATB présentant un intértétthérapetiquecontre les entérobactéries:

les antibiotiques sont generalment classés selon leur structurchimique,leurorigine,leur spectre d'action et selon leur capacitè d'inhiber le dèvlopment des bacteries ou leur èlimination

la classification est résumée dans le tableau suivant :

Tableau 08: Classe et cible d’action des antibiotiques (Battraud, 2017).

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

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

III.2- β lactamine

III.2.1-Gèneralitè: les beta lactamine sont les antibiotiques les plus souvent choisis pour les traitements des infections bactèriènnes ;ceci est a cause de leurs spectre d'action et leurs faible toxicitè . ils ont un effet bactèricide sur la bactèrie en voie de croissance.

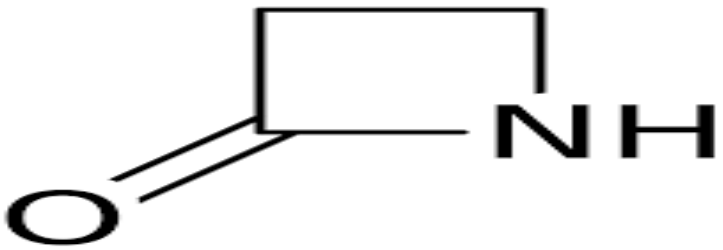
On distinge plusieurs variètè de beta lactamine en fonction de leurs spectre d'action .**(Philippon, 2008 ; Robin *et al.*, 2012).**

Tableau 09 : Liste des β-lactamines (Ndir, 2015

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

III.2.2-Structure :

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



anonyme 1 (2023)

A partir du noyau β lactamine de base 4 familles ont été développés à :

_noyau pèname

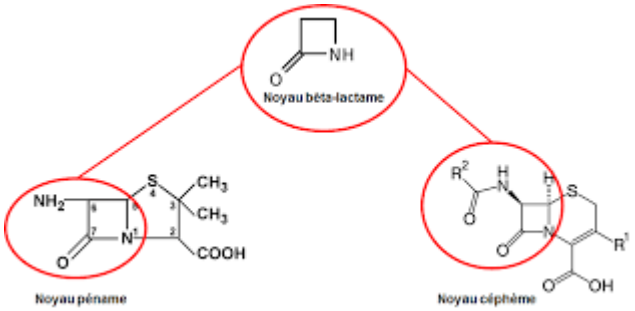
_noyau pénémes

_noyau monolactames

_noyau céphèmes

La structure de base des pénicillines, l'acide 6-aminopénicillanique, est constituée d'un cycle thiazolidine lié au cycle β-lactame. Par contre, les céphalosporines se distinguent chimiquement des pénicillines par le remplacement du cycle thiazolidine par un cycle dihydrothiazine (noyau « céphème ») avec un atome de soufre en position 1 (Dbaibo. 2000). Leur noyau céphème est beaucoup plus stable que le noyau péname des pénicillines, ce qui permet aux céphalosporines de mieux résister globalement à l'action diverse des β-lactamases bactériennes.

anonyme 2 (2023)



III.2.3-Mode d'action

Les β-lactamines, analogues structuraux de la terminaison peptidyl-D-alanyl-D-alanine du peptidoglycane, ont pour fonction d'interagir avec un groupe de protéines, les PLPs, également appelées protéines de fixation de la pénicilline (PBP, pour Penicillin Binding Protein), des enzymes responsables de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane (Ghuysen. 1991 ; Nanninga. 1991).

L'inhibition de ces transpeptidases, impliquées dans l'étape finale de la biosynthèse de la paroi cellulaire, le cycle β-lactame se lie de manière covalente et irréversible au site actif de l'enzyme

provoquant son inactivation. Il entraîne une interruption de la synthèse du peptidoglycane et une production subséquente d'enzymes autolytiques entraînant la mort cellulaire (Stratton. 2000).

Le peptidoglycane est un constituant majeur de la paroi cellulaire présent chez toutes les bactéries (Matagne et al. 1998

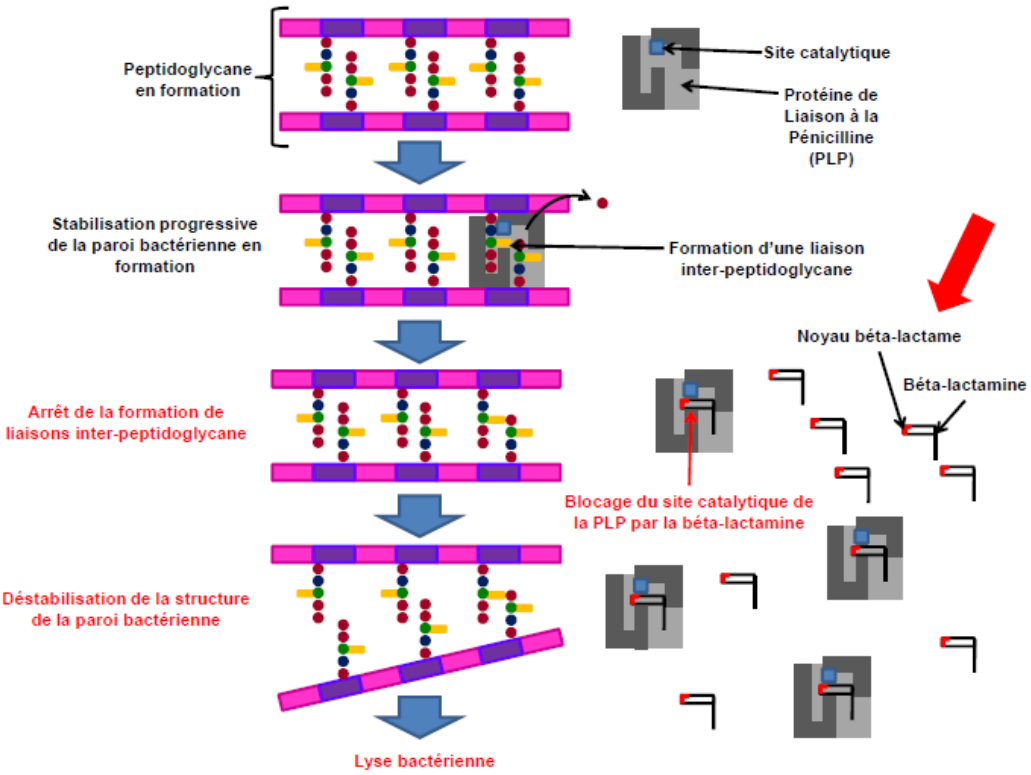


Figure 09 : Mode d'action des bêtalactamines (Vasseur, 2014).

III.2.4-familles de beta lactamines :

La famille des β-lactamines est répartie en quatre principaux groupes : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes (Figure N°1) (Bryskier. 1999).

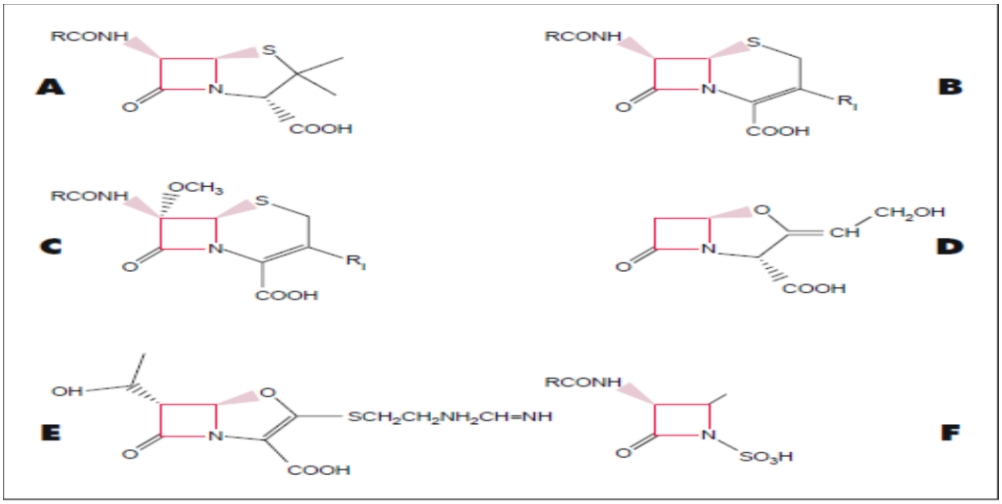


Figure N°10 : Structures de quelques B-lactamines (Charlier et al. 1998).

A : pénicillines ; B : céphalosporines ; C : céphamycines ; D : acide clavulanique ; E :

Imipenème (carbapénème) ; F : monobactames.

<u>Tableau 10</u>: Bêta-lactamines actuellement disponibles sur le marché classées par noyaux et sous-famille

Noyau	Sous-famille	Molécules
Pénames	Pénicillines G et V	pénicilline G pénicilline V (po)
	Pénicillines A	ampicilline (po), amoxicilline (po) pivmecillinam (po)
	Pénicillines M	oxacilline (po), cloxacilline(po)
	Carboxypénicillines	ticarcilline, temocilline
	Uréidopénicillines	mezlocilline,

	Inhibiteurs de bêta-lactamases	acide clavulanique (+ amoxicilline (po) + ticarcilline) sulbactam (seul ou + ampicilline) tazobactam (+ pipéracilline) avibactam (+ ceftazidime)
Pénémes	Carbapénèmes	imipénem (associé à la cilastatine, inhibiteur de la déhydropeptidase rénale) méropénem ertapénem
Monolactames	Monobactame	aztréonam
Céphèmes	C1G (1ère génération)	céfalotine, céfalexine (po), céfapirine, céfazoline, céfadroxil (po), céfaclor(po), céfatrizine (po), céfradine (po)
	C2G (2ème génération)	céfamandole, céfuroxime (po), céfoxitine céfotétan
	C3G (3ème génération)	céfotaxime,ceftizoxime, céfopérazone, ceftriaxone, ceftazidime, cefsulodine céfixime (po), cefpodoxime proxétyl(po), céfotiam hexétil (po)
	C4G (4ème génération)	céfépime, cefpirome

	C5G (5ème génération)	ceftaroline, ceftobiprole, ceftolozane

Anonyme 3 (2023)

(po) : molécule absorbée par voie orale et administrable par cette voie

- **Pènicillines :** Il s'agit d'une grande famille d'antibiotique qui correspond a un noyeupèname commun qui est caractérisé par un pentacycle saturé associé au noyau β-lactame **(Yousfi, 2010).**
- **Les cèphalosporines :** sont des antibiotiques qui ont ètè découvert en1945 par le professeur BROTZU en Sardaigne **(Gootz. 1990).**

  Ces β-lactamines sont toutes à large spectre et leur intérêtréside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif. Actuellement, il existe quatre générations de céphalosporinesclassées selon leur date de mise sur lemarché et leur spectre d'activité :

  - **Premièregénération (C1G**): Comme lacéfalotine, céfaloridine, sont essentiellement efficaces contrequelques entérobactéries ne produisant pas de céphalosporinases inductibles comme E. coli et Salmonella spp et aussi contre les bactériespathogènes Gram positif comme Staphylococcus aureus et Streptococcus pneumoniae . Ce sont les moins stables vis-à-vis de l'hydrolyse par les bêta-lactamases**(Limbert et al. 1991).**
  - **Deuxième génération (C2G):**Comme le céfamandole, céfoxitine, sont caractérisées par une meilleure résistance aux β-lactamases à large spectre et un spectre d'action plus étendu au sein des entérobactéries, avec des variations selon les molécules **(Limbert et al. 1991).**
  - **Troisième génération (C3G):**comme céfotaxime, ceftazidime **(Cavallo et al. 2004)**, se distinguent pas un accroissement important de leur spectre antibactérien et par leur stabilité à la plupart des β-lactamases comme les pénicillinases et les céphalosporinases chromosomiques des entérobactéries, Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii.
  - **quatrième génération (C4G):**ces molécules structuellement proches des C3G ,sont également appelée céphalosporines àspectre élargi du fait d'un élargissement du spectre vers les entérobactéries habituellement résistantes aux C3G par hyperoroduction de

céphalosporinasesdérépimées (ENTEROBACTER ,SERRATIA) Elle ne sont cepandant pas actives sur les soushes productives de BLSE .ces molécules présentent une bonne activité sur le PSEUDOMONAS AERUGINOSA .Actuellement ,seul le céfépime est encore commercialisé.**(Hardman et Limbird. 1998)**

- **Les Carbapènèmes :** Sont les antibiotiques les plus utilisè et les plus èfficace ces derniers temps , très actifs sur les bactèries à gram nègatifs et positif

  L'imipenème est résistant à la plus part des β-lactamases, il s'agit des β-lactamases à spectre étendu . De très rares souches d'entérobactéries sont apparues capables de dégrader l'imipenème ont été décrites.

- **Les Monobactams :** qui a une activité sur les bacilles à Gram négatif , mais elle est inactive sur les bactéries à Gram positif et les anaérobies.

  Ils existent des inhibiteurs de β-lactamases : les clavanes (acide clavulanique) et les pénicillines-sulfones (tazobactam et sulbactam). Ces molécules sont actives sur les pénicillines. Ils sont dépourvus d'activité antibiotique car ils n'inhibent pas les PLPs, ils sont utilisés en association avec d'autres β- lactamines (amoxicilline, ticarcilline et pipéracilline). **(Le Noc. 1999)** .

III.3-rèsistances aux antibiotiques :

III.3.1-Dèfinition :

- ✓ Une bactérie est dite résistanteà un antibiotique donné quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration de cet antibiotique notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres bactéries de la même espèce **(Carl, 2009).**
- ✓ Une bactérie est considérée comme résistante a un antibiotiquequand la concentration de cet antibiotique au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou de la tuer (**Poole. 2004 ; Schwarz et Chaslus-Dancla. 2001)**

III.3.2- Types de rèsistances : Il existe deux grands types de résistance aux antibiotiques, la résistance -naturelles et la résistance acquise:

- **Rèsistances naturelles :**La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est commune à toutes les bactéries d'une même espèce ,Ce type de résistance détermine le phénotype sauvage d'une espèce vis-à-vis d'un antibiotique , bactérienne à un antibiotique. Elles sont dues soit à une absence de cible pour l'antibiotique soit à une imperméabilité de la paroi à cet antibiotique**. (Leclerc, 1981).**

Tableau N° 11 : Résistance naturelle chez les entérobactéries **(Sougakoff et Trystram, 2003, CA-SFM, 2010).**

Espèces	AM	AMC	TIC/PIP	C1G	FOX	CTT	MA	CXM
Klebsiella sp	R		R					
C. koseri	R		R					
C. freundii	R	R		R	R	R		
E. cloacae	R	R		R	R	R		
E. aerogenes	R	R		R	R	R		
S. marcescens	R	R		R	R		R	R
P. mirabilis								
P. vulgaris	R			R			R	R
M. morganii	R	R		R	R		R	R
Y. enterocolitica	R	R	R	R	R		R	R

R : résistance naturelle ; AM : aminopénicillines ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; TIC : ticarcilline ; PIP : pipéracilline ; C1G : céphalosporines de 1ère génération ; FOX: céfoxitine ; CTT : céfotétan ; MA : céfamandole ; CXM : céfuroxime .

- **Rèsistances acquise :**La résistance acquise correspond à la résistance à un antibiotique donné pour une souche bactérienne appartenant à une espèce naturellement sensible au même antibiotique.Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme .On parle de transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation. **(Sylvie-Carle, 2009).**

- **Rèsistances par mutation chromosomiques :** La résistance par mutation est peu répandueen clinique (moins de 20% des résistances acquises).

  Les résistances mutationnelles sont :
  - Spontanées : elles préexistent à l'utilisation de l'antibiotique ;
  - Stables : elles se transmettent verticalement dans le clone bactérien ;
  - Spécifiques : elles n'intéressent qu'un antibiotique ou qu'une seule famille d'antibiotiques ;
  - rares : le taux de mutation se situe habituellement entre 10^{-7} et 10^{-8} **(Leclerc et al., 1995).**

- **Rèsistancrs extra-chromosomiques :** Les résistances extra-chromosomiques sont fréquentes (plus de 80% des résistances acquises), et contagieuses. Les supports de ces résistances peuvent être des plasmides qualifiés plasmides R (R : résistance) ou des transposons acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction. Ces résistances se transmettent horizontalement entre bactéries cohabitant, même d'espèces différentes **(Leclerc et al., 1995 ; Bathily, 2002).**

III.3.3- Mecanismes de rèsistanses bactérienne aut antibiotiques :

Les bactéries a gram nègatifont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant :

- La perte de porines, qui réduit le mouvement de l'antibiotique (ATB) à travers la membrane cellulaire ;
- La présence de β-lactamases dans l'espace périplasmique, ce qui dégrade les β- lactamines ;
- Une surexpression de la pompe d'efflux transmembranaire, ce qui expulse l'ATB à partir de la bactérie avant qu'il puisse avoir un effet ;
- La présence des enzymes de modification des antibiotiques, ce qui rend l'ATB incapable d'interagir avec sa cible ;
- Des mutations de la cible, qui empêchent l'ATB de se lier à son site d'action
- Des mutations ou des modifications ribosomales qui empêchent l'ATB de se lier et
- d'inhiber la synthèse des protéines ;
- Des mécanismes de contournement métabolique, qui utilisent une enzyme alternative
- résistante pour contourner l'effet inhibiteur de l'antibiotique ;
- Une mutation dans le lipopolysaccharide (LPS), qui rend la classe des polymyxines
- incapable de se lier à cette cible **(Peleg et Hooper, 2010).**

III .4- Mécanismes de rèsistances aux beta lactamines :

- De manière générale, les entérobactéries utilisent Quatre principau mécanismes pour développer une résistance aux β-lactamines , l'imperméabilité, l'inactivation enzymatique par les β-lactamases, la diminution de l'affinité des cibles aux antibiotiques et le mécanisme d'efflux. **(Vora et Auckenthaler. 2009).**

Diminution de la permèabilitè :C'est à travers les porines qui sont des canneauxproteiques, que s'effectue la pénétration des B-lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe remplis d'eau.

Ainsi ,la sensibilité aux B-lactamines est liée au nombre de porines fonctionnelles. L'origine de résistances obtenues aux B-lactamines est dus à l'alteration des porines par mutation,

-soit par une modification structurale d'une porine essentielle

-soit plus souvant par une diminitionquantitave d es porines. (KUMAR et SCHWEIZER.2005)

Hyperproduction de système d'efflux : Chez les entérobactéries, les systèmes d'efflux sont constitués de trois protéines:

_ Une insérée dans la membrane cytoplasmique, ayant un role de pompe.

_Une seconde, insérée dans la membrane externe, assurant le passage ou la pénétration.

_Une troisieme, périplasmique qui formerait un lien entre la pompe et la porine.

Ces systèmes sont en fait des pompes assurant l'expulsion active des produits du métabolisme ou de toxiques, comme les antibiotiques.

En cas d'hyperexpression, ces systèmes, comme celui correspondant aux **gènes marRAB chez E.coli**, entraînent une **résistance généralement à bas niveau** et croisée à différentes familles d'antibiotiques comme les ß-lactamines, les quinolones, le chloramphenicol et les tétracyclines.
https://microbiologie-clinique.com/Enterobacteries-resistance-beta-lactamines.html

- **Modification des PLP :** La **résistance aux β-lactamines** suite à une **modification des PLP** n'a été que rarement démontrée chez les **entérobactéries**. Elle peut résulter soit de:

- La perte d'affinité des PLP pour les β-lactamines par mutation ; anonyme 5
- L'acquisition de gènes ou fragments de gènes codant pour les PLP d'affinité diminuée ;

- L'hyperproduction de PLP normales.

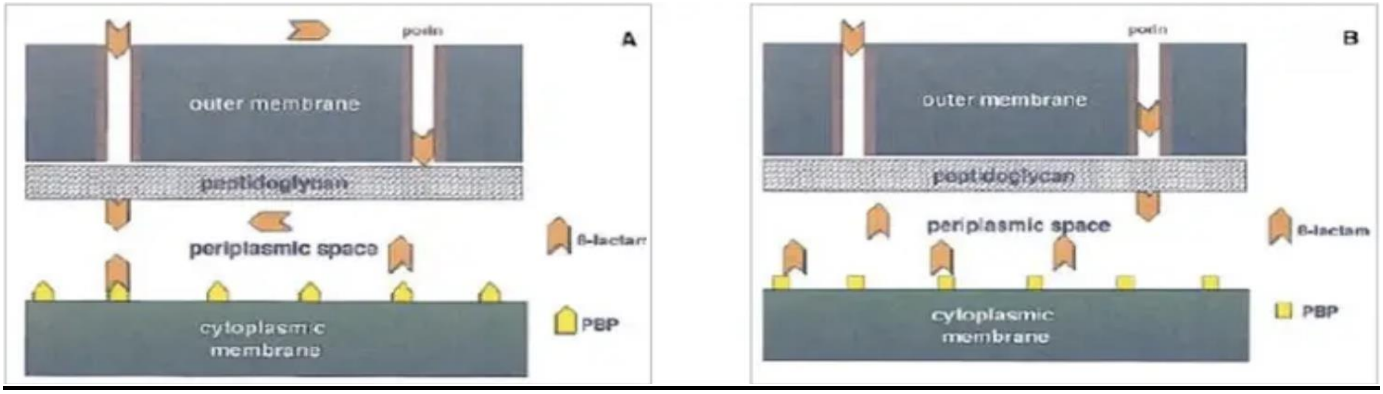


Figure 11: Les β-lactamines traversent la membrane externe à travers les porines pour atteindre leurs cibles: les PBP (PLP) [A] La résistance survient suite à une modification de la cible [B]

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

III.4- Rèsistance des entèrobactèries aux antibiotiques :

III .4.1-Entèrobactèries et beta lactamines :

- **Rèsistance naturelle ou phènotypes (sauvages) :**les entérobactéries sont naturellement résistantes aux pénicillines G et M. Elles sont divisées en 6 groupes suivant leur comportement par rapport aux ß-lactamines (**Zogheibe et Dupont,2005) .**

- **Groupe 0 : Phénotype « sensible » d'espèces dépourvues de gènes de β-lactamases :**Salmonella spp et Proteus mirabilis sont dépourvus de β-lactamase à l'état « sauvage » et sont naturellement sensibles aux amino-pénicillines, carboxypénicillines, uréido-pénicillines, à l'aztréonam, aux céphalosporines et aux carbapénèmes (**Bonnet, 2006).**
- **Groupe 1 : Phénotype « sensible » d'espèces produisant naturellement une céphalosporinase de classe C :**chez les souches sauvages d'Escherichia coli et Shigella spp on trouve la beta lactamase de classe C constitutive a bas niveau ,ne peu avoir de rèsistance qu'aux beta lactamines,ayant une faible pènètration dans l'espace périplasmique (benzylpénicilline, cefsulodine) **(Gautier, 2007).**
- **Groupe 2 : Phénotype « pénicillinase de bas niveau** » :Ce phénotype, observé chez Klebsiella (K.pneumoniae, K.oxytoca), Citrobacter koseri (C.diversus), Citrobacter

amalonaticus et Escherichia hermannii ,se caractérise par la résistance à bas niveau de ces espèces à l'amoxicilline et à la ticarcilline, par la sensibilité à la céfalotine, au céfotaxime et aux autres β-lactamines **(Vedel, 1998).**

- **Groupe 3 : Phénotype « céphalosporinase de bas niveau »**

  Des espèces comme Enterobacter cloacae, Enterobacter aerogenes, Citrobacter freundii, Morganella morganii, Serratia marcescens, Hafniaalvei, Yersinia enterocolitica, Providencia stuartiiet Providencia rettgeri possèdent une céphalosporinase inductible, leur conférant une résistance aux amino-pénicillines, aux céphalosporines de 1ere génération et à l'action de l'acide clavulanique. Ce caractère inductible est détecté dans l'antibiogramme en milieu gélosé par un antagonisme ("écrasement" du diamètre d'inhibition) entre une β-lactamine inductrice (imipénème, céfoxitine) et une céphalosporine de 3eme génération. Ce 19

  type d'expression est le fait d'un mécanisme complexe faisant intervenir plusieurs gènes régulateurs (ampR, ampD, et ampG) (Philippon et Arlet, 2006).

- **Groupe 4 : Yersinia enterocolitica et Serratiafonticola**

  Elles sont résistantes aux amino-pénicillines, uréido-pénicillines, carboxypénicillines et aux céphalosporines de 1ere génération par l'action associée d'une pénicillinase et d'une céphalosporinase naturelle produite à bas niveau (Zomahoun, 2004).

- **Groupe 5 : Phénotype « céfuroximase »**

  Proteus vulgaris et Proteus penneri possèdent une β-lactamase particulière par fois dénommée "céfuroximase" qui rend ces espèces résistantes aux pénicillines du groupe A et aux céphalosporines de 1ere et 2eme générations (à l'exception des céphamycines comme la céfoxitine) mais dont l'activité enzymatiques et inhibe par l'action d'acide clavulanique **(Denis et Ploy, 2007).**

- **Groupe 6 : Phénotype « β-lactamase à spectre étendu chromosomique »**

  Les entérobactéries d'isolement très rare tell que Kluyvera montrant un phénotype de résistance inhabituel "pénicillinase de bas niveau". Ce phénotype est nettement à distinguer de celui "pénicillinase de bas niveau" (Philippon, 2005). Il s'agit une BLSE naturelle exprimé à bas niveau (Denis et Ploy, 2007). Après clonage du gènecorres pondant (KLUA-1) dans une souche réceptrice d'E.coli, a été identifié, par la suite, un des progénitures de BLSE

  plasmidiques de type CTX-M (**Philippon, 2005).**

➢ **Résistance acquise :**

Nous avons identifié 6 phénotypes qui sont : - phénotype sensibles (P.S.).

Les souches de ce phénotype sont sensibles aux bêta-lactamines. Il s'agit des entérobactéries du groupe 1.

- phénotype pénicillinase de bas niveau (P.B.N.).

Les souches sont résistantes à l'amoxicilline et sensibles à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la céfalotine et à la ceftriaxone.

- phénotype pénicillinase haut niveau (P.H.N.).

20

Les souches sont résistantes à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la céfalotine mais sont sensibles à la ceftriaxone.

- phénotype pénicillinase résistante aux inhibiteurs des bêta-lactamases (T.R.I.). Les souches sont résistantes à l'amoxicilline, l'association amoxicilline + acide clavulanique mais sont sensibles à la céfalotine et à la ceftriaxone.

- Phénotype céphalosporinase inductible (C.Ind.).

Les souches de ce phénotype sont résistantes à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la céfalotine mais sont sensibles à la ceftriaxone et à la ticarcilline.

- phénotype céphalosporinase déprimée (C.D.).

Les souches sont résistantes à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la ticarcilline, à la céfalotine et à la ceftriaxone mais elles sont sensibles au mécillinam.

- phénotype bêta-lactamase à spectre élargi (B.L.S.E.)

Les souches de ce phénotype sont résistantes à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la céfalotine et à la ceftriaxone (**Ketta, 1998).**

I-Lesβ-lactamases des bacilles à gram nègatif

1- Dèfinition :

Les β-lactamases ont été reconnues pour la première fois par Abraham et Chainen 1940 ; Ils ont découvert une enzyme capable de prévenir l'action de la pénicilline chez Escherichia coli et ils l'ont a appelée pénicillinase.**(Abraham et Chain. 1940)**

Chez les Entèrobactèries le principal mècanisme de rèsistance aux β-lactamines est la production de β-lactamases. **(Livermore. 2003).**

Les β-lactamases sont des enzymes d'inactivation appartenant à la grande famille des hydrolases d'amides cycliques **(De Wals, 2007)** ; qui hydrolysent le pont amide ducycle β-lactames pour produireun acyl-enzyme qui sera alors dècomposèe en acide inactif. **(Souna, 2011).**

2- Source et localisation :

La localisation de ces enzymes est périplasmique (liée à la paroi) chez celles à Gram-négatif ou exocellulaire chez les espèces à Gram-positif (S.aureus, Bacillus) .

Leurs sources se diffèrent dèpend de la nature des bactèries productrices.

les Bêta-lactamases de classe A des bactéries à Gram négatif sont intracellulaires, plus prècisèment périplasmique et produites en moyenne, Une centaine de fois moins que chez les bactèrie à gram positif. Alors que chez les bactèries à gram positif qui se retrouvent à l'extèrieure de la cellule ; une partie étant liée à la membrane cytoplasmique par l'intermédiaire d'une liaison glycéride thioéther analogue à celle de la lipoprotéine de la membrane externe, cette liaison est inhibée par la globomicyne qui favorise donc la libération de ces enzymes dans le milieu extérieur.**(Philippon et al., 1986).**

Pour ce qui est du support gènètique de β-lactamases, Il peut etre :

- **Chromosomique :** elles sont alors soit constitutives, c'est-à-dire que le génome bactérien possède naturellement le gène d'expression de l'enzyme, soit inductibles ; l'expression du gène dépend alors de la présence ou non d'un inducteur dans le milieu (imipénème, céfoxitine, acide clavulanique…).
- **Plasmidique :** ce support de résistance a la possibilité d'être transmis à d'autres bactéries de façon stable.
- **Intégrons** : lié à l'intégration d'un transposon dans le génome bactérien qui est capable de promouvoir sa translocation d'un réplicon sur un autre ou en un autre site **(Barrial et al., 2006).**

3- Mode d'action des β-lactamases

Les β-lactamases ont une structure qui ressemble à celles des enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane de la bactérie. Le mode d'action des β-lactamases sur une bactérie sensible consiste à provoquer une erreur des peptidases qui conduit à un défaut de synthèse du peptidoglycane. Afin d'éviter que les peptidases ne se «trompent », la bactérie synthétise une β-lactamases qui hydrolysent le cycle β-lactame (**Figure 01**). Son ouverture empêchera sa

reconnaissance par la peptidase c'est pourqoi la synthèse du peptidoglycane est possible: la multiplication bactérienne n'est pas affectée **(Lavigne et al., 2002).**

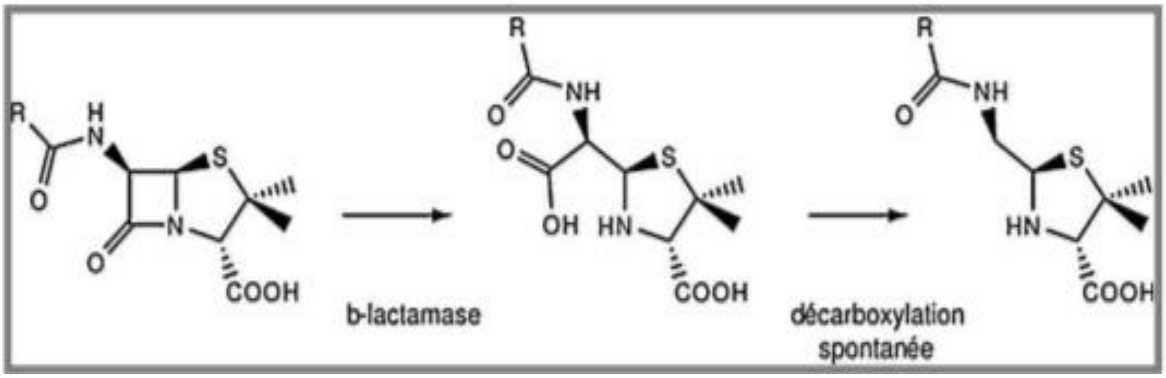


Figure 12: Mécanisme d'hydrolyse d'uneβ-lactamine par une β -lactamase (Ruppé, 2010)

4- Classification des β-lactamases :

De nombreuses classifications existent, qui prennent comme critères : le phénotype, la nature du site actif, la séquence d'acide aminé, les caractéristiques physiques et l'origine **(Vidon et Bourdin, 2005).**

Mais les deux classification des β-lactamasesles plus utilisès actuellement sont :

- **La classification de Bush:** En 1995 Bush-Jacoby-Medeiros a présenté le dernier système de classification qui repose selon les propriétés fonctionnelles de l'enzyme définies par son substrat préférentiel et son profil d'hydrolyse et qui ont ètèdèvisèsur quatre groupes (1-4) et sous-groupes (A à F) **(Shah et al., 2004).**
- **Classification d'Ambler :** En1980 Ambler a dèvisè les β-lactamases en quatre groupes (de A à D). Cette classification moléculaire, impliquant la connaissance de la structure primaire des enzymes ,plus prècisement elle repose sur la similarité des séquences entre les différents membres des β-lactamases. De plus, elle reflète les relations fondamentales de chaque β-lactamase et ne change pas à cause des mutations.**(Lagha, 2015).**
- **Les β-lactamases de classe A :** Sont les plus diversifiées, d'origine chromosomique ou plasmidique se caractérisent par leur capacité à hydrolyser l'amide cyclique lié à la molécule de β-lactame.on y retrouve les pénicillinases des bactéries à Gram positif, les β-lactamases plasmidiques à large spectre qui hydrolysent les céphalosporines avec autant d'efficacité que les pénicillines, les β-lactamases à spectre élargi qui hydrolysent les C3G et les monobactames.
  les β-lactamases de classe A sont généralement sujettes a l'inhibition par les inhibiteurs de β-lactamases((acide clavulanique, sulbactame et tazobactame)**(Doi et al, 2004).**

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

  L'importance clinique des métallo-bêta-lactamases est liée au fait qu'elles hydrolysent les carbapenèmes, composés qui échappent à l'activité des bêta-lactamases à sérine active. La plupart des métallo-bêta-lactamases hydrolysent une variété de pénicillines et de céphalosporines, et sont insensibles aux inhibiteurs suicides classiques (acide clavulanique, sulbactame, tazobactame). A partir de la séquence des enzymes, cette classe est subdivisée en trois sous classes, B1, B2, et B3 **(Galleni et al, 2001).**
- **Les β-lactamases de classe C :** ont longtemps été ubiquitaires aux chromosomes de différentes espèces bactériennes entériques **(Jaurin et Grundstrom. 1981).**

  On retrouve les céphalosporinases(AmpC) qui sont des enzymes résistantes à l'action de l'acide clavulanique et le sulbactame ; toutefois certaines sont faiblement inhibées par le tazobactame **(Doi et al., 2004).**

  Leur hyperproduction est associée au phénotype de multirésistance observé chez certains Bacilles a gram nègatiftelles que Citrobacterfreundii, Serratiamarcescens et Enterobacter spp. Au départ à médiation chromosomique, les β- lactamases de la classe C sont aussi aujourd'hui à médiation plasmidique **(Philippon et al.,2002).**
- **Les β-lactamases de classe D :** se distinguent par leur capacité à hydrolyser les pénicillines isoxazolyl (oxacilline) et la méthicilline, et qui sont faiblement inhibées par l'acide clavulaniquemais sont bien inhibées par le tazobactame**(Livermore, 1995).**

  Elles sont retrouvées fréquemment chez Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter spp. (OXA-11, 14, 16, 17 et 19) et peu chez les entérobactéries **(Paterson et Bonomo. 2005).**

Bush-Jacoby-Medeiros Group	Molecular class (Ambler)	Preferred substrates	Representative enzymes	Resistance or susceptibility to β-lactamase inhibitors
1	C	Cephalosporins	AmpC	Resistant
2b	A	Penicillins, Cephalosporins	TEM, SHV	Susceptible
2be	A	Penicillins, extended-spectrum cephalosporins, monobactams	TEM, SHV	Susceptible
2d	D	Penicillins, cloxacillin	OXA	Resistant
2e	A	Cephalosporins	Inducible cephalosporinases from *Proteus vulgaris*	Susceptible
2f	A	Penicillins, cephalosporins, carbapenems	NMC-A from *Enterobacter cloacae*	Resistant
3	B	Most β-lactams including carbapenems	L1 from *Stenotrophomonas maltophilia*	Resistant

Tableau 12: Classification des β-lactamases selon Bush et al.- (Bush K et al ; 1995)

II- Bêta-lactamase à spectre élargie (BLSE)

Les BLSE ont été décrites pour la première fois en 1983, en Allemagne **(Knothe et al. 1983).** Sont des enzymes qui appartenant à la classe A ou D (des BLSE de type OXA)de la classification d'Ambler présentant une affinité augmentée pour diverses β-lactamines , capables d'hydrolyser les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (céfépime ou cefpirome) et les monobactames (aztréonam).

Les souches d'entérobactéries productrices de BLSE restent généralement sensibles aux céphamycines (céfoxitine, céfotétan) et aux carbapénèmes (imipénème, ertapénème) et sont inhibées par les inhibiteurs de β-lactamases, comme l'acide clavulanique.**(Livermore. 1995)**.Les bactéries possédant des BLSE sont dites multirésistantes **(Paterson et Bonomo. 2005).**

II-1- Mècanisme d'action des beta-lactamases a spectre èlargie :

Chez les Enterobacteries, le principal mécanisme de résistance aux β-lactamines estInactivation enzymatique par production de β-lactamases, notamment de β-lactamases à spectre étendu. Ce dernier est une enzyme inactivante dont le substrat estß-lactame. Ils sont capables d'ouvrir le cycle

β-lactame en générant un intermédiaire acylase instable, ce qui conduit finalement à la perte du groupe carboxyle conduisant à l'inactivation de l'antibiotique.**(David M Livermore 2003)** .

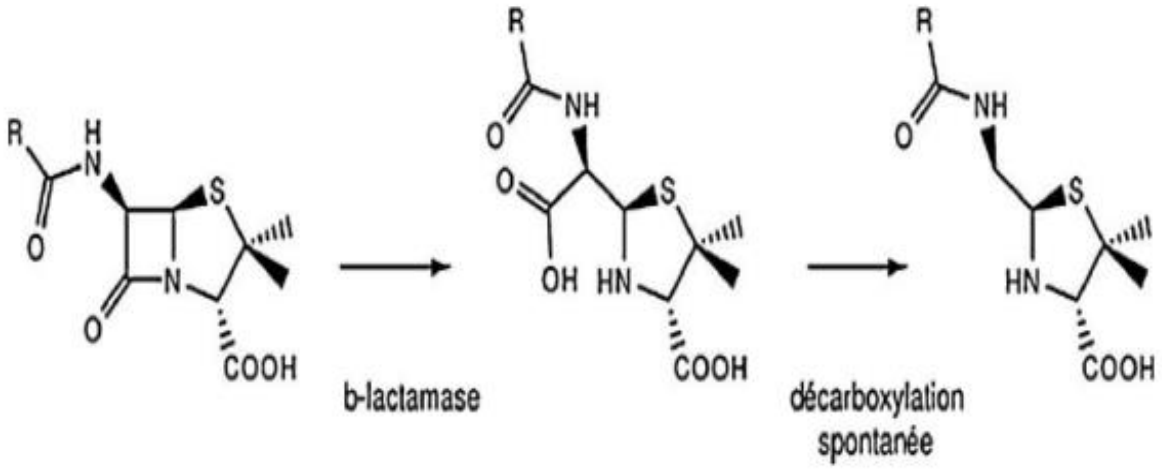


Figure 13 :Mécanisme d'hydrolyse d'une β-lactamine par une β-lactamase (David M Livermore 2003)

II-2- Dènomination des Beta-lactamase a spectre èlargi :

Compte tenu de la diversité accrue des β-lactamases, le choix d'unAppellation communément acceptée par les microbiologistes et comprise par les cliniciens pour éviter toute confusion et assurer une meilleure prise en charge des patients infectés par des bactéries productrices de ß-lactamases à spectre étendu.Elle peut être en fonction du découvreur, du nom du malade, du pays, etc(Tableau 1).

Tableau 13 : Exemples de dènomination de certaines BLSE

Nom de l'Enzyme	
	Dècouvreur
PIT-1 Et PIT-2	Pitton
HMS	Hedges-Matthew-Sykes
NORA	Nordmann
	Pays, ville ou hopital
SAR	South africa

VEB-1	Vietnam Extended spectrum β-lactamase
RHH	Royal Hallamshire Hospital
MGH-1	Massachusetts General Hospital
DHA-1	Dharan hospital
BEL-1	Belgique (2004)
BES-1	Brésil (1996)
	Espèce bactèrienne
PSE	Pseudomonas specific enzyme
MAL	Levineamalonatica
FEC	Fecal Escherichia Coli
PER-1	Pseudomonaaeruginosa
OXY	Klebseillaoxycata
MOR	Morganellamorganii

II-3- Les diffèrentes types de BLSE :

Les premiers type de BLSE, dérivés par mutation ponctuelle d'une β-lactamase de type TEM ou SHV-1 (β-lactamases à spectre étroit), a été initialement décrit chez Klebsiella pneumoniae (TEM3, SHV 2). Plus de 300 BLSE ont été décrites à ce jour (http://lahey.org/Studies/)

Ils sont classées selon leurs types moléculaires Ils se caractérisent par une grande variété, mais il existe trois types principaux : TEM, SHV et CTX-M.**(C. Doit ; et al .2010)**

- **BLSE de type TEM (Temoneira - nom du patient) :**

Le premier plasmide β-lactamase de type TEM (TEM-1) a été isolé en 1965 en Grèce à partir d'une souche d'E. coli.E. coli a été isolé chez un patient nommé Temoneira, d'où le nom **(Datta et Kontomichalou. 1965).**

De nombreux mutants (plus de 190) de TEM-1 et 2 ont été identifiés avec le phénotype, Les BLSE, ce type se retrouvent principalement chez les Klebsiella pneumoniae et Escherichia coli,

mais elles peuvent également être retrouvées chez certaines Enterobacteries (Enterobacter cloacae, Proteus mirabilis) et Pseudomonas aeruginosa. (http://lahey.org/Studies/)

Certains mutants TEM-1 ne sont pas des BLSE mais présentsSensibilité réduite aux inhibiteurs de la bêta-lactamase (tels que l'acide clavulanique). Nous discuterons ensuite de la bêta-lactamase résistante aux inhibiteurs (TRI) ou de la TEM résistante aux inhibiteurs (IRT) . **(Bradford PA ;2001).**

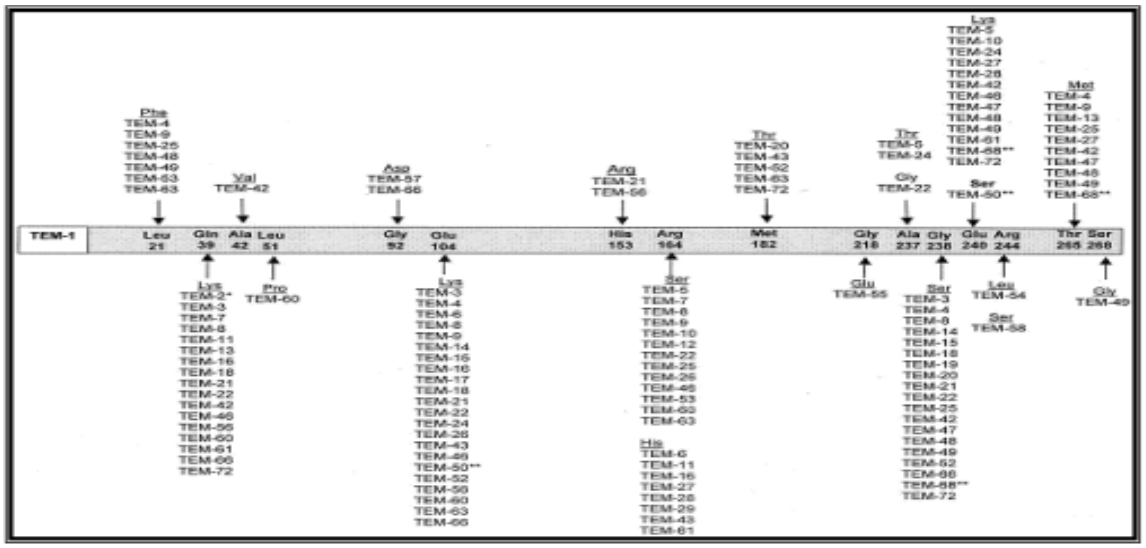


Figure N14 : Les BLSE dérivées de TEM (Ambler et al. 1991).

- **BLSE de type sulfihydroxyl variable SHV :**

  La plupart des dérivés du SHV-1 (Figure 4) (plus de 160, www.lahey.org/Studies/)ont Phénotype BLSE, une enzyme chromosomique codée par le gène blaSHV chez Klebsiella pneumoniae. Le nom (SHV) est lié au groupe thiol variable car l'inhibition de l'activité SHV par le p-chlorobenzoate mercurique varie en fonction du substrat utilisé.

  Les BLSE SHV-2, SHV-5 et SHV-12 sont les mutants les plus courants. Ces BLSE ont étéDétecté chez de nombreuses Enterobacteries, mais aussi Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter**.(Philippon ;2013)**

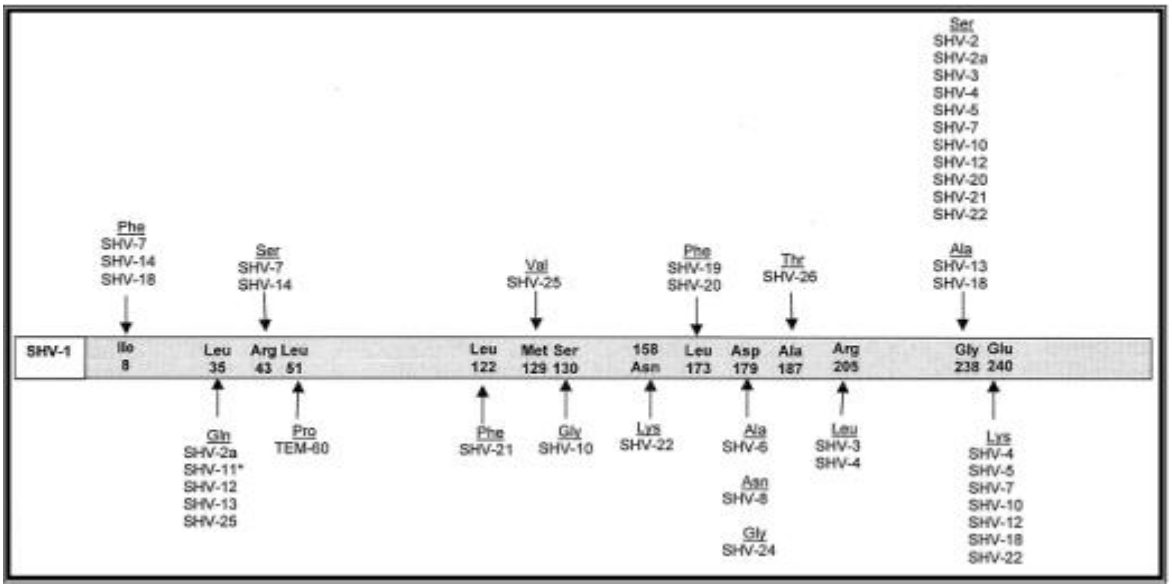


Figure N°15 : Les BLSE dérivées de SHV (Bradford. 1999).

- **BLSE de type CTX-M (CEFOTAXIMASE-MUNICH) :**

  Les BLSE de type CTX-M ont été décrites initialement en 1986 (FEC-1) au Japon, Allemagne et France en 1989 (CTXM-1).**(Thomson et Moland. 2000).**

  Aujourd'hui CTX-M est la BLSE la plus couramment isolée dans le monde, en particulier CTX M-15, d'autre part, les dérivés de BLSE de type CTX-M trouvés chez les Enterobacteriesβ-lactamases chromosomiques des espèces du genre Kluyvera**(D. Vodovaret al ;2013)**

  Plus de 110 variants ont été décrits et répartis en 6 groupes (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 , CTX-M 25, CTX-M-45)

  (http://www.lahey.org/Studies/)

  Ce sont des β-lactamases de classe A d'Ambler non TEM et non SHV

  Leur nom vient de l'hydrolyse préférentielle de la céfotaxime par rapport à la ceftazidime("CTX") et "M" pour leur lieu d'isolement (Munich)- **(Cantón R ; et al ;2006)**

  CTX-M-3 et CTX-M-15 ont été rapportées pour la première fois en Algérie par Touati et al, en 2006 chez les souches E. coli, Enterobacter cloacae et K. pneumoniae isolées dans les hôpitaux de Béjaia**(Touati et al., 2006).**

  Phylogénétique de nombreux dérivés de CTX-M et de leurs séquences acidesLes amines ont montré une agrégation au sein de cinq groupes (Figure N05) **(Bonnet R ;2004)**

  - Le groupe CTX-M-1 compte notamment les CTX-M-1, CTXM-3, CTX-M-10 et CTXM-15.

- Le groupe CTX-M-2 comporte les CTX-M-2, CTX-M-4, CTX-M-5, CTX-M-6, CTX-M-7 et TOHO1.
- Le groupe CTX-M-8 comporte CTX-M-8 et CTX-M-40.
- Le groupe CTX-M-9 comporte CTX-M-9, CTX-M-13, CTX-M-14, CTX-M-17, CTXM-19, CTX-M-21, CTX-M-27 et TOHO-2.
- Enfin le groupe 25 comporte CTX-M-25, CTX-M-26, CTX-M-41 et CTX-M-55.

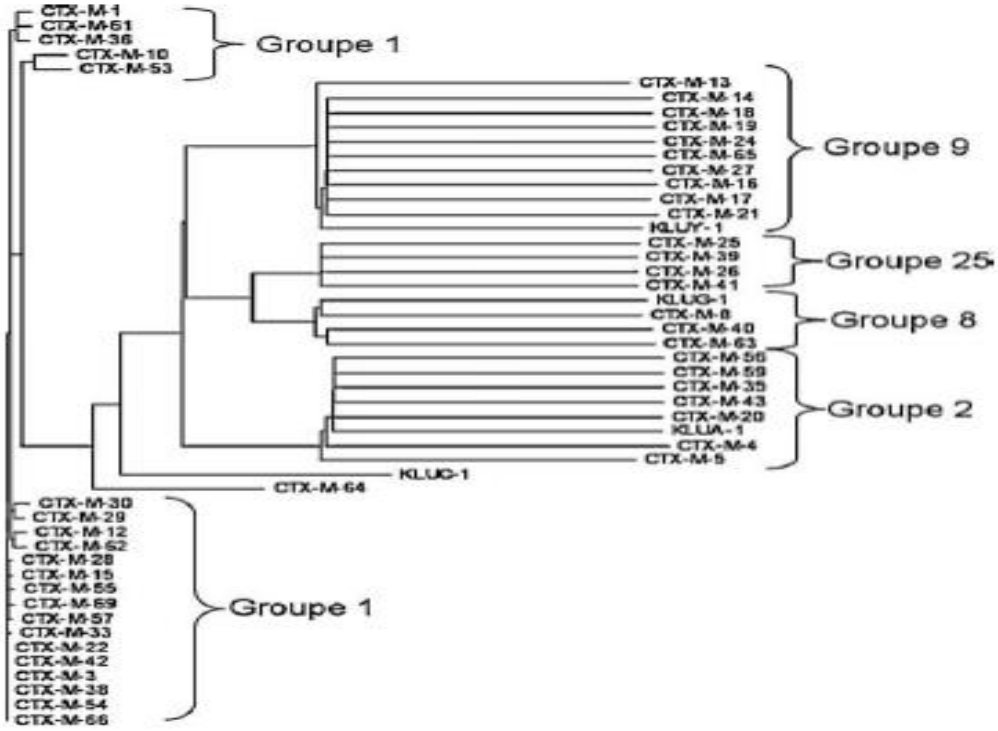


Figure N 16: **Phylogénie des β-lactamases chromosomiques de Klutverasp. Et des CTX-M (Bonnet R ;2004)**

I. Objectifs de travail :

✓ **Objectif général :**

L'objectif principal de ce travail est d'établir la prévalence des souches d'entérobactéries multirésistantes auxantibiotiques incriminées dans le cadre des infections urinaires diagnostiquées au niveau de l'établissement hospitalier de Médéa Mohamed Boudiaf,

✓ **Objectif spécifiques :**

- L'identification de principales espèces d'entérobactéries responsables des infections urinaires généralisées chez les patients hospitalisésdans l'EPH Mohamed Boudiaf.

- L'évaluation de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des prélèvements urinaire au niveau du de plusieurs services médicale de l'hôpital Mohamed Boudia.

-La détermination des mécanismes de résistance aux β-lactamines par la détection phénotypique de la production des bétalactamase à spectre étendu (BLSE), desCéphalosporinase à haut niveau (CHN) et des Carbapénèmases (CP).

- la détermination de principaux phénomènes de co-résistances associées aux entérobactéries productrices debéta-lactamases isolées dans la région de Médéa.

II. Cadre d'étude

✓ **Lieu d'étude :**

Ce travail a pour cadre d'étude, le laboratoire de microbiologie del'établissement hospitalier de Médéa Mohamed Boudiaf.

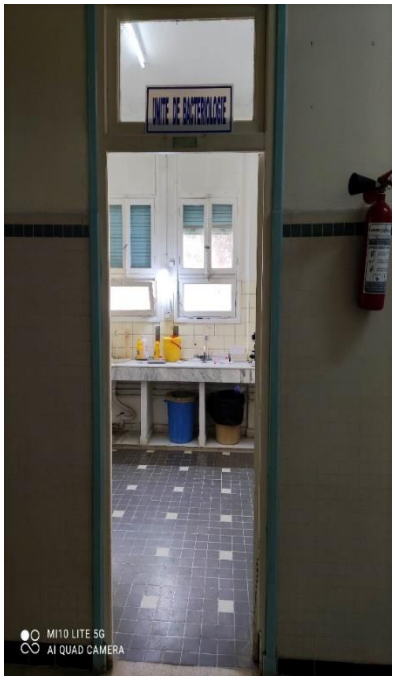


Figure 17 : L'Unitè de Bactèriologie



Figure 18 : Lètablissement hospitalier Mohamed Boudiaf Mèdèa

L'Hôpital Mohamed Boudiafest composé de différents services :

- Réanimation
- Chirurgie homme (CH)
- Chirurgie femme (CF)
- Chirurgie infentiles (CCI)
- Pèdiatrie (PED)
- Mèdcine femme (MF)
- Mèdcine homme (MH)
- Oncologie (ONCO)
- Gynècologue (GYN)
- Hèmo-dialyse (HD)
- Hospitalisation à domicile (HAD)
- Infectieux (INF)
- Matèrnitè (MAT)
- Nèonatale (NNT)
- Urgence mèdicale (UMC)
- Bloc opèratoire (PO)
- Phtisiologie mèdicale (PHT)

Le laboratoire de microbiologie reçoit les prélèvements des différents services précédemmentcités ainsi que des services situés dans d'autres établissements.



Figure 19 : Les services au niveau de l'ètablissement hospitalier de Mèdèa

- ✓ **Durée d'étude :**

  Notre travail a été effectuée dans la période comprise entre le 26 Mars 2023 jusqu'à le 27 Avril 2023, dont on a réalisé une étude prospective portant sur les prélèvements envoyés au laboratoire bactèriologique de l'ètablissement public hospitaliers (EPH) Mohamed Boudiaf à Mèdèa en vue d'un diagnostic cytobactériologique d'une infection urinaire.

III. Matériels et méthodes :

III.1- Matériels :

III.1.1-Souches bactériennes étudiées :

Les èchantillons qui sont des bacilles à gram nègatives provenant deprélèvements urinaires des malades hospitalisés dans l'EPH Mohamed Boudiaf ou des patients externe.

III.1.1.1- Critères d'inclusion et d'exclusion :

✓Critères d'inclusion :

- Ont été inclus dans cette étude toutes les bactéries provenant des ECBU a visé diagnostique obéissant aux critères de positivité suivants :

- Bactériurie supérieure ou égale à 10^5 UFC/ml ou une bactériurie plus faible (10^3 ou 10^4 UFC/ml) en présence d'une leucocyturie supérieure ou égale à 10^4 éléments/ml.
- Les bactéries multirésistantes aux antibiotiques isolées à partir prélèvements urinaires a visé diagnostic, provenant des malades hospitalisés dans les différents services, et des malades consultants au niveau de l'Hôpital, et ceci dans la période comprise entre 1er avril 2020 au 27février2023. Ces bactéries appartenant aux catégories suivantes : Entérobactéries BLSE et/ou CHN et Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (EPC).

✓Critères d'exclusion :

- Les doublons épidémiologiques des bactéries multirésistantes (doublons prélèvements) ont été dénombrés et exclus des résultats.
- Les bactéries multirésistantes issues des prélèvements contaminés ou présentant une numération insuffisante.

III.1.2-Autre matériel :

A- Appareillage :

- Microscope (Biobase)
- Bec bensen
- Agitateur (Kartel)
- Etuve (Memmert)
- L'hote (BERNER FlowSafe)
- Balance analytique (KERNEW)
- Rèfrigèrateur (ENIEM)
- Jarre d'incubation
- Pied a police



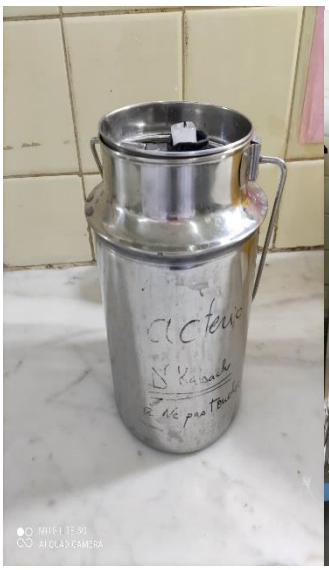
Microscope



Etuve



Rèfrigèrateur



Jarre d'incubation



Hote





Bec bensin **Agitateur**

Figure 20 : Le matèriels de laboratoire de bactèriologie

B - Verreries et petits marètiel :

- Les Pots stèriles
- Portoir des tubes
- L'anse de platine
- Les tubes en verre (grand format, petit format)
- Lame et lamelle
- Cellules Nagote
- Ecoveillons
- Pipettes pasteur
- Boites de pètri
- Pince
- Bèchers
- Spatules
- La poivre



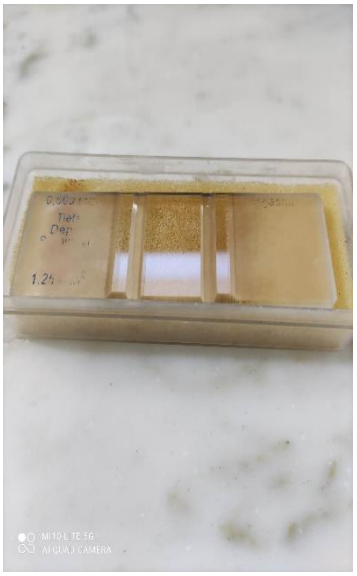
Une Pince



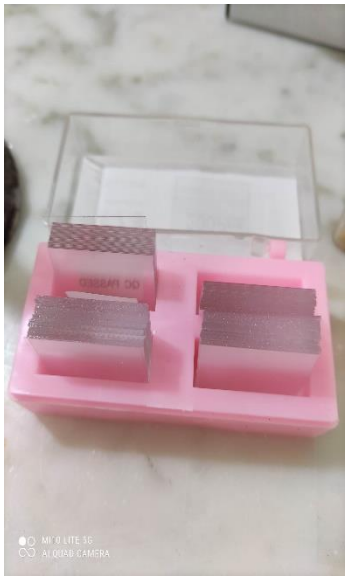
Ecouvillon



Tube en verre



Cellule Nageotte



Lamelle



Lame





Boites de Pètri **Pipette Pasteur** **Anse de platine**

Figure 21 : Les verreries et le petits matèriels de bactèriologie

C- Milieux de culture :

- **Milieux d'isolement des souches :**
  - Milieu de base : gélose nutritive (GN).
  - Milieux sélectifs : Milieu Hektoen, Milieu Mac-Conkey
- **Milieu pour l'antibiogramme :** Milieu Mueller- Hinton (MH).




Figure 22: Gèlose Hektoen **Figure 23 : Gèlose nutritive**

D- Rèactifs et produits chimiques :

<u>Pour le test biochimique</u> :

- Galerie API 20^{E}.
- Huile de vaseline.

- Réactifs : Réactif de TDA, Réactif de James ou kovacs (IND) etRéactif de VP1 puis VP2.



Figure 24 :Galerie API 20 E (photo originale)



Figure 25 : Huile de vaseline

Pour la coloration de gram :

- violet de gentiane
- Lugol.
- Alcool.
- Fushine.



Figure 26 :Les colorants utilisè dans la coloration de gram (photos originales)

E- Antibiotiques :

- Amoxicilline
- Amoxicilline+acide clavulanique
- Pipéracilline
- Ticarcilline
- Cephalexine
- Céfoxitine

- Ceftazidime
- Cefotaxime
- Aztréonam
- Imipénème
- Gentamycine
- Amikacine
- Ofloxacine
- Ciprofloxacine
- Cotrimoxazole

III.2-Methodes :

1.1.Etude rétrospective

Analyse statistique sur les données des souches enregistrées dans l'archive de laboratoire de microbiologie de l'hôpital entre une période allant du 1er avril 2020 au 27 février 2023.

1.2.Etude pratique

Le schéma général de diagnostic microbiologique d'une infection urinaire associé une étudede la cytologie des urines (J0) et une étude de la bactériurie quantitative après culture, et éventuellement de la sensibilité du germe isolé (J1 à J2), suivi par les tests complémentaires de l'antibiogramme (recherche des E-BLSE, E-CHN et E-CP) (J3) (Figure).

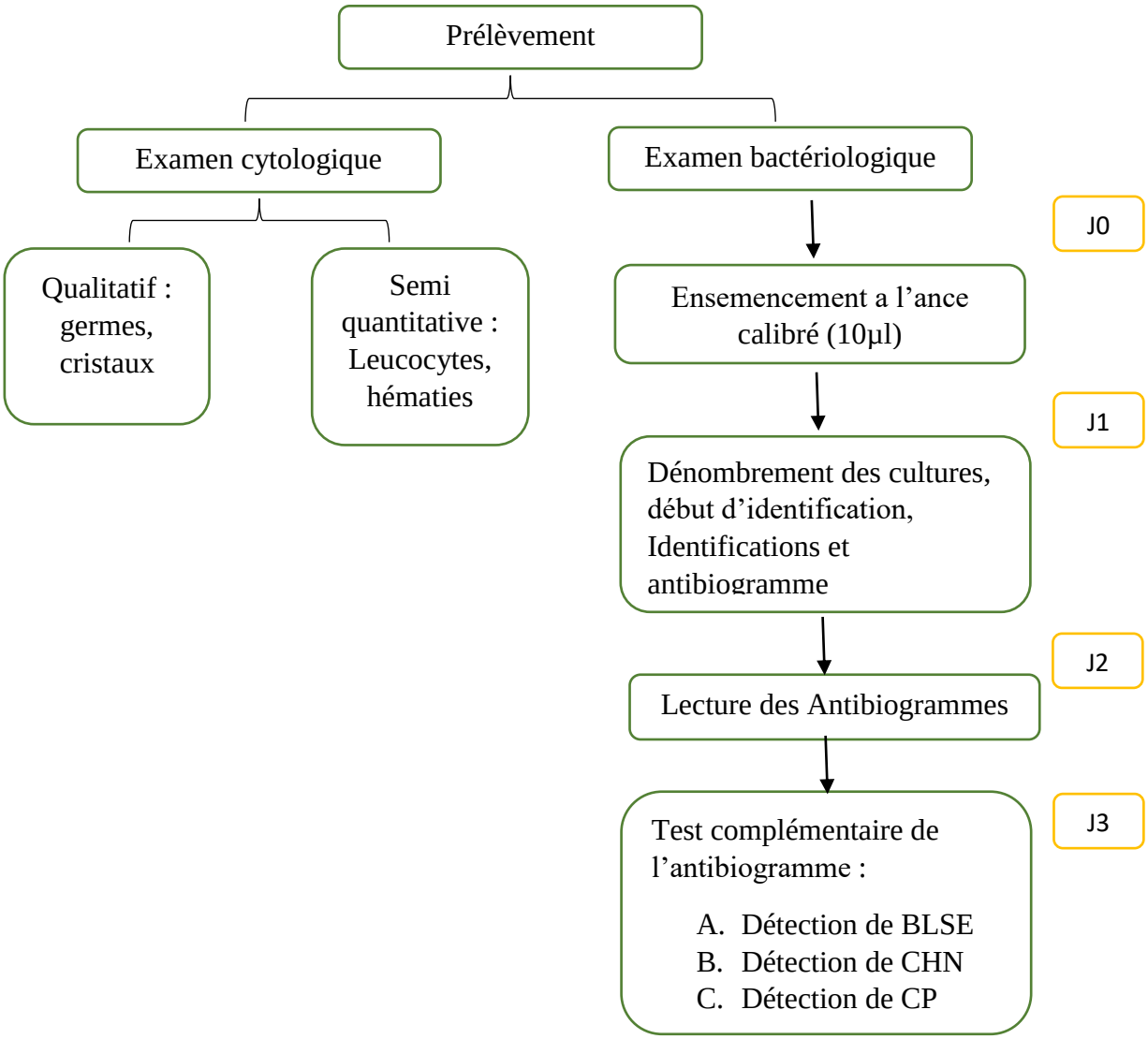


Figure 27 : schéma du protocole de recherche

1.2.1. L'examen cytobactériologique des urines :

1.2.1.1.Réalisation du prélèvement :

A. Chez les adultes

L'urine doit être recueillie dans un récipient stérile. Après lavage hygiénique des mains et toilette soigneuse au savon ou antiseptique doux de la région vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme suivi d'un rinçage, éliminer le premier jet (environ les 20premiers millilitres) d'urines pour ne recueillir dans le récipient stérile que les urines du deuxième jet en prenant soin de ne pas toucher les bords supérieurs du récipient **(Bouakkaz et Boucherbit, 2017).**

B. Chez les nouveaux nès :

Un collecteur stérile spécifique est utilisé. Ce dispositif à usage unique se pose après désinfection soigneuse du périnée. A la fin de la miction, le collecteur est ôté et fermé hermétiquement et porté au laboratoire dans une demi-heure, sinon il faut le placer dans le rèfrigèrateur **(Djennane et al., 2009).**

Chez le patient porteur d'une sonde urinaire :

Il ne faut en aucun cas prélever dans le sac collecteur, le recueil est effectué par ponction à l'aide d'une seringue dans la paroi de la sonde après désinfection. On distingue le sondage avec des systèmes ouverts qui sont de moins en moins utilisés et le sondage avec un système fermé est plus représentatif, car il s'oppose à la colonisation par les bactéries grâce aux valves anti retour **(Djennane et al., 2009).**

1.2.1.2.Réception des prélèvements :

Les prélèvements d'urines reçus au laboratoire sont faits par les patients eux-mêmes(prélèvement habituel en milieu de jet) ou par les cliniciens au niveau des différents services(prélèvement sur sondes, ponction sus-pubienne, etc.)Le transport vers le laboratoire doit se faire le plus tôt possible (moins de 2 *h*) et lesprélèvements doivent être accompagnés d'une fiche de renseignement bien remplie indiquant :nom, prénom, l'âge et les signes cliniques du malade ainsi que le service. Ces fiches sontattribuées d'un numéro d'ordre.

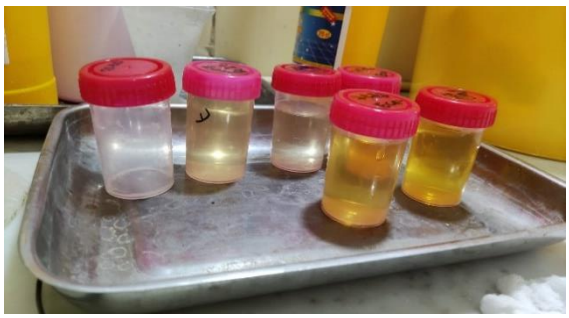


Figure 28 : Les prèlèvements des urines

1.2.2. Examen macroscopique :

Il faut noter l'aspect macroscopique des urines dès leur réception : clair, trouble, hématique,purulent.

1.2.3. Examen cytologique :

La cytologie des urines doit être réalisée après l'ensemencement pour éviter toute sorte de contamination liée à l'ouverture du tube.

L'examen microscopique des urines est l'examen classique et standard. Lorsque l'urine estfortement claire, on peut l'observer après centrifugation sur le culot ainsi obtenu remis ensuspension dans très peu d'urine ou de sérum physiologique ; mais très généralement l'examen sefera sur une goutte des urines totales homogénéisées.

L'étude cytologique, qui se fait à frais, entre lame et lamelle, permet de préciser les éléments nonsolubles présentant dans les urines : il faut signaler :

- la présence cellules épithéliales (Éléments nucléés grands, en forme de raquette)

- la présence de GR et des GB.

- la présence de bactéries (abondance, morphologie, agencement) et de levures.

- la présence de cristaux (oxalate de calcium ; acide urique ; urate ; leucine ; tyrosine ; sulfamides).

- la présence de cylindres (hyalins, hématiques, leucocytaires)

- la présence éventuelle de Trichomonas vaginalis.



Figure 29 : Une culture rèalisèe et obervèe sous microscope sur une cellule Nageotte .

1.2.4. Isolement des bactéries :

L'isolement se fait à partir des cultures positif (présente un trouble) l`ensemencement se fait à l`aide de l`anse de platine ou pipette pasteur selon la méthode de stries sur gélose Mac Conkey ou Hektoen. Les boites ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition des colonies.

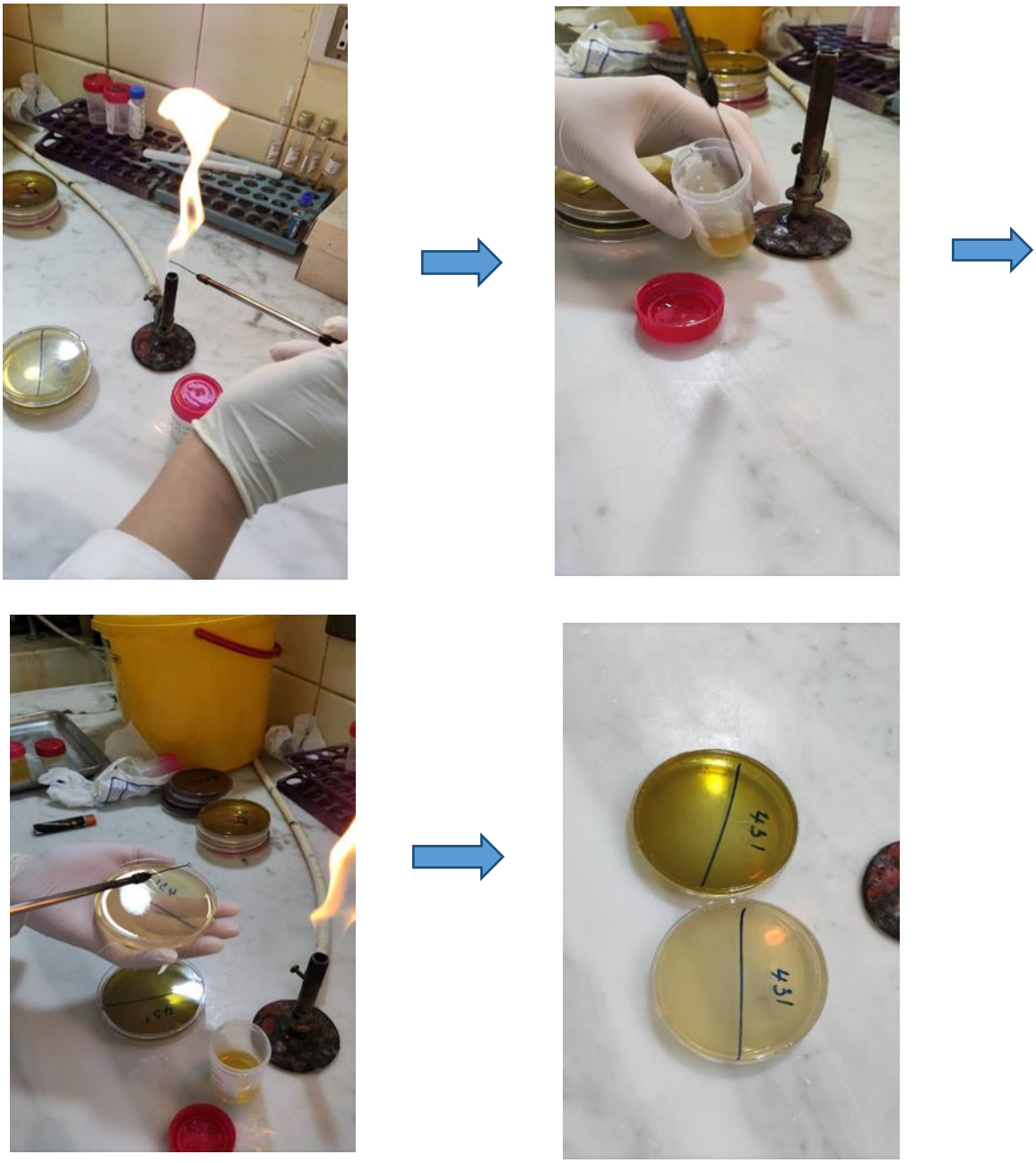


Figure 30 :Photo original de les ètapes de la mise en culture

Purification:

On procède à l`examen macroscopique de la culture A partir des colonies isolées sur MC ou Hecktoen en se basant sur les caractères culturaux des bactéries (forme de colonie, taille, aspect et la couleur) et examen microscopique par coloration de Gram , repérer les colonies suspectes et les codées sur le revers de la boite. Ensuite, procéder directement la coloration de Gram et sélectionner les bacilles Gram négatifs.

La purification se fait en poursuivant le repiquage en faisant des stries éloignées sur le même type de milieu jusqu'à l'obtention d'un isolat pure présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement.



Figure 31 :Escherichia Coli

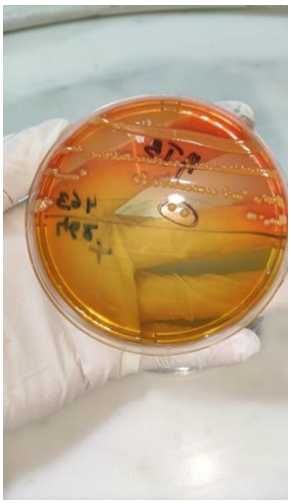


Figure 32 : Klebseilla spp

Conservation :

Repiquer à partir des isolats purs, sur GN incliné en tube en faisant des stries serrées. Après incubation pendant 24-48 h à 37˚C, les tubes sont conservés au réfrigérateur à 4°C.

La coloration de gram :

- **La prèparation de frotti :**

La colorotion de gram a ètè fait à partir d'une goute de l'urine , un frotti a ètè realisè sur une lame, ensuite la lame a ètè sèchè à l'air, fixè et colorè au gram, la lecture a ètè au microscope à l'objectif *100.

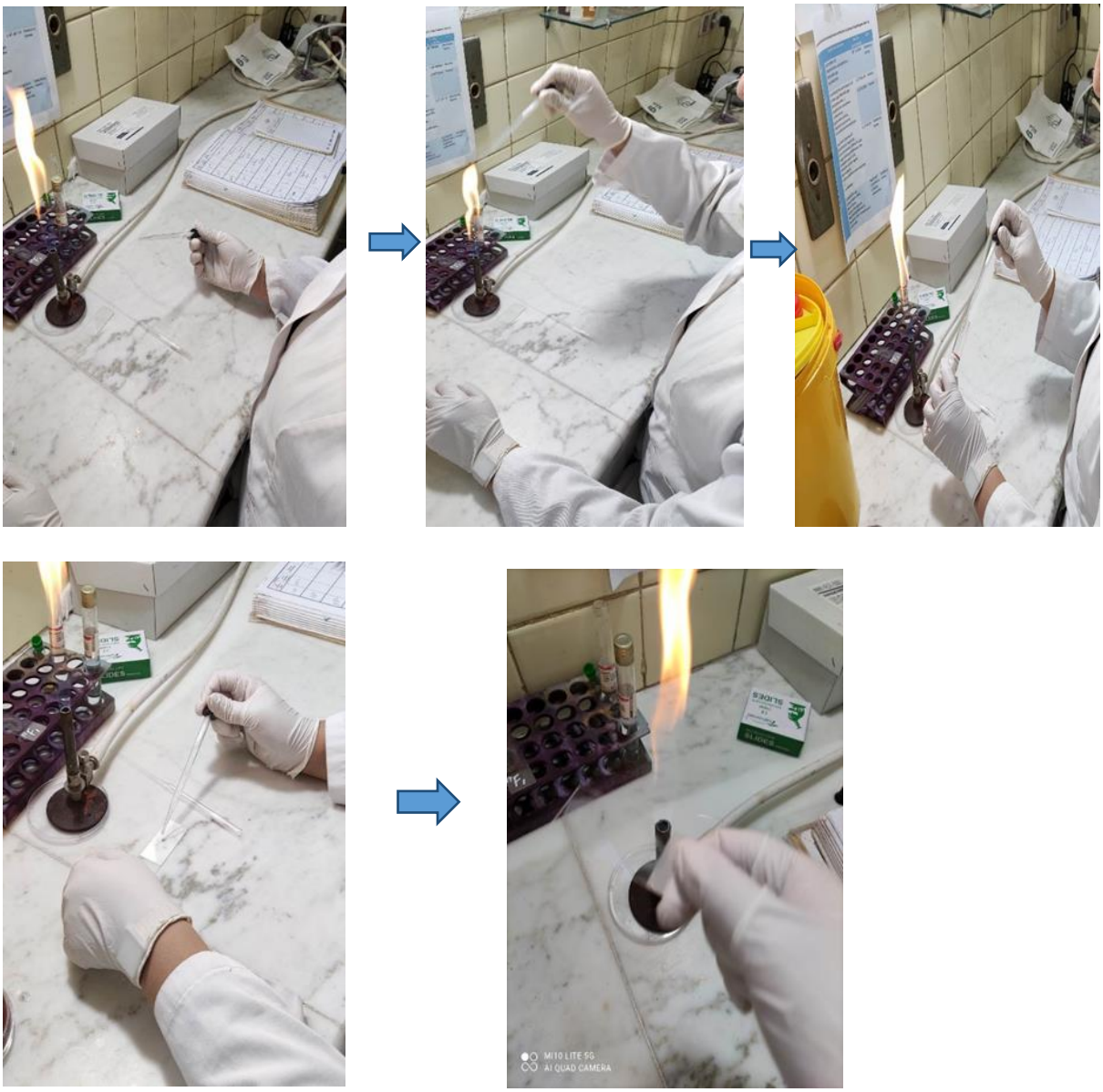
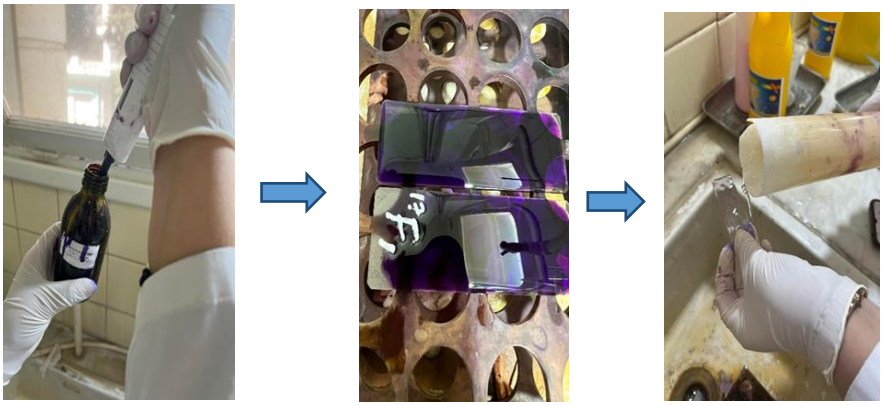


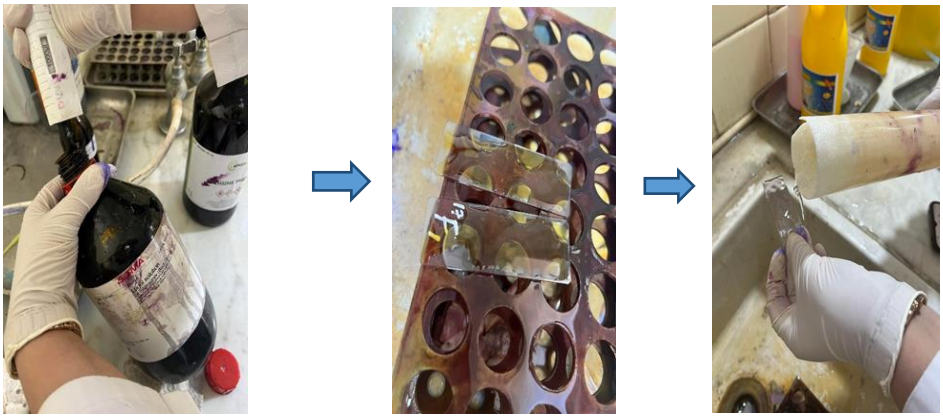
Figure 33 : Les ètapes de la prèparation de frotti (photos originals)

- **Les ètapes de la coloration de gram :**

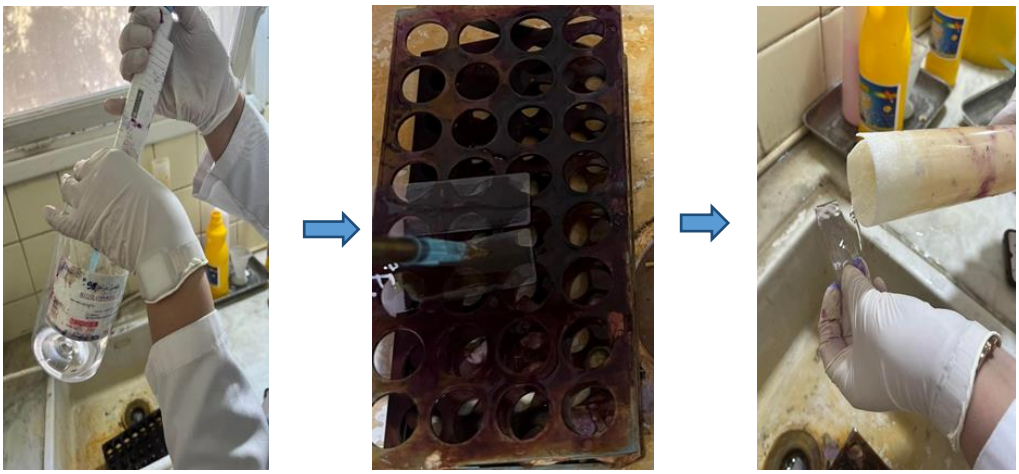
  1ère ètape : Prendre 1cc de Violet de Gentain, laissez agir 1mnt puis rincez à l'eau.



2ème ètape : Recouvrez la lame avec Lugol et laissez agir 1mnt , rincez à leau.



3ème ètape : La dècoloration qui se fait par recouvrir la lame par l'alcool et laissez agir pendant 30 secondes ; rincez à leau.



4ème ètape : La recoloration avec la fushine ; recouvrez la lame avec de la fushine et laissez agir 1minute ; rincez à leau.





1.2.5. Identification biochimique par galerie API 20^{E}:

a) Principe et description de galerie :

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

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d`identification **(Biomerieux SA)**.

b) Mode opératoire :

- **Préparation de la galerie :**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl2, CO2 ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

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

- Sortir la galerie de son emballage et placer la dans la boite d`incubation **(Biomerieux SA).**

- **Préparation de l'inoculum:**

Préparer une suspension bactérienne dense dans 10 ml d`eau physiologique stérile a partir d`une culture jeune de 18 a 24 h sur GN.



Figure 34 : L'inoculum ou la suspension bactèrienne

- **Inoculation de la galerie :**

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

- pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule,
- pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),
- pour les tests : ADH, LDC, ODC, H2S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

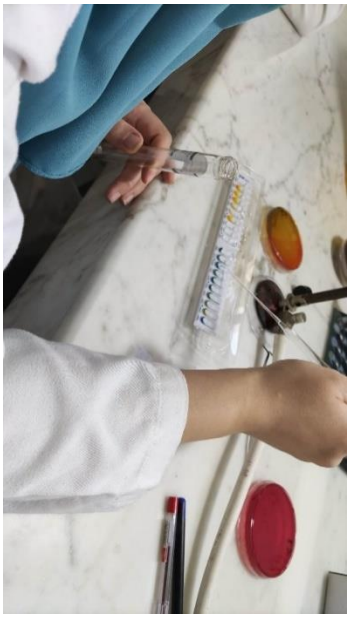




Figure 35 : Remplissage des tubes de la galerie API 20E

- Refermer la boite d'incubation et incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures**(Biomerieux SA).**



Figure 36 : L'ètuve ou on incube les boites

- **Lecture et interprétation :**
- ✓ **Lecture de la galerie:**

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.

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

- **Test TDA** : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur **marron-rougeâtre** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats.

- **Test IND** : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur **rose** diffusant dans toute la cupule indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats.

- **Test VP :** ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2 .Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur **rose** ou **rouge** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration **rose** apparaissant après 10 minutes doit être considérée **négative**.

-Test complémentaires : Réduction des nitrates en nitrites (NO2) et en azote (N2) ajouter 1 goutte des réactifs NIT 1 et NIT 2 dans le tube GLU. Attendre 5 minutes. Une coloration **rouge** indique une réaction **positive** (NO2).

- Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles): ajouter 2 à 3 mg de réactif Zn dans la cupule GLU. Après 5 minutes, un tube resté **jaune** indique une réaction **positive** (N2) à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule est **orange-rouge**, la réaction est **négative**, les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le Zinc.

Note: Le test de la recherche de production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de la galerie. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif. Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à 3 :

- Réincuber la galerie 24 heures (± 2 heures) de plus sans rajouter les réactifs.
- Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs **(Biomerieux SA).**

✓ **Interprétation :**

L'identification est obtenue à partir du **profil numérique**.

• Détermination du profil numérique :

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

• Identification :

à l'aide du logiciel d'identification **api*web* TM** .

1.2.6. Étude de la sensibilité aux antibiotiques:

Au cours de notre étude nous avons déterminé la sensibilité des souches d'entérobactéries vis-à-vis de 15 antibiotiques (Tableau 03) appartenant à différentes familles d'antibiotiques par la technique d'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2018 **(CA-SFM, 2018).**

- **Préparation du gélose**

L'épaisseur de la gélose doit être de 4 mm ± 0,5 mm (approximativement 25 mL pour une boîte de 90 mm de diamètre **(CA-SFM, 2018**).

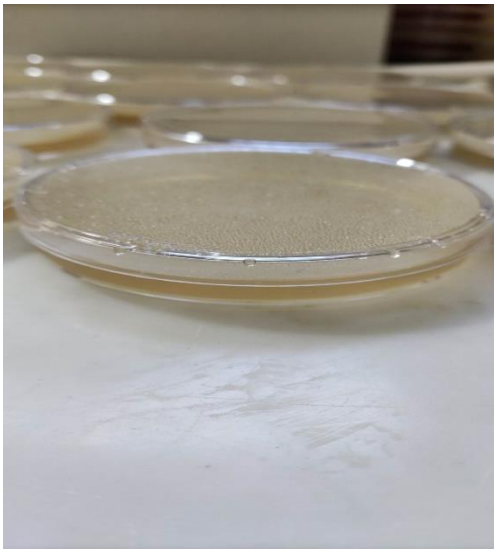


Figure 37 : Prèparation de la gèlose (Muller Hinton) dans les boites de pètri

- **Préparation de l'inoculum**

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

- Bien homogénéiser la suspension bactérienne. Son opacité doit être équivalente à une DO de 0,08 à 0,1 lue à 625 nm soit 0,5 la valeur de Mac Farland. Cela correspond à une culture pure à peine confluente de 10^6 à 10^8 UFC/ml **(CA-SFM, 2018**).



Figure 38 : La suspension bactèrienne

- **Ensemencement de la gélose**
  - Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.
  - Écouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions
  - Déposer les disques.

Si les boites sont abandonnées a la température du laboratoire trop longtemps avant le dépôt des disques, les bactéries peut commencer à croitre conduisant à une fausse diminution de la taille des zones d`inhibition **(CA-SFM, 2018**).





Figure 39 : ensemecement de la gèlose **Figure 40 : Dèposition des disques d'ATB**

- **Dépôt des disques imprégnés d'antibiotique**

Déposer les disques fermement **(figure 41),**à l'aide d'une pince préalablement flambée, à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide **(CA-SFM, 2018**).

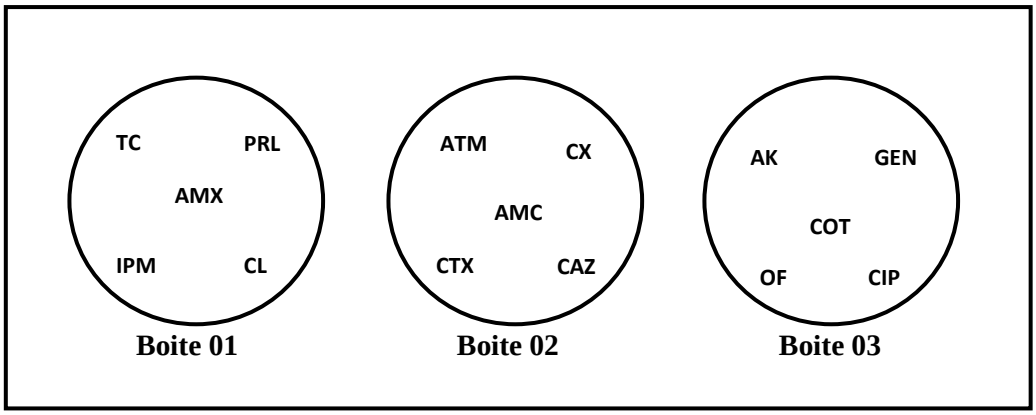


Figure 41: l`application des disques d`antibiotiques sur les boites

- **Incubation des boîtes de Pétri**

Les incuber idéalement dans les 15 min. qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min. Si elles sont abandonnées à température ambiante après dépôt des disques, la pré-diffusion des antibiotiques engendrera des zones d'inhibition faussement agrandies. Incuber les boites à 37°C pendant 16 à 24 h (couvercle en haut) **(CA-SFM, 2018**).

- **Mesure des zones d'inhibition et catégorisation clinique**

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

Interpréter les diamètres des zones d'inhibition par référence aux tableaux où figurent les diamètres critiques : la comparaison des diamètres mesurés autour des disques déposés et ceux recommandés permettra de détecter le phénotype sensible, intermédiaire, et résistant

- Si le diamètre de la zone d'inhibition est ≥ D : la souche est dite sensible (S).
- Si le diamètre de la zone d'inhibition est < d : la souche est dite résistante (R).
- Si d ≤ diamètre de la zone d'inhibition < D : la souche est dite intermédiaire (I) **(CA-SFM, 2018**).

Tableau 14:.Liste des antibiotiques utilisés

Famille		Antibiotique	Sigle	Charge Du disque	Diamètres critiques	
					R (d)	I S (D)
β-Lactamines	Aminopénicillines	Amoxicilline	AMX	25 µg	**< 19**	**≥19**
	Carboxypénicillines	Ticarcilline	TC	75 µg	**<20**	**≥23**
	Uréidopénicillines	Pipéracilline	PRL	100 µg	**<17**	**≥20**
	Carbapénèmes	Imipénéme	IPM	10 µg	**<16**	**≥22**
	Clavams	Amoxicilline +Acide clavulanique	TTC	75-10 µg	**<20**	**≥23**
	Monobactames	Aztréonam	ATM	30 µg	**<21**	**≥26**

	C1G	Céfalexine	CL	30 µg	**<14**	**≥14**
	C2G	Céfoxitine	CX	30 µg	**<15**	**≥19**
	C3G	Céfotaxime	CTX	30 µg	**<17**	**≥20**
		Ceftazidime	CAZ	30 µg	**<19**	**≥22**
Aminoglycosides		Amikacine	AK	30 µg	**<13**	**≥16**
		Gentamicine	GN	10 µg	**<14**	**≥17**
Fluoroquinolones		Ofloxacine	OF	5 µg	**<22**	**≥24**
		Ciprofloxacine	CIP	5 µg	**<24**	**≥26**
Triméthoprime-sulfamides		Co-Trimoxazole	COT	1,25-23,75 µg	**<11**	**≥14**

1.2.7. Tests complémentaires de l'antibiogramme :

A. Recherche de la production des β-lactamases à spectre élargi (BLSE) chez les Entérobactéries

Après l'antibiogramme. En cas de réduction de la sensibilité aux céphalosporines de troisièmegénération, les BLSE ont été mises en évidence par la recherche d'une synergie entre l'acideclavulanique et les céphalosporines de troisième génération selon les techniques suivantes.

1- Test de synergie:

➢**Principe:**

Le teste de synergie permet la détection de β-lactamases à spectre étendue chez une souchedonnée. Ces enzymes peuvent être mises en évidence par la méthode des disques, qui consisteà rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur debéta-lactamase et les disques de céphalosporines de troisième génération (céfotaxime,céftazidime et céfepime) et l'aztréonam. Cette image dite en "bouchon de champagne".

➢**Technique:**

La recherche de β-lactamase à spectre étendue est fait dans les conditions standard de l'antibiogramme, puis en disposant les disques d'ATB: un disque d'Amoxicilline + acide

clavulanique (AMC 20/10) et les disques de C3G (CTX 30µg, FEP 30µg, CAZ 30µg) et l'aztréonam (ATM 30µg) à une distance de 20 à 30 mm sur les boites de Pétri (Figure N°). Incubation pendant 18 heurs à 37°C ± 1°C

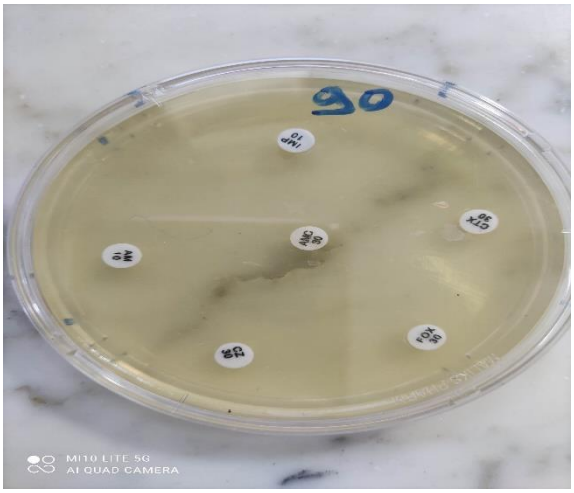


Figure N°42 : Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de synergie.

➢**Lecture:**

La production des enzymes BLSE se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques d'AMC et les C3G.

2- Test du double disque : (appelé aussi test espagnol):

➢**Principe:**

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

➢**Technique:**

On procède de la même manière que la technique d'antibiogramme dans la préparation de l'inoculum et l'ensemencement, puis on place deux disques d'antibiotiques : un disque d'AMC et un disque de CTX (C3G) à une distance de 25 mm selon la figure N°. On laisse diffuser à la température ambiante du laboratoire pendant une heure de temps et on remplace le disque d'AMC par un disque de CTX (C3G).On incube pendant 18 h à 37°C ± 1°C.

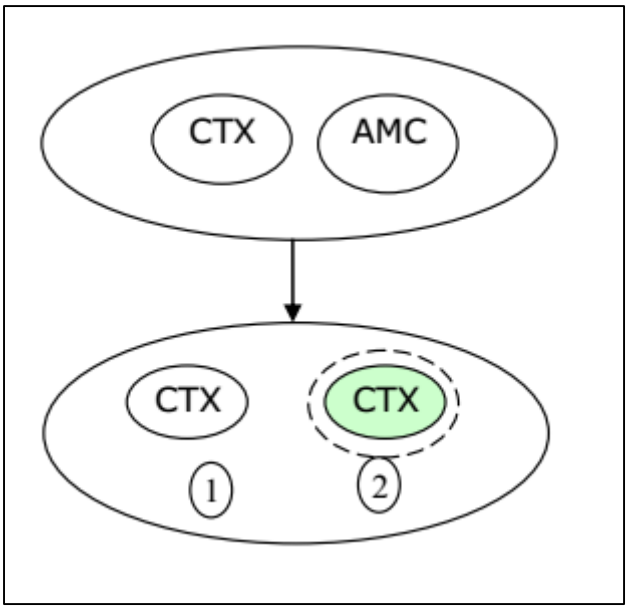


Figure N°43 : Schéma de détection de BLSE par le test du double disque

- **Lecture:**

Le test du double disque est considéré positif quand le diamètre d'inhibition du disque décéphalosporine de troisième génération appliqué après pré-diffusion du disque de l'AMC estsupérieur ou égale de 4 à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque décéphalosporine de 3ème génération.

B. Recherche de l'hyper production des Céphalosporinases chez les Entérobactéries

Test à la cloxacilline :

➢**Principe:**

Le test cloxacilline est effectué pour identifier une BLSE associée à une céphalosporinase déréprimée. La cloxacilline ajoutée au milieu pour antibiogramme Mueller-Hinton inhibe très fortement toutes les céphalosporinases hyperproduite**(CA-SFM 2018).**

Si un tel mécanisme de résistance est présent on constate en comparant les boites de Pétri contenant le milieu Mueller-Hinton à la cloxacilline une restauration de l'activité de β-lactamases et apparition de l'image de synergie en bouchon de champagne recherchée.

➢**Technique:**

On procède de la même manière que la technique de l'antibiogramme sauf le milieu gélosé de Muller Hinton utilisé dans cette technique est mélangé avec une concentration de cloxacilline comme il est mentionnè dans le tableau :

Tableau 15 : Prèparation des boites de cloxacillinehttp://www.sante.dz/aarn/

	Entèrobactèries group 1 et 2	**Entèrobactèries group 3**
Concentration en cloxaciline	0.5 mg /l (500mg/ml)	1mg /ml (1000mg/ml)
Prèparation de la solution de la cloxaciline	50mg de cloxaciline + 10ml d'eau distillèe	100mg de cloxaciline +10ml d'eau distillèe
Pour une boite ronde (90mm)	2ml de solution de cloxaciline + 18ml de MH	2ml de solution de cloxaciline + 18ml de MH

C. Recherche de la production des Carbapénèmases chez les Entérobactéries

Test Carba NP :

Principe :

Le Carba NP test est une méthode biochimique de détection des carbapénèmasesdéveloppée par Nordmann et son équipe. Ce test met en évidence l'acidification du milieu grâce à un indicateur coloré lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénèmase. L'indicateur coloré, le rouge de phénol, vire au jaune lors de l'hydrolyse de l'imipénème par production d'acide et donc diminution du Ph.

Ce test a été évalué au CNR (Centre national de référence), à partir de plus de 4000 souches de sensibilité diminuée aux carbapénèmes (**Dortet *et al* ., 2013)**. Le Carba NP est un test rapide (de 30 à120 mn), ilne nécessite qu'un matériel peu couteux et ne requiert pas de personnel spécialisé. Il est sensible et spécifique (100%). L'un de ses avantages est de mettre en évidence la production de n'importe quel type de carbapénèmases (classes A, B, ou D) (***Cuzon et al ., 2012).***

Ce testest actuellement recommandé en première ligne pour le dépistage de l'activité carbapénèmase par le CLSI (Clinical & laboratory standards institute) aux États-Unis (**Decousser *et al* ., 2017).**

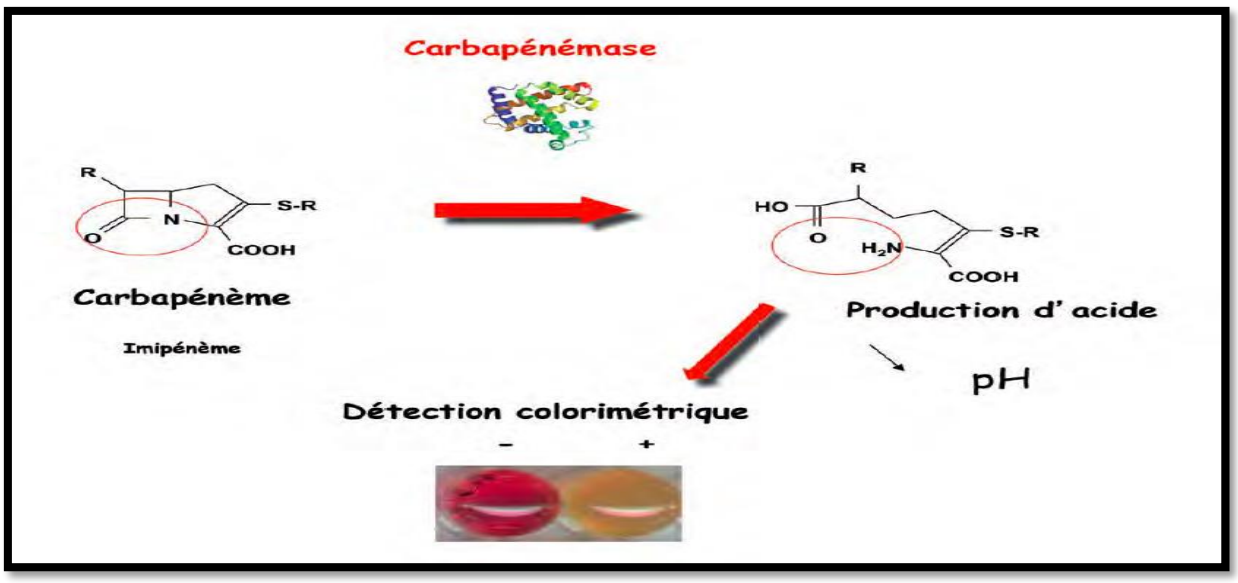


Figure 44: Principe du Carba NP test (**Nordmann ; Poirel., 2014).**

Technique

a) Préparation de la solution A

La solution A (solution contenant l'indicateur de pH) est préparée comme suit :

- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume.
- Mélanger 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6ml d'eau distillée.
- Ajuster le pH à 7.8 en ajoutant, goutte à goutte d'une solution de NaOH (1 N).
- Ajouter 180 µl d'une solution de $ZnSO_4$ 10 mM pour obtenir une concentration finale de $ZnSO_4$ à 0.1 mM.

La Solution A est stable à température ambiante pendant 1 semaine et peut être conservée pendant plusieurs mois à -20°C. La solution A + imipénème (6 mg/ml) doit impérativement être préparée extemporanément.

b) Protocole

- Ajouter 100 µl du tampon de lyse Tris-HCl 20 mM dans 2 tubes Eppendorf de 1.5 ml.
- Bien resuspendre une 1/2 öse calibrée (10 µl) de colonies bactériennes dans chacun des deux tubes contenant le tampon de lyse (les colonies bactériennes peuvent être obtenues directement à partir d'un antibiogramme prélevées autour du disque de Carbapénème).
- Vérifier que les bactéries ont bien été remises en suspension. Si nécessaire, mélanger par Pipetage (de haut en bas) ou par vortex pour bien dissocier les colonies bactériennes dans le tampon de lyse.

- Pour chaque souche à tester, ajouter (i) 100 µl de Solution A dans le premier tube eppendorff puis (ii) 100 µl de Solution A + imipénème 6 mg/ml dans le second tube eppendorff.
- Incuber à 37°C pendant un maximum de 2 h.
- Lecture visuelle de la couleur de chaque tube.

c) Interprétation

L'interprétation des résultats se fait selon le tableau 04.

Tableau 16 : Tableau d'interprétation des résultats du Carba NP Test

Tube 1 (sans imipénème)	**Tube 2 (plus imipénème)**	**Interprétation**
Rouge	Rouge	Pas de carbapénèmase
Rouge	Orange/Jaune	Carbapénèmase
Jaune	Jaune	Non interprétable

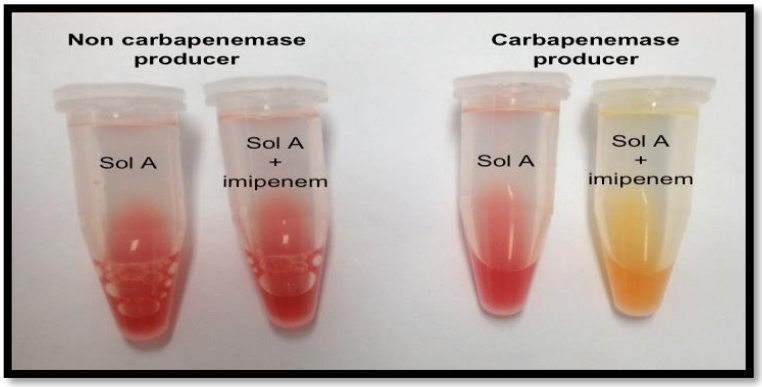


Figure 45: Les résultats de carba NP test (résultat positif à droite et résultat négatif à gauche.

IV. Résultats et discussion

L'urine vésicale est normalement stérile, mais au cours de la miction, elle peut se contaminer par des bactéries qui viennent de la flore physiologique de l'urètre ou des organes génitaux externes.

Le diagnostic d'une infection urinaire repose sur l'examen cytobactériologique des urines(ECBU), qui doit être pratiqué à la moindre suspicion d'infection urinaire. Notre étude a porté sur les infections urinaires due aux Entérobactéries productrice de béta-lactamase (ESBL, CHN et/ou CP), ce travail a été réalisée pendant unmois (le 26 Mars 2023 jusqu'à le 27 Avril 2023), au sein du l'établissement hospitalier de Médéa Mohamed Boudiaf.

1. Analyse macroscopique de l'échantillon

L'aspect macroscopique permet de donner une idée préliminaire sur l'existence d'une infection urinaire. Sur les échantillons analysés trois types d'aspects macroscopique ont étés détectés : clair, légèrement trouble et trouble**.**

Une urine claire, est due à une hydratation ce qui signifie que la personne boit suffisamment de liquides, cela peut vouloir dire que la personne est en bonne santé. Une urine trouble, est un symptôme à évaluer avec attention. Il peut s'agir d'un signe bénin et réversible provoqué par une consommation excessive de phosphate. Les aliments les plus riches en phosphate sont les aliments d'origine animale (fromage, viande rouge notamment). Une urine trouble peut aussi, et c'est le cas le plus fréquent être du a une infection

urinaire touchant la vessie ou les reins. La cause de l'aspect trouble de l'urine, dans le cas d'une infection urinaire, est la présence de pus. On parle en médecine de pyurie.

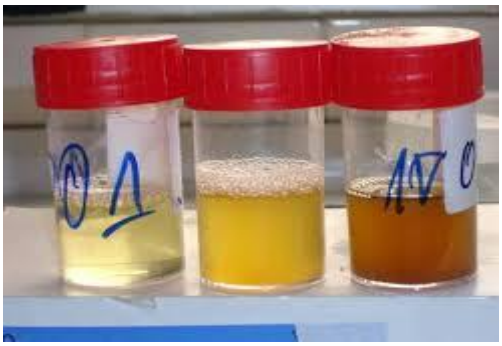


Figure 46:L'aspect de l'urine. **A** : Urine claire, **B** : Urine marron

2. Examen cytobactériologique des urines

2.1.Examen cytologique

2.1.1. Examen cytologique quantitatif

D'après l'analyse au microscope des échantillons d'urines recueillies, nous avons constaté la présence significative de leucocyte etdes hématies ainsi que la présence des germes (forme cocci ou bacilles) (figure), ce sontdes signes d'infection urinaire**.**En effet, la multiplication bactériennes'accompagne d'une hausse des défenses immunitaires et de microorganismes, la présence deshématies et des cellules épithéliales**.**Par contre la présence des différents cristaux qui pourraitêtre lié à la prise de certains médicaments ou de l'alimentation (**Belgacem et al., 2017)**.

A l'état physiologique, l'urine contient moins de 10 000 leucocytes et moins de 5 000 hématies par ml. Cependant, dans le cas d'infection urinaire l'urine se caractérise le plus souvent par la présence de plus de 50 000 leucocytes par ml (témoins du processus inflammatoire) et par la présence de plus de 10 000 hématies par ml traduisant les microhémorragies et des cellules du revêtement urothélial **(Fontaniere et al., 2001)**.

Sur le totale de 103 échantillons analysés dans notre étude, l'examen cytologique quantitatif a été positifs pour 78 échantillons, Le tableau montre le pourcentage de la présence des éléments cellulaires dans l'examen cytologique pour les ECBU positif et négatif et la figure représente le rèsultat négatifs et positif de cette examen.

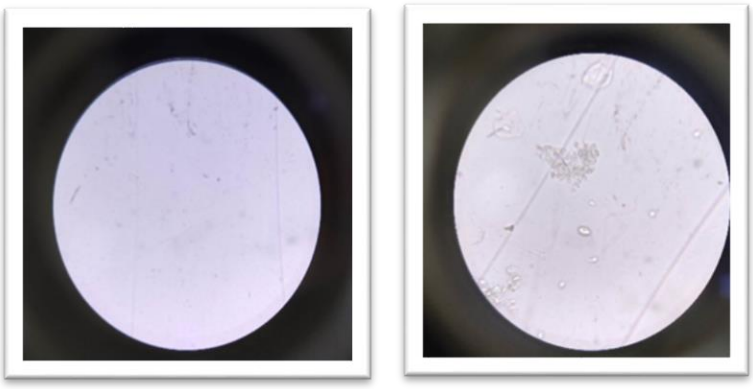


Figure 47 : Un schéma de résultats de l'examen cytologiquedes urines (-) et (+) ou les leucocytes sont superieur à 10^4 (en Amas)(objectif x40).

Tableau 17 : Répartition des éléments de l'examen cytologique

Nombre de patients	**N= 103**			
Eléments cellulaires	Leucocytes	Hématies	Cristaux	Cellules épithéliales
ECBU positif N= 78	78	38	Oxalate de calcium 9 Urates amorphes 7 Phosphates amoniaco magnesien 4	71
%	**100%**	**48,71%**	**25,64%**	**91%**
ECBU négatif N= 25	09	04	Oxalate de calcium 1 Urates amorphes 1	12
%	**36%**	**16.04%**	**8%**	**48%**

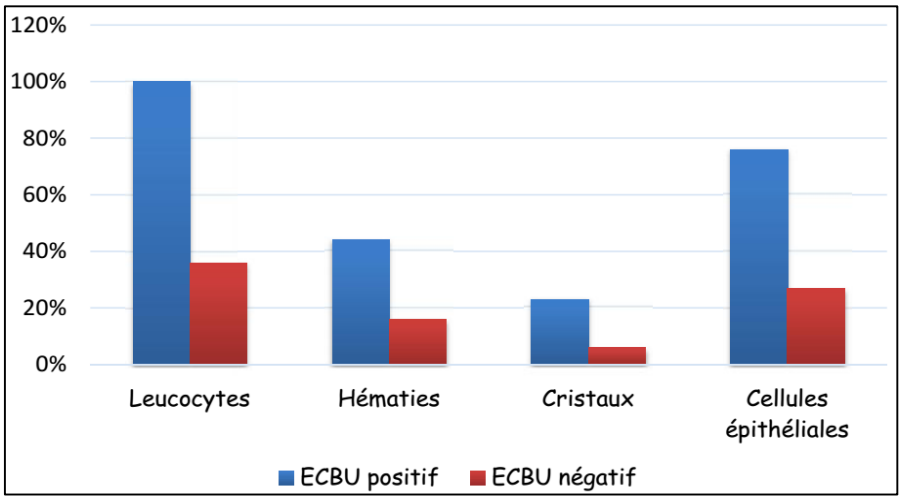


Figure 48 : le pourcentage de la présence des éléments cellulaires dans l'examen cytologique pour les ECBU positif et négatif

Dans l'ECBU négatif la présence de 36% des cas avec leucocytes ne signifiepas forcément qu'il y ait une présence d'infection mais cela montre une inflammation ;la même chose dans le cas de présence des hématies avec 16%.

2.1.2. Examen cytologique qualitatif

La coloration de Gram permet d'étudier la morphologie des germes et le Gram. D'après notre étude on a trouvé différentes formes ; la plus fréquente est bacille a Gram négatif suivipar des cocci en diplocoque ou en à amas et des cocci en chainette Gram positif.

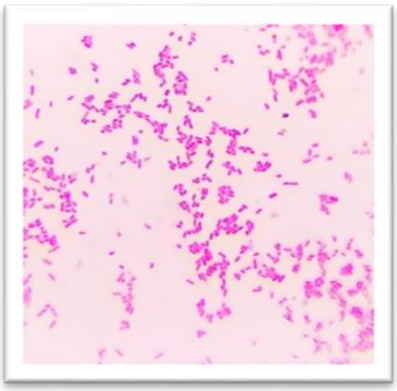


Figure 49: Résultat d'une coloration de Gram (Bacilles à Gram négatif) (objectif x100)

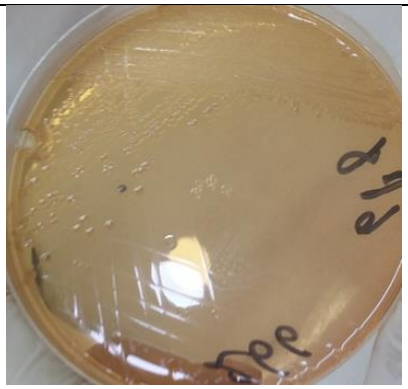
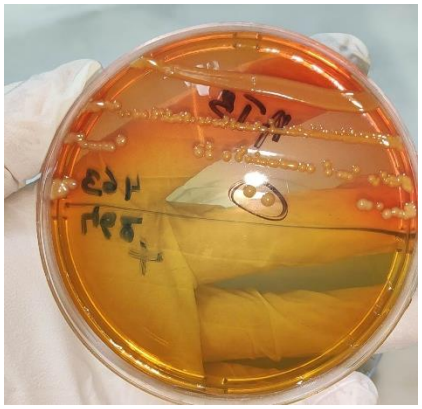
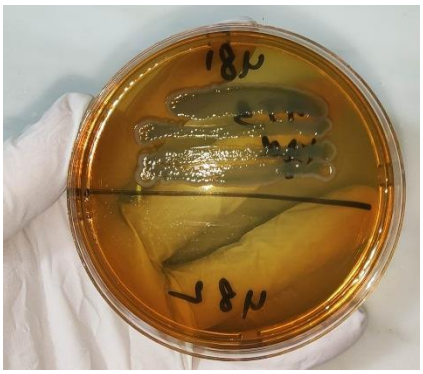
2.2.Examen bactériologique

Durant la période d'étude, 63 souchesbactériennes de bacille à Gram négatif (BGN) pureont été récolté à partir de 78 prélèvements qui ontdonnésdes résultats positifs dans l'examen cytologique des urines ; soit80,76%. Cette prévalence est en accord avec celle retrouvée dans plusieurs études dans lesquels, les bacilles à Gram négatif, dont les entérobactéries restent les bactéries les plus isoléesdans les infections, particulièrement dans les pays en voie de développement, dont on fait partie**(Fares et al., 2018).**Ce taux être dû aux conditionsdéfavorables de croissance de certaines bactéries et d'autre sont donne des cultures mixtes àcause de la contamination.

2.2.1. Aspect macroscopique des isolats :

Les isolats bactériens ont montré divers aspects culturaux, en fonction du milieu de culture utilisé (Mack conky) permettant de suspecter leur appartenance à un groupe bactérien ou à un autre (entérobactéries, Pseudomonas ou autre).

Milieu	Aspect macroscopique	La figure
Mac conkey	Colonie rose (lactose+), ronde, bombé, muqueuse , forme régulier de 0,1 à 0,5 mm de diamètre.	

	Colonie rouge, ronde, matte, aplatis, forme irrégulier de 1 à 2 mm de diamètre.	
Mac conkey	Colonies jaunes (lactose -) rondes, bombées de 0,1 à 0,5 mm de diamètre	
Hektoen	De couleur jaune orangé, humides et convexes , forme régulier de 0,1 à 0,5 mm de diamètre	
Hektoen	Taille variable, de couleur bleu-vert à bleue ou saumon	

2.2.2. Aspect microscopique des isolats :

Dans notre étude seulement 63 échantillons ont donné des cultures de Bacille Gram négative. Après coloration de Gram, l'observation microscopique a montré des bacille Gram négatif courts ou moyens, isolés ou regroupés en paires ou en courtes chainettes, et des coccobacilles isolés ou regroupés en paires.

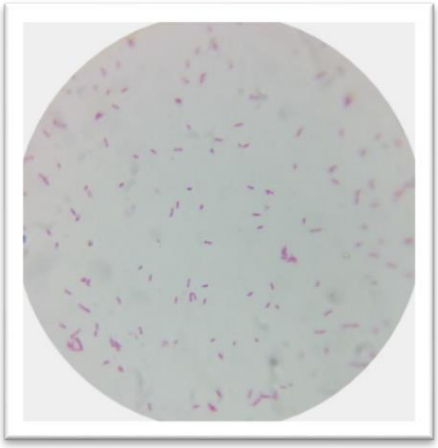


Figure 50 : Observation microscopique de la souche S 04

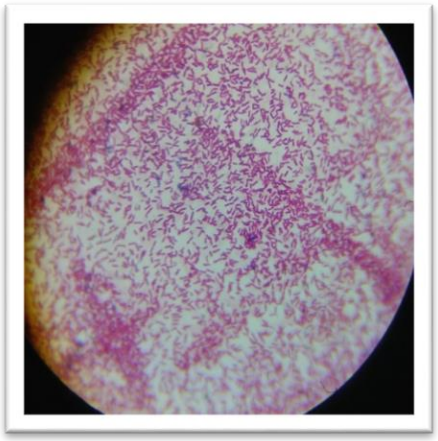


Figure 51 : Observation microscopique de la souche S 36

3. Identification biochimique des isolats :

L'identification biochimique réalisée par la galerie API 20E a permis d'identifier 58 souches (93,06%) qui appartiennent au groupe des Entérobactéries (*Escherichia, Klebsiella, Enterobcter, Serratia, Proteus…*)

Tableau 19: Effectif et fréquence d'isolement des genres et des espèces isolés.

Genre	Espèce	Effectif	fréquence de l'espèce	fréquence du genre
Escherichia	***Escherichia coli***	16	27,58 %	27,58 %
Klebsiella	***Klebsiella pneumoniae***	16	27,58 %	37,93 %
	Klebsiella oxytoca	06	10,34 %	
Enterobacter	***Enterobacter cloacae***	05	8,62 %	15,51 %
	Enterobacter sakazakii	03	5,17 %	
	Enterobacter aerogens	01	1,72 %	
Serratia	***Serratia marcescens***	04	6,89 %	17,24 %

	Serratia fonticola	03	5,17 %	
	Serratia liquefacieus	03	5,17%	
Citrobacter	***Citrobacter freundii***	01	1,72 %	1, 72%
Proteus	***Proteus mirabilis***	01	1, 72%	1, 72%

Les entérobactéries occupent une place très importante dans les infections urinaires. **(Larbi, 2001).** Dans la présente étude (93.06%) des germes isolés sont des entérobactéries. Cette prédominance est rapportée dans d'autres travaux. En effet, une étude rétrospective effectuée à l'hôpital d'Ain mlila en Algérie rapporte une fréquence de (87%). **(Bouzenoine *et al.*, 2009).** Une autre étude rétrospective effectuée au laboratoire de microbiologie de l'hôpital universitaire de Tahar Sfar en Tunisie, rapporte une fréquence de (89%) **(Ben Haj et Khedher, 2010).** Aussi, un pourcentage très proche a été enregistré dans une étude récente réalisée dans les EPH da Tébessa en 2018 par **(Fares et Djadai, 2018)**.

Concernant la répartition des espèces d'entérobactéries dans les urines, nous avons noté les pourcentages suivants :*E .coli et Klebsiella pneumoniae*représentent les espèces les plus fréquentes (*27,58*%) suivide*Klebsiella oxytoca* (10,34 %), *d'Enterobacter cloacae* (8,62 %) et de Serratia marcescens 6,89 %. Alors que,*Serratia fonticola, Serratia liquefacieus*et *Enterobacter sakazakii*représentent (5,17 %). En dernier lieu on retrouve autresentérobactéries (*Enterobacter aerogens, Citrobacterfreundii* et *Proteus mirabilis*) avec une fréquence de (1,72%). (Tableau)

Ces résultatscorroborent ceux de (**Niranjan &Malini, 2014)** qui a rapporté que *E. coli comme* l'agent étiologique le plus courant de l'infection urinaire (28%) mais assez différente de celles retrouvées dans d'autres études nationales etinternationales publiés jusqu'alors, où des prévalences élevées ont été rapportées, soit 60% àGuelma-Algérie **(Bentroki *et al*., 2012)**, et 60,24 % à Arabie Saoudite **(Alanazi *et al*., 2018).**

Nos résultatscorrespondant aussiaux celles obtenus dans l'étude de **(Alanazi *et al*., 2018)**en Arabie Saouditeoù *E. coli, Klebsiella spp* et d'*Entrobacter spp*sont les germes les plusfréquemment isolés.Cela est en rapport avec la physiopathologie de l'infection urinaire. L'IU est en généralascendante, et il existe une forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'originedigestive, et en particulier *E. coli.*

A cela s'ajoutent des facteurs spécifiques d'uropathogénicité, *E. coli* possède des adhésines, capables de lier la bactérie à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par

les vidanges viscérales, *Klebsiella* et *Proteus* secrètent une uréase qui alcalinise l'urine, dont le

pH naturellement acide empêche la prolifération des germes **(Sekhsokh, 2008)**.



Figure 52 : *Klebsiella oxytoca*



Figure 53 : *Enterobacter cloacae*



Serratia fonticola

Test / Code d`isolats	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H_2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO_2	N_2	Espèces
S 01	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	*Klebsiella pneumoniae*
S 02	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	*Enterobacter cloacae*
S 03	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		*Enterobacter cloacae*
S 04	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 05	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
S 06	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 07	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	*Klebsiella pneumoniae*
S 08	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 09	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 10	+	+	+/-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella oxytoca*
S 11	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 12	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	*Enterobacter cloacae*
S 13	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		*Serratia marcescens*
S 14	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	*Klebsiella pneumoniae*
S 15	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Entérobacter sakazakii*
S 16	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Serratia fonticola*

S17	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
S18	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella oxytoca*
S19	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
S20	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+		*E.coli 1*
S21	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		*E.coli 1*
S22	+	+	+/-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella oxytoca*
S23	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Serratia fonticola*
S24	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
S25	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Entérobacter sakazakii*
S26	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	*Klebsiella pneumoniae*
S 27	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 28	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+		*E.coli 1*
S 29	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 30	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
S 31	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Enterobacter cloacae*
S 32	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+		*E.coli 1*
S33	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
S 34	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		*Enterobacter cloacae*
S 35	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Serratia marcecsens*

S 36	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella oxytoca*
S 37	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Enterobacter aerogens*
S 38	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Entérobacter sakazakii*
S 39	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Serratia marcecsens*
S 40	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 41	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
S 42	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 43	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+		*Serratia marcecsens*
S 44	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella oxytoca*
S45	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+		*Serratia liquefaciens*
S 46	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 47	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 48	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+		*Proteus mirabilis*
S 49	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
S 50	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+		*Serratia liquefaciens*
S 51	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
S 52	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Citrobacter freundii*
S 53	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*
S 54	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Serratia fonticola*

S 55	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Serratia marcecsens*
S 56	+	+	+/-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella oxytoca*
S 57	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		*E.coli 1*
S 58	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		*Klebsiella pneumoniae*

Tableau 20 : Les résultats de l`identification des souches par la galerie API20E

4. Répartition globale des Entérobactéries

4.1.Répartition des Entérobactéries isolées en fonction des services

Dans la présente étude, notre collection des souches (58 Entérobactéries) a été isolée à partir des prélèvements urinaires des patients admis dans une septservices différents dans l'hôpital Mohamed Boudiaf- Médéa. (FigureN°).

Le service le plus représenté était le service de médecine femme avec un pourcentage de (31%), suivi par le service de chirurgie femme(21%), de Gynécologie(12%), de médcine homme (10%), de réanimation (9%), d'hémo-dialyse (9 %), d'Infectieux(5%), et de Pèdiatrie(3%).

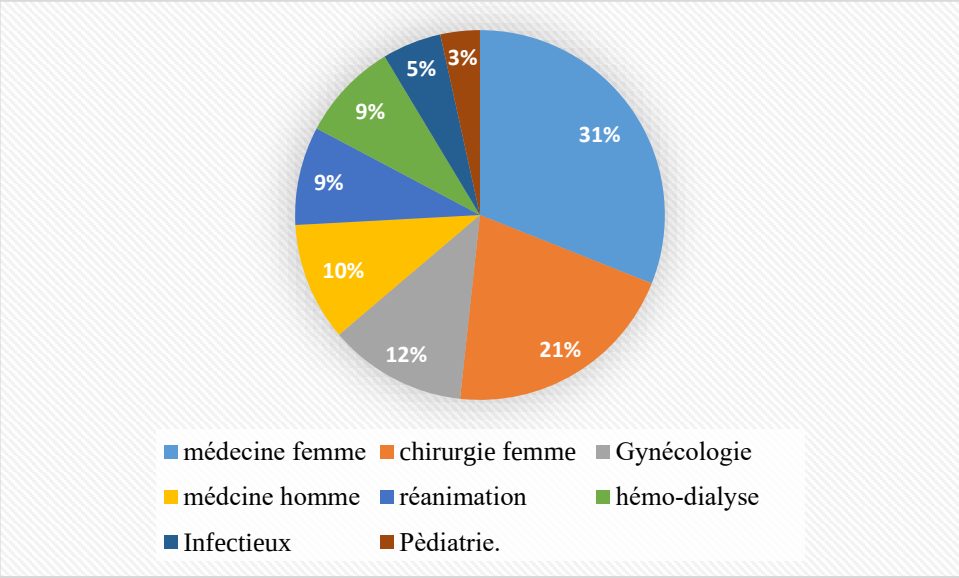


Figure54 : Répartition des souches en fonction des services.

4.2.Répartition des Entérobactérie en fonction de l'âge et de sexe (Caractéristiques des patients)

L'âge moyen des patients de l'étude atteints d'une infection urinaire aux Entérobactéries était de 33,9 ans. La fourchette d'âge était de 4 à 65 ans et une sous-classification supplémentaire a montré que, le groupe d'âge le plus touché est celle de 15 à 45 ans, représentait 63,80 % des cas d'infections notées. Concernant la répartition des isolats en fonction de sexe des patients, nos résultats montrent une prédominance des souches isolées chez des patients du sexe féminin avec 65,51%(n=38) contre 34,48% (n=20) des souches isolées chez des patients de sexe masculin, avec un sexe (tableau)

Tableau 21 : Répartition des souches d'Entérobactéries isolés selon les tranches d'âge et le sexe de patients.

Tranche d'âge	≤ 15			15-45			45-65		
Sexe	F	H	**T**	F	H	**T**	F	H	**T**
Effectif	03	02	**05**	24	13	**37**	11	05	**16**
%	5,17%	3,44%	**8,62%**	**41,37%**	22,41%	**63,80%**	18,96%	8,62%	**27,58%**

Nos résultats peuvent s'expliquer par la présence de nombreux facteurs favorisant lacolonisation bactérienne de système urinaire chez la femme beaucoup plus que chez l'homme.En effet, les différences anatomiques, telles que la distance plus courte entre l'anus et l'ouvertureurétrale chez les femmes ou un urètre plus long chez les hommes, influencent la prévalence desinfections urinaires chez l'homme (**Scharff *et al.*, 2019)**.

5. Etude de la résistance aux antibiotiques

5.1.Résistance des Entérobactéries aux antibiotiques

Les 58 souches ont été testées vis-à-vis de 15 molécules d'antibiotiques appartenant aux différentes familles dont ; 10 β-lactamines, 2 Aminosides, 2 Quinolones, et d'autres. Les taux de résistances des isolats vis-à-vis aux antibiotiques choisis sont donnés dans le Tableau N°.

Tableau 22 : Profil de sensibilité des souches testé des Entérobactéries aux différentsantibiotiques testés.

Antibiotique	Sigle	Nbr de souches (Pourcentage des souches)		
		Résistante R	Intermédiaire I	Sensible S
Amoxicilline	AMX	49 (84,48%)	06 (10.34%)	03 (05,17%)
Amoxicilline+acide clavulanique	AMC	26 (44,82%)	15 (25,86%)	17 (29,31%)
Pipéracilline	PIP	49 (84,48%)	05 (8,62%)	04 (6,89%)
Ticarcilline	TI	44 (74,58%)	09 (15,51%)	5 (8,62%)
Cephalexine	CL	43 (74,13%)	01 (1,72%)	14 (24,13%)
Céfoxitine	FOX	14 (24,13%)	23 (39.65%)	21 (36,20%)

Ceftazidime	CAZ	43 (74,13%)	09 (15,51%)	06 (10.34%)
Cefotaxime	CTX	26 (44,82%)	18 (314,03%)	14 (24,13%)
Aztréonam	AO	50 (86,20%)	07 (12,06%)	01 (1,72%)
Imipénème	IPM	04 (6,89%)	03 (5,17%)	51(87,93%)
Gentamycine	CN	08 (13,79%)	04 (6,89%)	46 (79,31%)
Amikacine	AK	06 (10.34%)	00 (00%)	52(89,65%)
Ofloxacine	OFX	49 (84,48%)	04 (6,89%)	05 (8,62%)
Ciprofloxacine	CIP	52(89,65%)	01(1,72%)	05 (8,62%)
Cotrimoxazole	COT	51(87,93%)	00(0%)	07(12,06%)

Au vu des résultats de profil de résistance des souches testées vis-à-vis 15 antibiotiques appartenant aux quatre familles (β- lactamines, aminoglycosides, triméthoprimesulfamides et les fluoroquinolones), nous avons constaté que les souches ontexprimées une résistance vis-à-vis les différentes β- lactamines, mais à des degrés variable : Amoxicilline (84%),la pipéracilline (84 %), l'aztréonam (84 %), la ticarcilline (74%), la céfalexine (74 %), la céftazidime (74 %), lacéfotaxime (44 %) etl'association ticarcilline + A. clavulanique (44 %). De plus, ces souches présentent une résistance élevéevis-à-vis la co-trimoxazoleavec (87%), la ciprofloaxine (84%) et l'ofloxacine (89%). Cependant, pour les antibiotiques qui ont une activité trèsimportante à l'égard de nos souches sont : la gentamicine, l'amikacine et l'imipénéme où le taux derésistance était 13 %, 10% et 6 % respectivement.

Toutefois nos résultats sont proches de ceux rapportés dans l'étude de **Debabza (2015)** où les taux de résistance les plus élevés ont été marqués à l'égard des différents β-lactamines ; l'amoxicilline (99 %), la ticarcilline (89 %) et les taux de sensibilité étaient très élevés notamment à l'égard de la gentamicine (70 %), l'imipénéme (94 %) et l'amikacine (88 %). Par contre dans la même étude, les taux de résistance à la céftazidime (92 %) et la céfotaxime (72 %) rapportés par (**Debabza, 2015).**

Selon les résultats de l'antibiogramme présenté dans le tableau au-dessus, nous avons constaté que la famille d'antibiotiques la plus touchée par la résistance est la famille des béta-lactamines. Ceci pourrait être dû à l'utilisation abusive de ces antibiotiques est cause principale de la grande dissémination de ce type de résistance entre les bactéries dans l'environnement hospitalier **(Farih *et al*., 2021)**.

6. Entérobactéries productrices des BLSE :

6.1. Résultats des tests de détection des BLSE :

Le screening initial par le test de synergie nous a permis de suspecter des 34 souches productrices de BLSE. Cependant, la méthode du double disque nous permis de confirmées 29

souches productrices de BLSE, soit 50%. Le tableauprésente le pourcentage des souches BLSE. (Lesfigures et) présentent des exemples de quelques tests de détection positifs.

Tableau 23 : Résultats des tests de détection de BLSE.

Test	**Test de synergie N= 58**		**Test du double disque N= 58**	
Résultats	Présence de synergie	Absence de synergie	positif	négatif
	34 (58,62%)	24 (41,37%)	29 (50%)	29 (50%)

Les bactéries productrices de BLSE constituent unepréoccupation majeure en milieu hospitalier en raison de leur diffusion épidémique et de leurmultirésistance aux antibiotiques. Plusieurs études ont rapporté que les BLSE sont retrouvées chez une vaste proportion de bacillesà gram négatif, mais les entérobactéries représentent les germes les plus incriminés **(Gniadkowski. 2001)**

Dans cette étude, L'incidence de souches d'entérobactéries productrices de BLSE était 50%,et parmi les espèces identifiées, on retrouvait majoritairement *E. coli* puis *K. pneumoniae, E.cloacae* et *Klebsiella oxytoca.*Cette prévalence est supérieur à celle retrouvée dans certaines études, en particuliercelle faite au Japon (6,4 %)**(Luvsansharav et al. 2011),** celle faite au Belgique (6.6%) **(Rodriguez-Villalobos et al. 2011)**et dans d'autreétudes nationaux réalisé au Nord d'Algérie, où des prévalences élevées ont étérapportées, soit 39.22% à Tlemcen **(Baba Ahmed-Kazi Tani et al. 2013)**, et 31.4% à Annaba**(Nedjai et al. 2012)**.

D'ordre général, la prévalence globale de la production de BLSE a varié considérablement selon les zones géographiques des pays et dans différents structures hospitaliers.

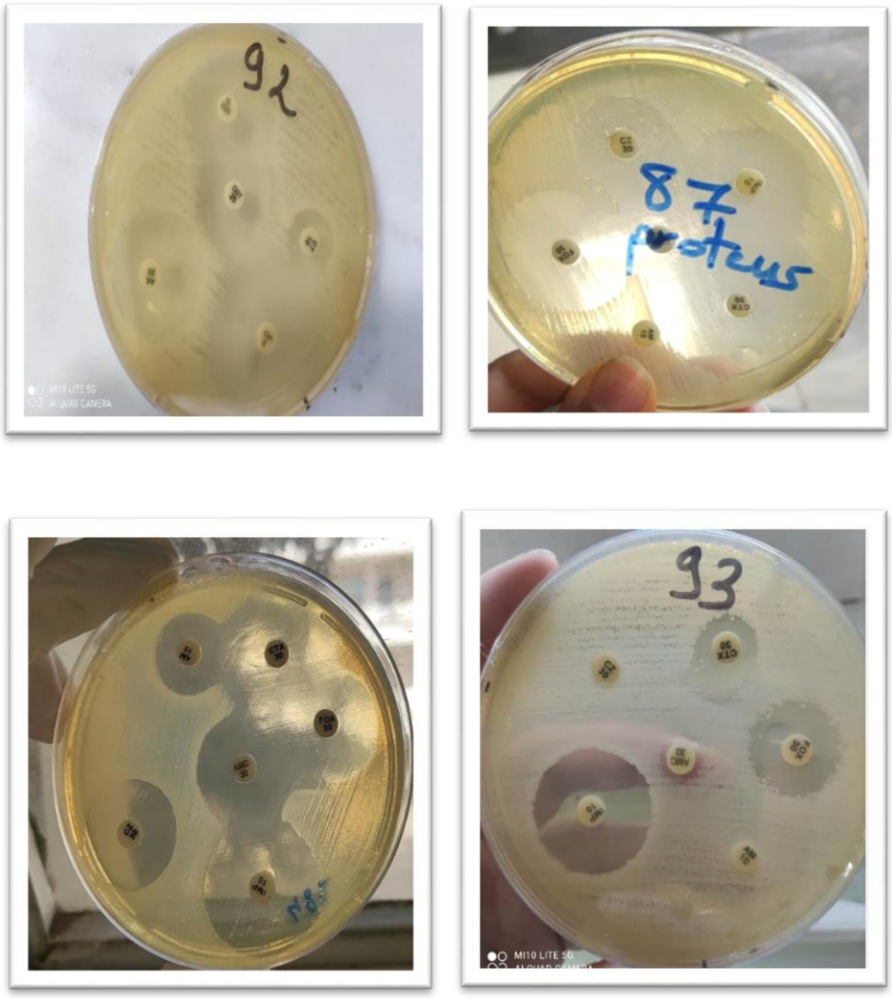


Figure 55: Photographies de tests de synergie positifs

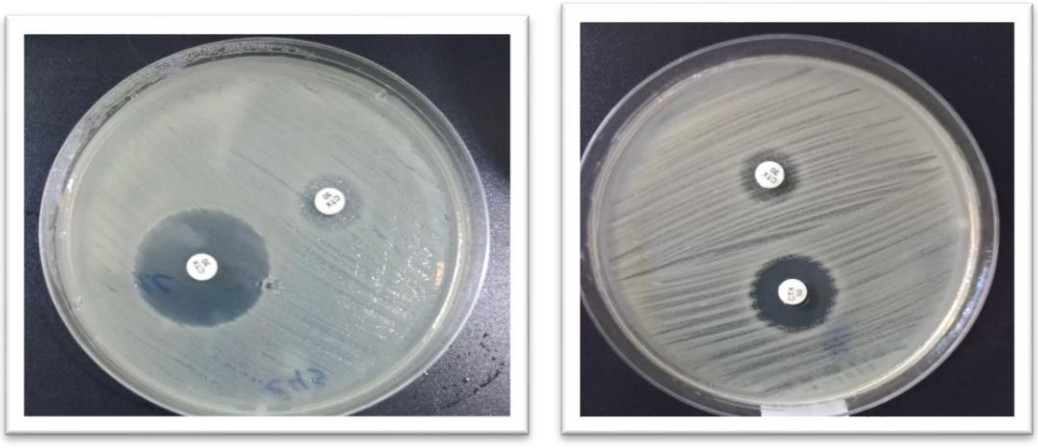


Figure 56: Photographies de tests du double disque positifs.

6.2.Répartition des EBLSE selon les espèces :

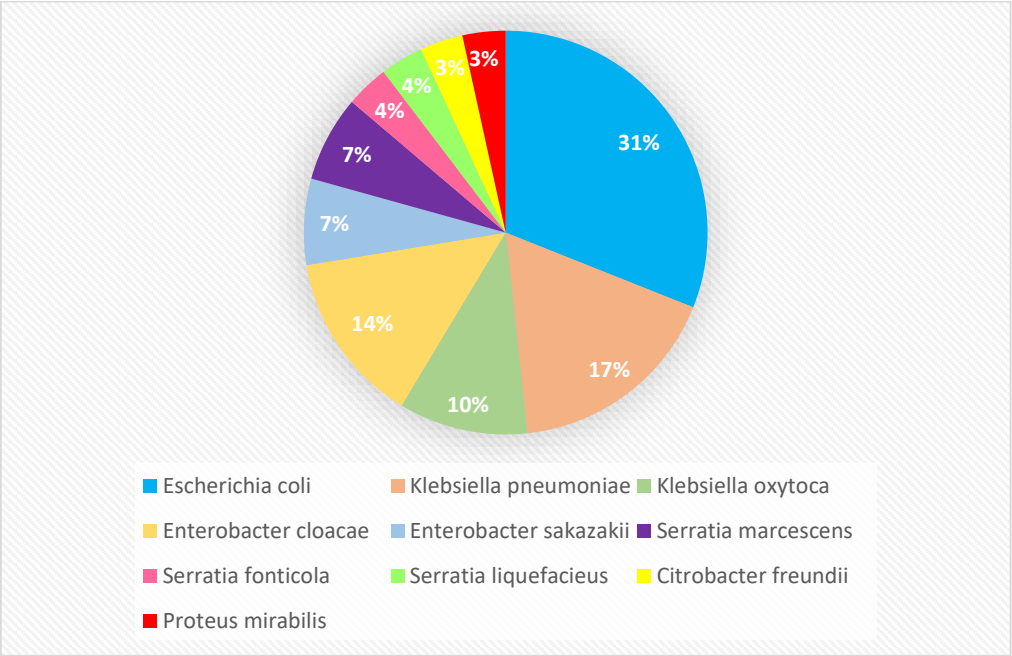


Figure 57 : La rèpartition des E-BLSE selon les èspèces

Dans notre étude,*E.coli* était la première espèce isolée parmi les E-BLSE avec une proportion de 34,48% (n= 10). *Klebsiella pneumoniae* (n=5) et *Enterobacter cloacae* (n=4) constituent les espèces les plus fréquemment isolées après *E. coli*, représentant respectivement 17,24% et 13,79% des E-BLSE. suivi par la suite par *Klebsiella oxytoca (n= 3)* 10,34%, *Serratia marcescens (n= 2)6,89%, et Enterobacter sakazakii (n= 1) 6,89%, Serratia fonticola (n= 1), Serratia liquefacieus (n= 1) , Citrobacter freundii (n= 1) et Proteus mirabilis (n= 1), soit 3,44%.*

Les prévalences de production de BLSE chez *E. coli*, *K. pneumoniae* et *Enterobactercloacae* que nous avons obtenu dans cette étude sont proches a peu pré aux ceux obtenu parFares et son équipe **(Fares et Djadai, 2018)**. D'une autre part, ces taux sont relativement élevés en comparaison à des fréquencesde (1.3%) et (5.6%) respectivement trouvées par Barguigua et al. (**Barguigua *et al.*, 2011**) auMaroc pour les deux genres *E. coli* et *K. pneumoniae*.

En revanche des taux de production de BLSE très élevées ont été enregistrés dans certain étude à savoir celle réalisé en Iran où la prévalence des *K. pneumoniae* productrices de BLSE était très élevée soit untaux alarme (72.1%) (**Feizabadi *et al.*, 2010**)

6.3.Répartition globale des souches BLSE (selon l'âge, le sexe et les services)

Le tableau suivant englobe la répartition globale des souches d'entérobactéries productrice de béta-lactamase à spectre étendu.

Tableau 24 : Répartition globale des souches E-BLSE

Code de souche	Espèces	Age	Sexe	Service
S04	***Escherichia coli***	20	Homme	Médcine homme
S09	***Escherichia coli***	32	Femme	Gynécologie
S11	***Escherichia coli***	29	Femme	Médcine homme
S21	***Escherichia coli***	44	Homme	Réanimation
S22	***Escherichia coli***	41	Homme	Infectieux
S28	***Escherichia coli***	33	Femme	médecine femme
S29	***Escherichia coli***	46	Femme	médecine femme
S32	***Escherichia coli***	26	Femme	chirurgie femme
S46	***Escherichia coli***	25	Femme	Gynécologie
S57	***Escherichia coli***	39	Homme	Médcine homme
S05	***Klebsiella pneumoniae***	15	Femme	chirurgie femme
S14	***Klebsiella pneumoniae***	48	Homme	Réanimation
S30	***Klebsiella pneumoniae***	50	Homme	hémo-dialyse
S33	***Klebsiella pneumoniae***	31	Femme	Réanimation
S53	***Klebsiella pneumoniae***	31	Femme	Gynécologie
S22	***Klebsiella oxytoca***	19	Homme	d'Infectieux
S36	***Klebsiella oxytoca***	28	Femme	Gynécologie
S56	***Klebsiella oxytoca***	22	Femme	médecine femme
S03	***Enterobacter cloacae***	59	Femme	chirurgie femme
S12	***Enterobacter cloacae***	17	Homme	Médecine homme
S31	***Enterobacter cloacae***	11	Femme	Pèdiatrie
S34	***Enterobacter cloacae***	27	Homme	Médecine homme
S35	***Serratia marcescens***	57	Femme	chirurgie femme
S55	***Serratia marcescens***	27	Femme	Gynécologie
S15	***Enterobacter sakazakii***	35	Femme	médecine femme
S 23	***Serratia fonticola***	27	Femme	Gynécologie
S50	***Serratia liquefacieus***	29	Femme	Gynécologie
S52	***Citrobacter freundii***	55	Homme	hémo-dialyse
S48	***Proteus mirabilis***	65	Homme	hémo-dialyse

6.3.1. Répartition lesentérobactéries-BLSE selon l'âge

D'après le tableau et la figure, l'âge des 29 patients porteurs d'une souche d'E-BLSE varie de 11 mois à 65 ans avec un âgemédian de 34 ans, la tranche d'âge la plus touché est celle de 15 à 30 ans avec une proportion de 41,38%, suivi par la tranche d'âge des patients les plus âgés (31 à 50 ans) avec une proportion de 37,93%.

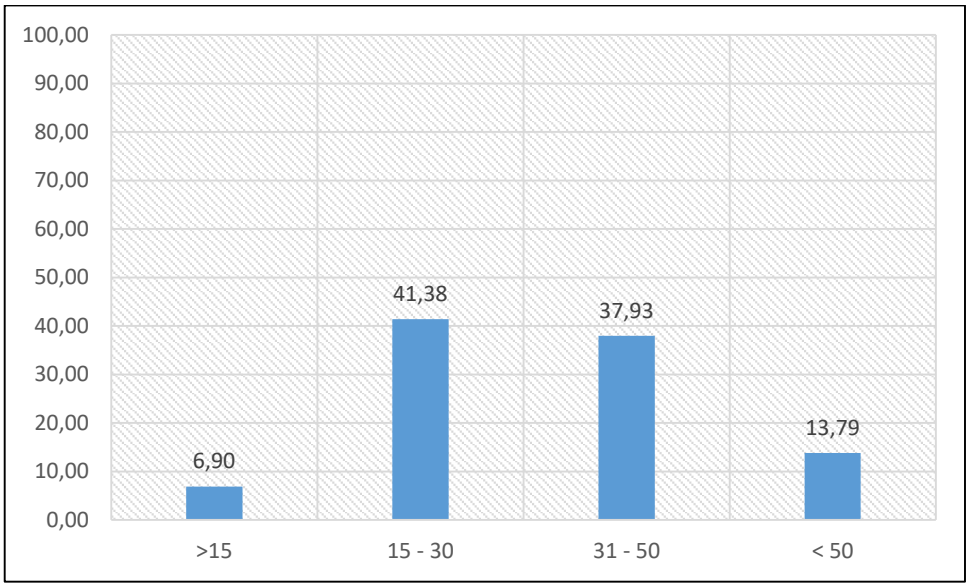


Figure 58 : Répartition des entérobactéries-BLSE selon les tranches d'âge.

6.3.2. Répartition les entérobactéries-BLSE selon le sexe :

Dans notre étude, nous avons noté une prédominance féminine (62%) par rapport au (38%) des patient de sex masculin infecté par des souches productrices de BLSE.

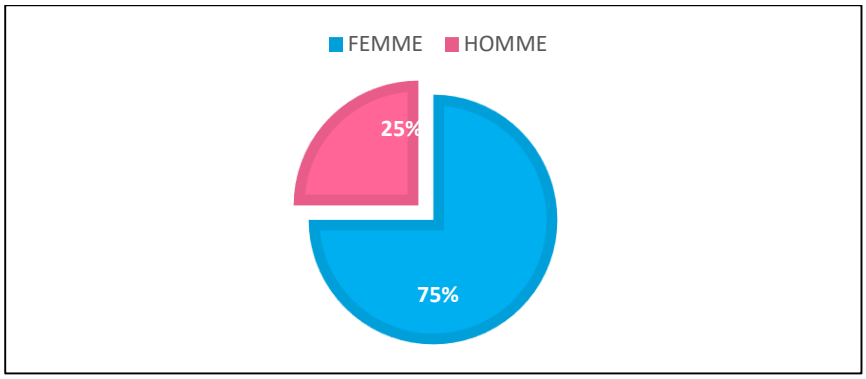


Figure 59 : Répartition des entérobactéries-BLSE selon le sexe de patients.

Nos résultats peuvent s'expliquer par la présence de nombreux facteurs favorisant la colonisation bactérienne de système urinaire chez la femme beaucoup plus que chez l'homme.

a savoir les différences anatomiques, les niveaux d'hormones sexuelles également peuvent jouerun rôle dans la réponse à l'infection, **(Deltourbe *et al.*, 2022)**.

6.3.3. Répartition des entérobactéries- BLSE en fonction de service :

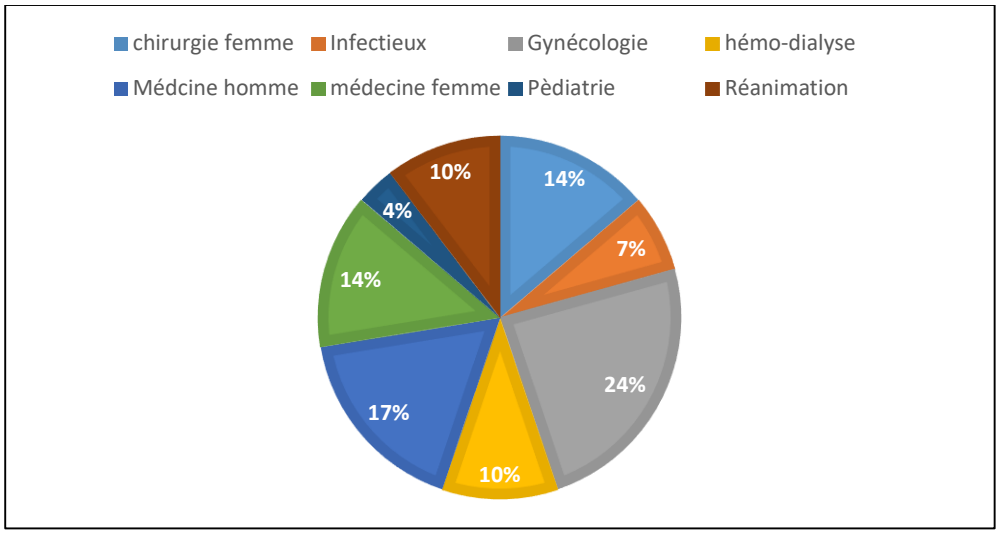


Figure 60 : Rèpartition des entèrobactèries BLSE en fonction de service

Avec un taux de 17 %, les patients du service de gynécologie représentent le 1er réservoir desE-BLSE suivi par les patients de service de médecine homme (17%), chirurgie et de médecine femme (14%).

6.4. Résistance aux antibiotiques

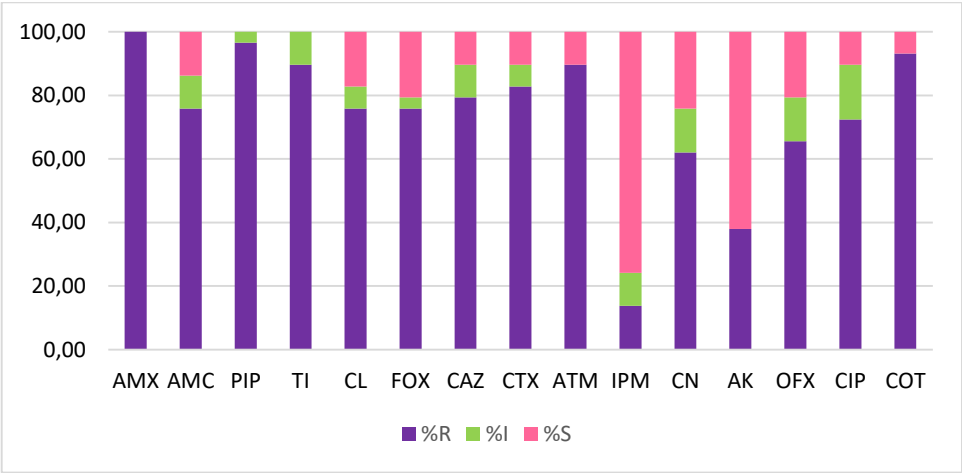


Figure 61 : Profil de sensibilité des souches des Entérobactéries productrice de BLSEaux différents antibiotiques testés.

Le profil de sensibilité aux antibiotiques des 29 souches étudiées montre des taux de résistance élevée àla plupart des β-lactamines sauf l'Imipenème qui reste actif la plupart des souches d E-BLSE (n=24), celaindiquant sa place en premier choix dans le traitement des infections sévères à bactériesmultirésistantes. Ainsi, des résistances croisées sont observées avec les autres famille d'antibiotique comme le Cotrimoxazole (93,10%), la Ciprofloxacine (72,41%), l'Ofloxacine (65,52%), la Gentamycine (62,07%) et l'Amikacine (37,93%) (figure).

Récemment, un taux beaucoup plus important a été retrouvé dans une étude algérienne, où lepourcentage de la résistance de souches EBLSE était 100% à la majorité des antibiotiques
C3G testés, gentamicine et tobramycine **(Touati et al. 2012).**

De même, les proportions retrouvées par Ben Haj Khalifa et Khedher dans une étude portantsur les *Klebsiella spp.* uropathogéne productrices des BLSE isolées à l'hôpital universitaireTunisien, sont plus proches de celles que nous observons dont la fréquence de la résistance deces germes est estimée à 100% aux céphalosporines de 3éme génération, 72.5% auxgentamicines, et 67.5% aux fluoroquinolones **(Ben Haj Khalifa et Khedher. 2012)**.

Il est actuellement prouvé que l'utilisation des antibiotiques, notamment les céphalosporinesde 3éme génération dans un but thérapeutique est le facteur de risque le plus important dans ledéveloppement de résistances bactériennes **(Rubin et Samore. 2002)**, est devenue un problèmemajeur de santé public.

7. Détection phénotypiques de la production des Céphalosporinase haut niveau

Dans notre étude, l'association des mécanismes de résistance « BLSE et Céphalosporinase de haut niveau (CHN) **»** a été observé chez 09 isolats sur la totalité des Entérobactéries étudiés. Ce phénotype de résistance a été confirmé la restauration de l'activité des céphalosporines de 3éme génération et l'apparition d'image de synergie en présence de concentration définie de la cloxacilline .

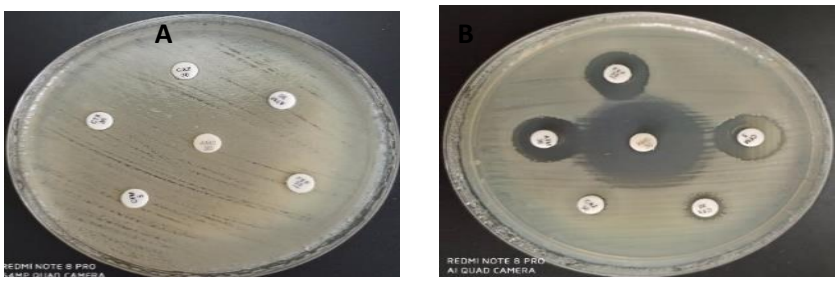


Figure 62 :résultat du test à la Cloxacillin pour une souche de K. pneumoniae A : milieu MH / B : milieu MH+cloxacilline

7.1.Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction d'espèce

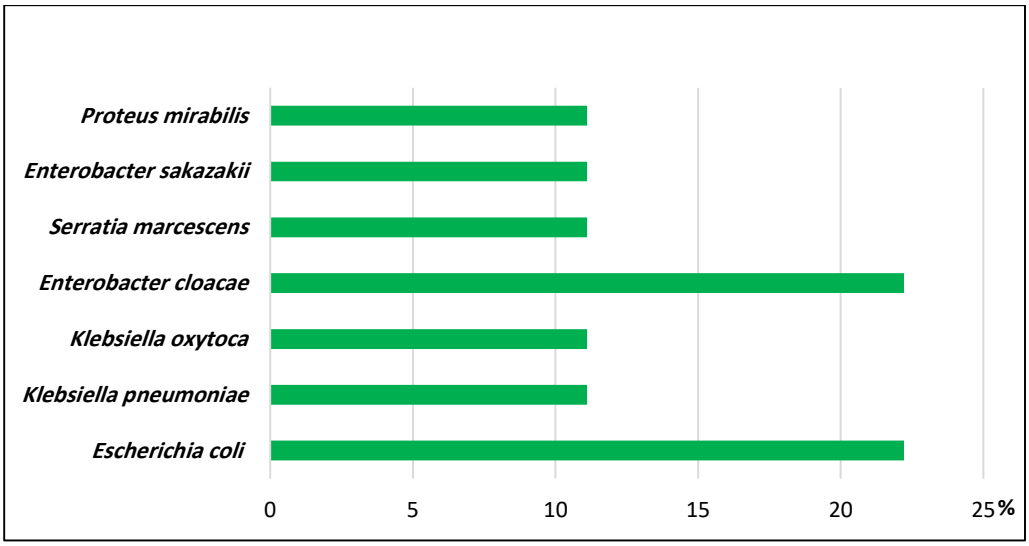


Figure 63 : Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction d'espèce

L'espèce majoritaire des Entérobactéries produisant une CHN est d'*E. coli 22,22%* (n= 02), suivie de *E. cloacae*22,22% (n= 02), *K. pneumoniae*11,11% (n=01), *Klebsiella oxytoca* 11,11% *(n=01), Serratia marcescens* 11,11% *(n= 1), et Enterobacter sakazakii*11,11% *(n= 1) et Proteus mirabilis* 11,11% *(n= 1).*Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus par **O. Belmonte et al**, révélant uneprédominance d'E. *cloacae* et avec ceux élaborés par**C. Bourigault et** al, qui a évoqué une prédominance chez E.*coli* (30 %) (**Belmonte et al., 2010 ; Bourigault et al., 2013).**

7.2.Répartition globale des souches d'Entérobactéries-CHN :

Le tableau suivant englobe la distribution en fonction de caractéristique socio-démographique des patients infectés par les souches d'entérobactéries productrice de céphalosporinase à haut niveau.

Tableau 25 : Répartition globale des souches E-CHN

Code de souche	Espèces	Age	Sexe	Service
S04	***Escherichia coli***	20	Homme	médcine homme
S28	***Escherichia coli***	33	Femme	Gynécologie
S33	***Klebsiella pneumoniae***	31	Femme	chirurgie femme
S56	***Klebsiella oxytoca***	22	Femme	Gynécologie
S03	***Enterobacter cloacae***	59	Femme	chirurgie femme
S34	***Enterobacter cloacae***	39	Homme	médcine homme
S35	***Serratia marcescens***	57	Femme	hémo-dialyse
S15	***Enterobacter sakazakii***	35	Femme	chirurgie femme
S48	***Proteus mirabilis***	65	Homme	hémo-dialyse

7.2.1. Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction de l'âge

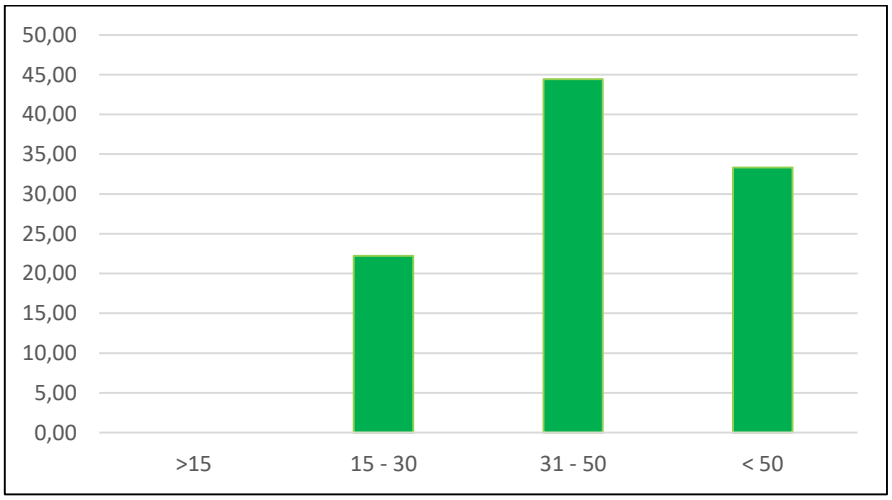


Figure 64 : La rèpartition des souches d'Entèrobactèries CHN en fonction de l'age

45 % des entérobactéries-CHN ont été isolées chez les patients de l'âge entre15 et 30 ans, tandis que les jeunes patients ainsi que les patients âgés présentent des taux nettement plus bas (22 % et 33% successivement).

7.2.2. Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction de sexe

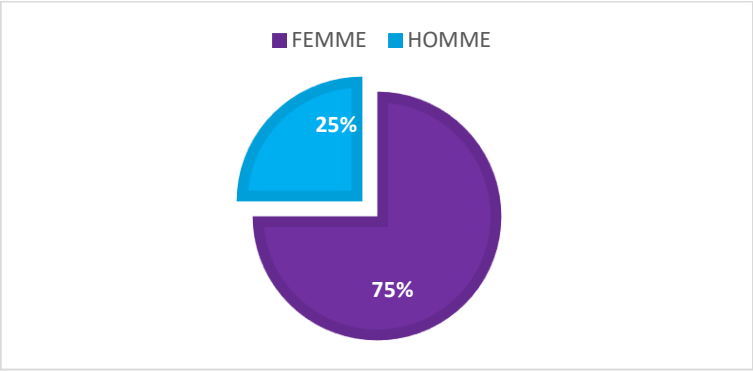


Figure 65 : Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction de sexe de patient

33% des E-CHN sont isolées chez les patients de sexe masculin, avec un sexe ratio égal à0,49.

7.2.3. Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction de service

La majorité des patients infectés étaient des femmes (66,66%), et l'intervalle d'âge de ces patients était de 20 ans à 65 ans. De plus, les patients infectés par ces isolats ont été reçus dans diverses unités médicales à savoir le service de chirurgie femme(33,33%), de Gynécologie(22,22%), de médcine homme (22,22%) et d'hémo-dialyse (22,22%).

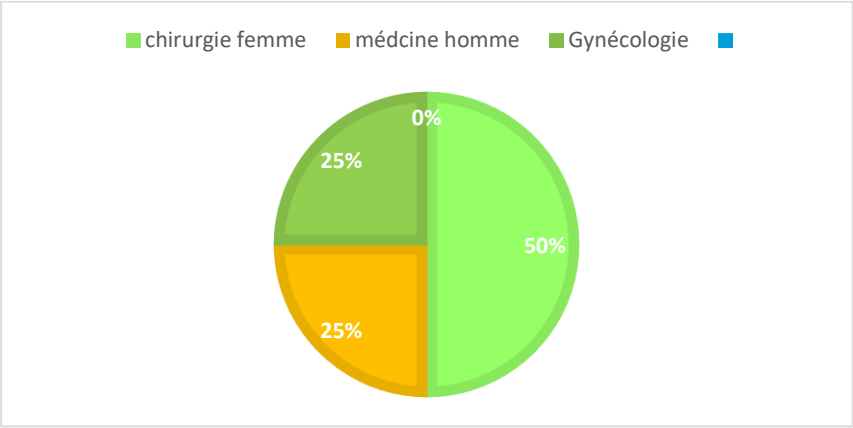


Figure 66 : Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction de service

En vérité, peu d'études étrangères ou nationales ont été intéressées par ce groupe des bactéries, justifiantce fait par leur incidence négligeable devant les E-BLSE, leur caractère chromosomiqueprédominant et par leur fréquence qui prédomine chez les entérobactéries du

groupe 3 qui ontun caractère saprophyte qui ne fait pas craindre une diffusion communautaire**(Arnaud et al., 2012).**

7.3.Sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries CHN

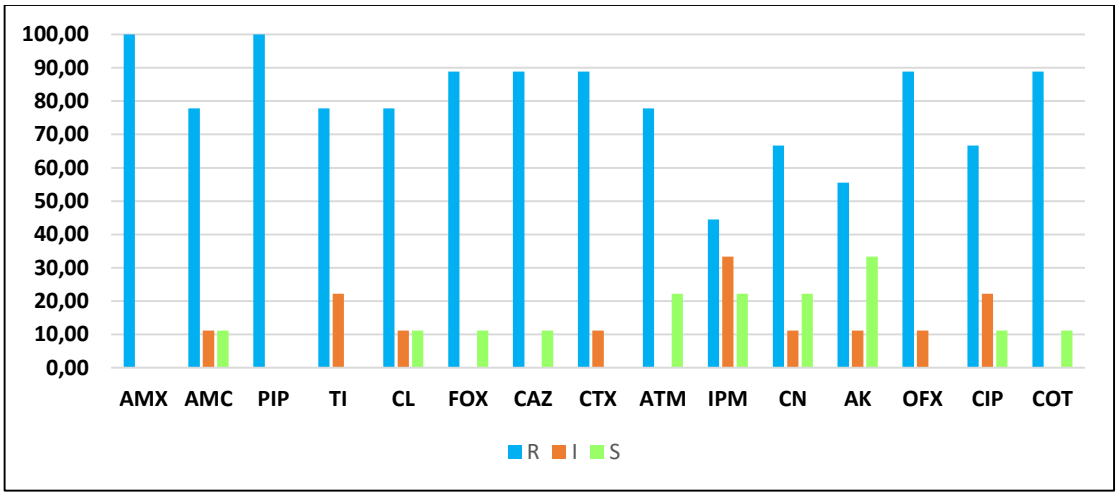


Figure 67 : Profil de sensibilité des souches testé des Entérobactéries productrice de CHNaux différents antibiotiques testés.

Selon la figure au-dessus, les taux de résistance enregistré avec la plupart antibiotiques testé. On note alors une augmentation de la résistance par rapport au taux trouvé chez les E-BLSE au sein de la plupart des espèces d'Entérobactéries-CHN tels que : *E.cloacae, E.coli et K. pneumoniae*. Et ces taux de Co-résistance aux autres classes d'antibiotiques entraînent une limitation de l'option thérapeutique.

8. Détection phénotypiques de la production des Carbapénèmases

8.1.Test Carba NP

Durant l'étude, 7 cas de résistance aux carbapénème ont été signalés chez les entérobactéries(2,7 %). Parmi ces souches seulement 4 isolats ont présenté une production de carbapénèmasececi correspond à une prévalence d'apparition dans l'espèce de 6,89% (4/58 Entérobactéries).**(Tableau 08)**.

Nos résultats pouvant être comparés à ceux d'autres pays grâce aux données du réseau *EARSNet*, notamment ceux rapportés en Malta (3,8 %), Slovaquie (6,3 %). Des taux plus élevés sontenregistrés en Grèce (60,5 %) et en Italie (28,8 %) et d'autres plus bas en France <1 % et enBulgarie (1,9 %)**(*EARSNet, 2012)*.**

Tableau 26 : Résultats du test Carba NP

Résultats	Positif	Négatif	Non interprété	Non testés	Total
Nombre de souches	04	02	01	51	58
Pourcentage	6,89%	3,44%	1,72%	87,93%	100%

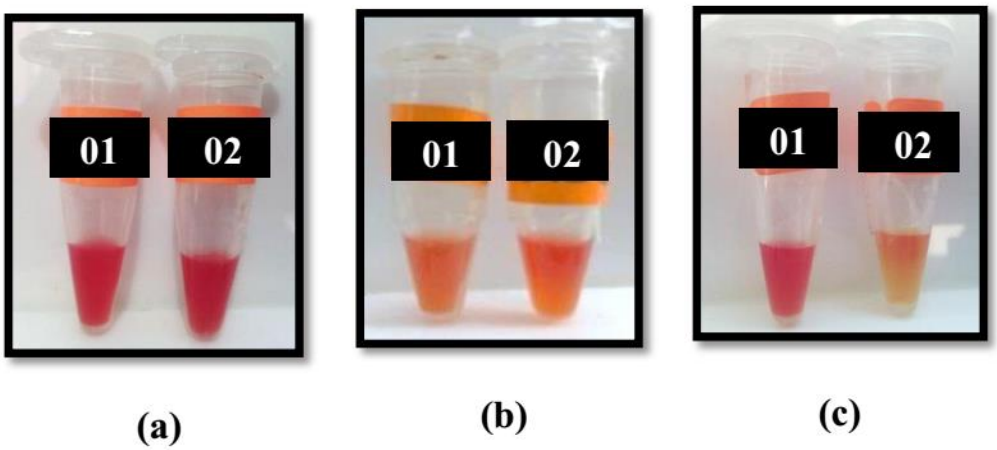


Figure 68: Résultats de test carba NP.

1 : Solution A; **2 :** Solution A + imipénème; **(a) :** tests Carba NP négatif;**(b):**Résultats non interprétables; (**c) :** Carba NPpositifs;

8.2.Répartitionglobale des Entérobactéries productrice de Carbapénèmases

Le tableau N° englobe la distribution des germes d'Entérobactéries productrice de Carbapénèmases responsables d'infection urinaire selon le sexe, l'âge et le service, en prenant en compte les espèces.

Tableau 27 : Répartition globale des souches E-CP

Code de souche	Espèces	Age	Sexe	Service
S04	***Escherichia coli***	20	Homme	Médecine homme
S33	***Klebsiella pneumoniae***	31	Femme	Gynécologie
S56	***Klebsiella oxytoca***	22	Femme	chirurgie femme
S35	***Serratia marcescens***	57	Femme	chirurgie femme

8.2.1. Répartition globale des souches d'entérobactéries productrice de carbapénèmas selon le sexe

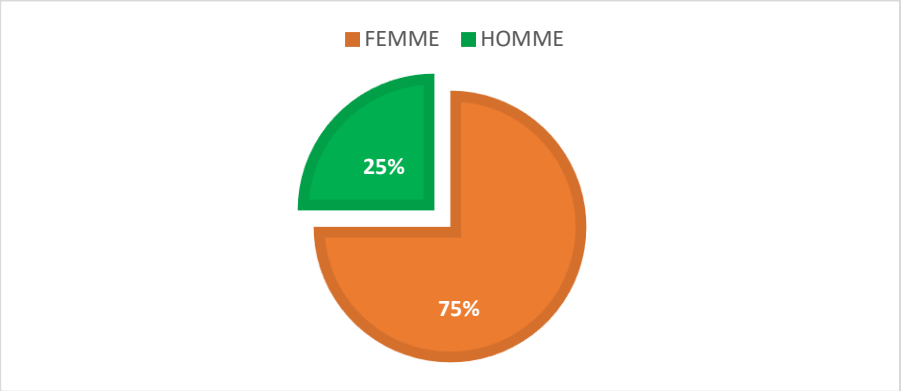


Figure 69 : Répartition globale des souches E-CP selon le sexe

8.2.2. Répartition globale des souches d'entérobactéries productrice de carbapénèmas selon l'âge

Selon le tableau da la répartition globale des souches d'E-CP, les quatre souches productrices de Carbapénèmase ont été isolées dans étude à partir des patients âgés de 20 à 57 ans.

8.2.3. Répartition globale des souches d'entérobactéries productrice de carbapénèmas selon le service

D'une autre part, l'analyse des profils cliniques des patients inclus dans notre étude révèle que certains services hospitaliers sont apparus plus concernés par le problème de résistance liée à la production de carbapénèmase (CP) notamment les services de chirurgie femme, de médecine homme et le service de gynécologie. Comme le montre dans la figure suivante.

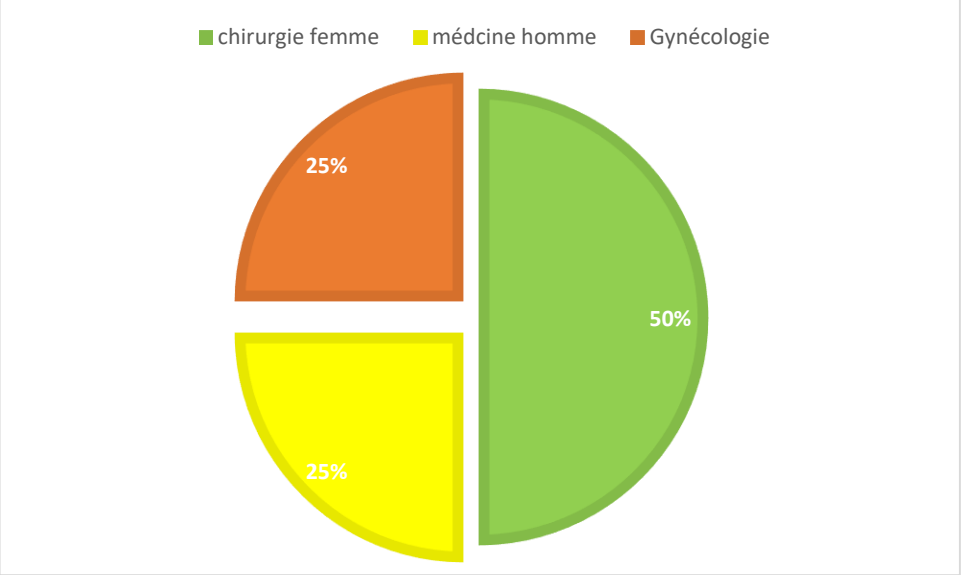


Figure 70 : Répartition globale des souches d'entérobactéries productrice de carbapénèmas selon le service

8.3. Profil de résistances globales des EPC aux antibiotiques

L'analyse du spectre de sensibilité et de résistance des souches d'Entérobactéries sécrétrices de Carbapénèmase aux antibiotiques testés, montre que la majorité de nos souches étaient résistantes à a l'Imipénème (75%). Cette résistance aux Carbapénèmes avait été associée à une résistance à la majorité des bêta-lactamines testés tell que l'Amoxicillin (100%),la pipéracilline (100%), , la ticarcilline (100%), la céftazidime (100%), lacéfotaxime (100 %), l'aztréonam (75 %), la céfalexine (75 %)et les pénicillines associée aux inhibiteurs des bêta-lactamase comme l'Amoxicillin + acide clavulanique (100%). Cependant, la résistance de ces souches à l'Amikacine, à la Gentamicine et a été de (75%)respectivement. En outre, les souches d'CPE à enregistré également des taux de corésistance très élevés vis-à-vis à la ciprofloxacine (100%), à l'Ofloxacine (75%), et à la cotrimoxazole (100%).Ces taux de résistances associées aux autres familles des antibiotiques sont très élevés évoquant même l'impasse thérapeutique dans deux cas ou la colistine est la seule molécule active sur ces souches justifiant ainsi la dénomination « bactéries hautement résistantes aux antibiotiques ».

Tableau 28 : Profil de sensibilité des souches testé des Entérobactéries productrice de CPaux différents antibiotiques testés.

Antibiotique	Nbr de souches (Pourcentage des souches)					
	Résistante		Intermédiaire		Sensible	
	Effective	%	Effective	%	Effective	%
AMX	4	100	0	0	0	0
AMC	4	100	0	0	0	0
PIP	4	100	0	0	0	0
TI	4	100	0	0	0	0
CL	3	75	1	25	0	0
FOX	4	100	0	0	0	0
CAZ	4	100	0	0	0	0
CTX	4	100	0	0	0	0
ATM	3	75	0	0	0	0
IPM	3	75	1	25	0	0
CN	3	75	0	0	1	25
AK	3	75	1	25	0	0
OFX	4	100	0	0	0	0
CIP	3	75	1	25	0	0
COT	4	100	0	0	0	0

Conclusion et perspectives :

Cette étude est la première à notre connaissance qui porte sur l'émergence des souches d'entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE) dans la région de Médéa jusque là relativement épargnée par ce phénomène, où la prévalence de ces souches semble augmentée d'année en année.

La prévalence des entérobactéries productrices de BLSE est assez importante en milieu hospitalier; avec une prédominance de souches *Escherichia coli* (31%), suivis *Klebsiella pneumoniae* (17%), *Enterobacter cloacae* (14%).

Les entérobactéries productrices de BLSE sont très dispersées dans le temps et les services.

De plus, la majorité de ces souches EBLSE présentent des niveaux de résistance élevés, à la plupart des β-lactamines sauf l'imipenème qui reste actif sur toutes les souches étudiées.

En revanche, il est à noter des co-résistances fréquentes ont remarqué aux aminosides, fluoroquinolones, quinolones et au triméthoprime–sulfamethoxazole.

Cependant, la plupart des patients identifiés comme porteurs d'EBLSE dans l'Hôpital présentent certains facteurs de risque, qui sont: sexe, l'âge, service, …..

La caractérisation de BLSE a montré la prédominance des résistance croisées qui ont ètait observées avec les autres famille d'antibiotique comme le Cotrimoxazole (93,10%), la Ciprofloxacine (72,41%), l'Ofloxacine (65,52%), la Gentamycine (62,07%) et l'Amikacine (37,93%) .

Pour la première fois, en Algérie, nous rapportons l'émergence de souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de céphalosporinase plasmidique de type DHA-1 dans l'Hôpital, avec une prévalence de 11,11%.

Au vu de l'ensemble des résultats obtenus au cours de cette étude, nous souhaitons donc avoir la possibilité de poursuivre ces travaux fondamentaux, afin de contribuer à une meilleure compréhension des phénomènes de résistance bactérienne aux antibiotiques, et de parvenir à en maîtriser plusefficacement les conséquences.

En conclusion, la diffusion de souches multi-résistantes, d'entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE) et de céphalosporinase plasmidique dans nos hôpitaux constitue une menace de santé publique, réduisant de manière importante les alternatives thérapeutiques pour le traitement des infections sévères.

Pour cela, l'émergence de ces souches permet de rappeler qu'il est évidemment nécessaire d'être attentif aux divers types de souches qui circulent dans nos hôpitaux. La gestion du

risque infectieux que représente la diffusion de souches multi-résistantes exige une collaboration étroite entre les différents acteurs de santés concernés (Médecins cliniciens, Infectiologues, Bactériologistes, Hygiénistes, Personnels soignants…).

Des mesures d'hygiène strictes restent indispensables au sein des services pour limiter la diffusion de ces souches multi-résistantes, on note : L'hygiène des mains, tenue de protection, port de gants, gestion du matériel et des surfaces souillées, circuit du linge, des déchets et des prélèvements biologiques, la détection précoce des porteurs lors de leur admission à l'hôpital et le renforcement des mesures d'hygiène autour des patients porteurs (application des précautions contact).

En fin, la lutte contre l'émergence et la diffusion de ces souches multi-résistantes aux antibiotiques passe enfin par une meilleure et moindre utilisation des antibiotiques.

En effet, une politique d'antibiothérapie justifiée et/ou d'une restriction dans la prescription des céphalosporines de troisième génération et même de toutes les céphalosporines conduisent à une diminution significative de la fréquence de BLSE.

Références bibliographiques

- Ambler, R.P. 1980. The structure of β-lactamases. Phil Trans R Soc Lond Biol Sci. 289: 321-331.
- Bandoh, K., Muto, Y., Watanabe, K., Katoh, N., and Ueno, K. 1991. Biochemical properties and purification of metallo-B-lactamase from Bacteroïdes fragiIis. Antimicrob. Agents Chemother. 35(2): 371-372.
- Abraham, E.P., and Chain, E. 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Nature. 146: 837.
- Ambler, R.P., Coulson, A.F.W., Frére, J.M., Ghuysen, J.M., Joris, B., Forsman, M.,
- Ayad A. (2017). Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Tlemcen à : Université Abou Bekr Belkaid, 147p. (Consulté le12/05/2019).
- Barrial K, et Scotet J. (2005). Classification raisonnée des β-lactamases chez les bacilles à Gram négatif, Perspectives d'évolution. Encadrement : Dr Sylvestre TIGAUD. DES BACTERIOLOGIE, Semestre Hiver. 05(06) : 1-18. Enzymes. Antimicrob Agents Chemother. 48 :1-14
- Battraud P. (2017). La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ? Thèse de Doctorat : Pharmacie. Lille à : Université de Lille 2, 128p. (Consulté le 12/05/2019).
- Bonnet R. (2006). β-lactamines et entérobactéries. Chapitre 15. Livre antibiogramme. Paris. ESKA : 2éme édition .143 p.
- Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 1-4.
- Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 933-51.
- Bradford, P.A. 1999. Automated thermal cycling is superior to traditional methods for nucleotide sequencing of blaSHV genes. Antimicrob. Agents Chemother. 43: 2960-2963.
- Bryskier, A. 1999. Evolution de la chimiothérapie antibactérienne. Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Ellipses Ed. Paris. 747.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995;39 (6): 1211–33.
- C. Doit, P. Mariani-Kurkdjian, E. Bingen. Entérobactéries productrices de béta lactamase a spectre étendu. s.l. : Elsevier Masson SAS, 2010.
- Cantón R, Coque TM. The CTX-M β-lactamase pandemic. Curr Opin Microbiol 2006; 9: 466-75.
- Carl S. La Résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. Le parrainage des antimicrobiennes. Le parrainage des antimicrobiens. 2009, vol. 42, p.6-2.
- Cavallo, J.D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., and Garrabé, E. 2004. Bêtalactamines. EMC-Maladies infectieuses. 1: 129-202.

Référence bibliographique

- Charlier, P., Coyette, J., Dehareng, D., Dive, G., Duez, C., Dusart, J., Fonzé, E., Fraipont, C., Frère, J.M., Galleni, M., Goffin, C., Joris, B., Lamotte-Brasseur, J., and Nguyen-Distèche, M. 1998. Résistance bactérienne aux β-lactamines. Synthèse. médecine/sciences. 14 : 544-555.
- D. Vodovar, G. Marcadé, L. Raskine, I. Malissin, B. Mégarbane. Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mésures de prévention. Paris : Elsevier Masson SAS, 2013.
- D. Vodovar, G. Marcadé, L. Raskine, I. Malissin, B. Mégarbane. Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mésures de prévention. Paris : Elsevier Masson SAS, 2013.
- David M Livermore. "Bacterial Resistance: Origins, Epidemiology, and Impact,"Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases EL BOUAMRI MOHAMED CHRIF -135-Society of America 36, no. Suppl 1 (January 15, 2003): S11–23.
- Dbaibo, G.S. 2000. Old and new targets of antibacterial therapy. *Leb Med J*. 48: 177-181
- De Wals PY. (2007). Analyses mutationnelles et cinétiques de la β-lactamase TEM-1 d'Escherichia coli vers une meilleure compréhension du phénomène de résistance aux antibiotiques. Département de biochimie. Faculté de médecine. Université de Montréal.
- Denis F. et Ploy MC. (2007). Bactériologie médicale : techniques usuelles. Elsevier Masson. 316-318.
- Doi Y, Wachino JI, Ishiguro M, Kurokawa H, Yamane K, Shibata N, Shibayama K,Yokoyama K, Kato H, Yagi T, Arakawa Y. (2004). Inhibitor sensitive AmpCβ-lactamase variant produced by an Escherichia coli clinical isolate resistant to oxyiminocephalosporins and cephamycins. Antimicrob Agents Chemother. 48 : 2652-2658 .
- Fisher, J.F., Meroueh, S.O., and Mobashery, S. 2005. Bacterial resistance to beta lactamantibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *Chem Rev*. 105: 395-424.
- Galleni M, Lamotte-Brasseur J, Rossolini GM, Spencer J, Dideberg O, Frère JM.(2001). The metallo- β-lactamase working group. Standard numbering scheme for class B βlactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 45 : 660-66 .
- Gautier V. (2007). Caractérisation et expression des gènes codant pour les β-lactamases chromosomiques au sein des entérobactéries de l'environnement. Ecole pratique des hautes études Sciences de la Vie et de la Terre. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes.
- Ghuysen, J.M. 1991. Serine beta-lactamases and penicillin-binding proteins. *Annu Rev Microbiol*. 45: 37-67.
- Gootz, T.D. 1990. Discovery and development of new antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 3(1): 13-31.
- Hardman, J.G., and Limbird, L.E. 1998. Les bases pharmacologiques de l'utilisation des medicaments, 9th edition. Nieuwegein, Pays-Bas, Mc Graw-Hill. 1069-1098.
- Hnich H. (2017). La résistance bactérienne : mécanismes et méthodes de détection au laboratoire. Thèse de Doctorat : Médecine. Maroc à : Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, 39p. (Consulté le 12/03/2019).

Référence bibliographique

- https://microbiologie-clinique.com/Enterobacteries-resistance-beta-lactamines.html
- https://pharmacomedicale.org/images/site/LOGO_internet_bordeaux_mini.png
- Jaurin, B., and Grundstrom, T. 1981. ampC cephalosporinase of Escherichia coli K12 has a different evolutionary origin from that of β-lactamases of the penicillinase type. Proc Nat1 Acad Sci. USA. 78(8): 4897-4901 .
- Kumar, A., and Schweizer, H.P. 2005. Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. Adv Drug Delivery Rev. 57: 1486-1513.
- Lagha N. Étude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat .Thèse de doctorat. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, 2015, 105 p.
- Lavigne J-P, Sotto A, Merle C. Résistance enzymatique d'Escherichia coli aux □-lactamines et prévalence en clinique. Pathologie Biologie. 2002, vol.50, n˚6, p. 388-393.
- Le Noc, P. 1999. Monobactames in Antibiotiques agents antibactériens et antifongiques. Ed Ellipses. 374-391.
- Leclerc H, Gaillard JP, Simonet M. (1995). Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Edition Doin, Paris. 535 p.
- Leclerc H. (1981). Microbiologie générale. DOIN.184 – 209 p.
- Levesque, R.C., Tiraby, A., and Waley, S.G. 1991. A standard numbering scheme for the class A β-lactamases. Biochem. J. 276: 269-270.
- Limbert, M., Isert, D., Klesel, N., Markus, A., Seeger, K., and Seibert, G. 1991. Antibacterial activities in vitro and in vivo and pharmacokinetics of Cefquinome (HR111V), a new broad spectrum cephalosporin. Antimicrob. Agents Chemother. 35(1) : 14-19.
- Livermore DM. (1995). β-lactamase mediated resistance: past, present and future. J Infect Dis Soc. 6: 75-83.
- Livermore, DM. 2003. "Bacterial Resistance: Origins, Epidemiology, and Impact," An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 36(1): 11– 23.
- Livermore, DM. 2003. "Bacterial Resistance: Origins, Epidemiology, and Impact," An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 36(1): 11–23.
- Matagne, A., Lamotte-Brasseur, J., and Frere, J.M. 1998. Catalytic properties of class A betalactamases: efficiency and diversity. *Biochem J*. 330(2): 581-598.
- Nanninga, N. 1991. Cell division and peptidoglycan assembly in *Escherichia coli. Mol Microbiol*. 5: 791-795.
- Ndir A. (2015). Epidémiologie et impact médico-économique des infections hospitalières causées par les entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu au Sénégal. Thèse de Doctorat : Epidémiologie. Sénégal à : Université Pierre et Marie Curie, 135p. (Consulté le 10/12/2018).
- Paterson DL, Bonomo RA. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases. A clinical update. Clin Microbiol Rev. 18 : 657-86.
- Peleg AY, Hooper DC. (2010) Hospital-acquired infections due to Gram-negative bacteria. The New England Journal of Medicine. 362 (19) : 1804-1813.
- Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. (2002). Plasmid-determined AmpC-type β- lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 46 : 1-11.

Référence bibliographique

- Philippon A, et Arlet G. (2006). β-lactamases de bacilles à Gram négative : le mouvement perpétuel. Ann Biol Clin. 64 (1) : 37-51.
- Philippon A, Labia R, Jacoby JA. (1989). Extended-spectrumβ-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 33 : 1131-1136.
- Philippon A. (2005). ß-lactamases: généralités. Université Paris V - Faculté de Médecine Descartes, Service de Bactériologie - 75014 PARIS. Sur le lien : www.microbesedu.org/mecanisme/bla/generalites.html - 63k.
- Philippon A. Entérobactéries des bêtalactamines. *Biologie clinique*. 2008, p. 1-18.
- Philippon. REVUES GÉNÉRALES ET ANALYSES PROSPECTIVES ; Les bêtalactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE). Paris : Immuno-analyse et biologie spécialisée ; Elsevier Masson SAS, 2013.
- Poole K. (2004). Resistance to β-lactam antibiotics. Cellular and Molecular Life Sciences. 61: 2200-2223.
- Ruppé E. Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. Antibiotiques.2010, vol.12, p. 3-16.
- Shah AA, Hasan F, Ahmed S. et Abdul H. (2004). Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram-negative bacilli producing extended spectrum β-lactamases. Microbiology Research Laboratory.Department of Biological Sciences. Quaid-iAzam University. Islamabad. Pakistan. Research in Microbiology. 155 : 4 .
- Sougakoff W. et Trystram D. (2003). Résistances aux β-lactamines. Service de Bactériologie-Hygiène -Pitié-Salpêtrière. Faculté de médecine. Université Pierre et Marie Curie. France. 78P.
- Souna,DM (2011) Epidèmiologie de l'antibiorèsistance des èntèrobactèries au CHU de sidi bel Abbes. Thèse de Magistère en biologie,Algèrie,148.
- Stratton, C.W. 2000. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Leb Med J*; 48:186-198.
- Sylvie-Carle. (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. Pharmactuel. 42 : 6-21.
- Thomson, K.S., and Moland, E.S. 2000: the new β-lactamases of Gram negative bacteria at the dawn of the new millennium. Microbes Infect. 2: 1225–1235.
- Tidwell, ThomasT., « Hugo (Ugo) Schiff, Schiff Bases, and a Century of β-Lactam Synthesis », *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 47, 2008, p. 1016 (DOI 10.1002/anie.200702965)
- Touati A, Benallaoua S, Forte D, Madoux J, Brasme L et De Champs C. (2006). First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta –lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae in Bejaia, Algeria. Antimicrobial Agents Journal. 27 : 397-402 .
- Vasseur M. (2014). Détermination de nouvelle modalité d'utilisation des bêtalactamines en médicine vétérinaire par approche PK/PD en vue de protection de la santé: implication de la taille de la charge bactérienne pathogène. Thèse de Doctorat : Pharmacologie. Toulouse à : Université Toulouse, 239p. (Consulté le 01/06/2019).
- Vedel G. (1998). Lecture interprétative de l'antibiogramme (interprétation phénotypique). In outil d'investigation microbiologique en réanimation. Edition Arnette. 183-188 p.

Référence bibliographique

- Vidon O et Bourdin C. (2005). β-lactamases à spectre étendu (BLSE). Intérêt porté aux CTX-M. sur le lien : umr5558-mq1.univlyon1. fr/.../Béta Lactamases Spectre Etendu ? .
- Vora, S., and Auckenthaler, R. 2009. Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique?. Rev Med Suisse. 5: 1991-1994.
- Yousfi K.Essai de caractérisation biochimique d'un mécanisme de résistance par β-lactamases d'une souche hospitalière d'*Acinetobacter baumannii*.Mémoire de Magister en Microbiologie Appliquée :Université Abderrahmane MIRA de Bejaia, 2010, 61 p.
- Zomahoun C. I. N. P. (2004). Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du Références bibliographiques centre national hospitalier universitaire – HUBERT KOUTOUKOU MAGA (C.N.H.U.-H.K.M.) DE COTONOU. Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie.