



A mon père hakim et ma mère hafida

Symbole de reconnaissance et de remerciement sur tout ce qu'ils m'ont donné dans ma vie et leur exprime ma profonde gratitude pour leur soutien moral et financier ainsi que pour leurs encouragements durant tout mon parcours vers un avenir meilleur, je dédie ce travail en gage de mon amour et mon respect les plus profonds. Puisse Dieu te préserver et faire de moi une fille à la hauteur de ton espérance. Puisse Dieu tout puissant t'accorder longue vie, santé, bonheur pour que notre vie soit illuminée pour toujours.

Très chère soeur est ces enfants mounia et aness et mes très chères frères :,ayoub,youness

Merci pour votre présence, J'espère avoir été à la hauteur de vos estime et que ce travail soit un témoignage de mes sentiments les plus chers que j'ai pour vous et représente le bon modèle pour vous. Que DIEU vous garde et vous guide toute la vie.

A mes grands-pères et grands mère :mohamed ,messouda,djemiaa,chabaan et A toutes la famille bouzida,ouchefoune

Aucun mot ne pourra exprimer l'amour et le respect que j'éprouve pour vous, je vous remercie pour votre soutien et vos prières qui m'ont toujours apporté soutien moral et affectif lors des épreuves difficiles de ma vie scolaire.

Puisse Dieu le tout puissant vous accorder bonne santé, prospérité et bonheur.

A Tous les membres de la famille bouzida et ouchefoune

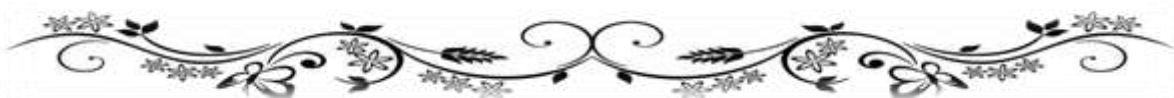
Ce travail est le vôtre. Il est le fruit des liens sacrés qui nous unissent. Retrouvez ici l'expression de mes sentiments les plus sincères.

A mes amis : Ilhem, Fatima zohra, Ikram *Merci pour votre conseil et votre aide. Que Dieu vous bénisse et vous protège.*

A mon binôme Samira, *avec laquelle j'ai partagé de très bons moments au laboratoire et je lui souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.*

Enfin *merci A tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.*

B.Ahlem



Résumé

La surveillance de la sensibilité aux antibiotiques à l'hôpital est une étape essentielle, elle oriente le choix des traitements empiriques et permet de réduire la pression de sélection exercée par les antibiotiques.

Le but de cette étude est d'isoler et identifier les souches productrices de β -lactamase, l'étude de leurs sensibilité aux différentes antibiotiques et leur prévalence.

Au cours de cette étude qui s'est déroulée dans l'EPH de Koléa « Fares Yahia » nous avons recueilli 1212 prélèvements de pus et d'urine, au total 179 souches ont été isolées et identifiées, dont 131 sont des entérobactéries et 24 sont des *Staphylococcus aureus*.

Les résultats issus de cette étude ont montré une prévalence importante des souches d'entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (21%) et une prévalence très élevée de la production de pénicillinase chez les souches de *S.aureus* (87%) . les souches productrices de BLSE sont réparties comme suit: 12 *Escherichia coli*, 9 *Klebsiella pneumoniae*, une souche de *Klebsiella oxytoca* ,5 *Enterobacter* spp, une souche de *Proteus rettgeri*, une souche de *Morganella morganii* et une souche de *Serratia* spp.

La résistance vis-à-vis de différentes antibiotiques a révélé l'émergence des souches d'entérobactéries productrices de BLSE résistantes aux β -lactamines et à la majorité des autres classes d'antibiotiques sauf pour l'Imipénème, l'Amikacine et la Gentamycine soit 100% des souches sensibles.

D'autre part, les souches *S.aureus* ont exprimé un niveau de résistance inacceptable, ont également manifesté une multirésistance, caractérisée par l'apparition d'une résistance à la vancomycine (5%).

Mots clés : β -lactamines, Entérobactéries, *Staphylococcus aureus*, β -lactamase, Multirésistance.

ملخص

ان مراقبة الحساسية للمضادات الحيوية في المستشفى هي خطوة ضرورية، فإنها توجه اختيار العلاج المناسب، وتقلل من مقاومة البكتيريا الناتجة عن الاستعمال المفرط والعشوائي للمضادات الحيوية. الغرض من هذه الدراسة هو عزل وتحديد السلالات المنتجة للبيتاكتاماز (β -lactamase) ودراسة حساسيتها للمضادات الحيوية المختلفة وانتشارها.

وخلال هذه الدراسة، التي وقعت في مستشفى "فارس يحيى" بالقلعة جمعنا 1212 عينة بول وصيد ، وتم عزل ما مجموعه 179 سلالة والتي تم تحديدها، منها 131 بكتيريا معوية (entérobactéries) و 24 من *Staphylococcus aureus*

وأظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع معدل انتشار سلالات البكتيريا المعوية المنتجة للبيتاكتاماز (21%) ونسبة عالية جدا من إنتاج البنسليناز في سلالات من بكتيريا المكورة العنقودية الذهبية (87%). وتتوزع السلالات EBLSE المنتجة على النحو التالي: *12 Escherichia coli*, *9 Klebsiella pneumoniae*, *1 Klebsiella oxytoca*, *5 Enterobacter*, *1 Serratia spp* و *Proteus rettgeri*, *1 Morganella morganii*

المقاومة للمضادات الحيوية المختلفة (بيتاكتام، أمينوجليكوزيدات، الكينولون وغيرها) من خلال طريقة نشر الأقرص وفقا لمعايير CA-SFM، كشفت عن ظهور سلالات من entérobactéries المنتجة لل ESBL مع مقاومة معظم الفئات الأخرى من المضادات الحيوية باستثناء إيميبينيم، وأميكاسين وجنتاميسين 100% سلالات حساسة. من ناحية أخرى، أعرب سلالات بكتيريا المكورة العنقودية البرتقالية مستوى غير مقبول من المقاومة، وأعرب أيضا عن المقاومة للأدوية المتعددة، يتميز بظهور المقاومة للفانكوميسين (5%).

الكلمات المفتاحية: بيتا لاكتاماز ، المضادات الحيوية بيتا لاكتام، البكتيريا المعوية، المكورات العنقودية الذهبية ،

Multiresistance

Liste des figures

Figure 1 : Différents sites d'action des classes d'antibiotiques.....	4
Figure 2 : Représentation des principales classes de β -lactamines obtenues par substitution ou fixation d'hétérocycles à partir du noyau b-lactame	8
Figure 3 : Mécanisme d'action des β -lactamines.	12
Figure 4 : Mécanisme d'inactivation de β -lactamine par l'enzyme β -lactamase.....	14
Figure 5 : Disposition des disques pour le test de synergie.	50
Figure 6 : Présentation de Test de trèfle.....	52
Figure 7 : Répartition des cas positifs, négatifs et contaminés	53
Figure 8 : Répartition des cas positifs selon leurs origines	54
Figure 9 : Répartition des cas positifs selon sexe	55
Figure 10 : Fréquence globale des germes isolés.....	56
Figure 11 : Distribution des germes isolés selon la nature de prélèvement.....	57
Figure 12 : Taux des bacilles à Gram négatif productrices de BLSE	58
Figure 13 : Distribution des BLSE parmi les prélèvements.....	58
Figure 14 : Répartition des germes producteurs de BLSE.....	59
Figure 15 : Pourcentage de résistance des entérobactéries aux différents antibiotiques.....	60
Figure 16 : Taux de résistance d' <i>E.coli</i> aux antibiotiques.....	61
Figure 17 : Profil de résistance de <i>K.pneumoniae</i> aux antibiotiques.....	61
Figure 18 : Profil de résistance d' <i>Enterobacter spp</i> aux antibiotiques.....	62
Figure 19 : Résultat de test de trèfle.....	63
Figure 20 : Taux des souches de <i>S.aureus</i> productrices de pénicillinase.....	64
Figure 21 : Répartition des <i>S.aureus</i> productrices de β -lactamase selon la nature de prélèvement.....	65
Figure 22 : Taux de résistance de <i>S.aureus</i> aux antibiotiques.....	66

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les maladies causées par les Staphylocoques.....	29
Tableau 2 : Principaux milieux de culturesensemencés.....	38
Tableau 3 : Interprétation des situations basées sur le contexte épidémiologique, la présence de signes cliniques, d'une leucocyturie et d'une bactériurie.....	40
Tableau 4 : Taux de résistance des souches productrices de BLSE.....	63
Tableau 5 : Identification biochimique de quelques espèces d'entérobactéries.....	109
Tableau 6 : Lecture de la galerie Api20E.....	110
Tableau 7 : Valeurs critiques des diamètres d'inhibition pour les entérobactéries.....	111
Tableau 8 : Valeurs critiques des diamètres d'inhibition pour <i>S. aureus</i>	112
Tableau 9 : Répartition des cas positifs selon sexe.....	113
Tableau 10 : Résultats de la coloration de Gram.....	113
Tableau 11 : Fréquence globale des germes isolés.....	113
Tableau 12 : Distribution des germes isolés selon la nature de prélèvement.....	113
Tableau 13 : Répartition de 131 souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce.....	114
Tableau 14 : Répartition des BLSE selon la provenance.....	114
Tableau 15 : Fréquence des <i>S.aureus</i> productrices de β -lactamase selon leur origine.....	114
Tableau 16 : Répartition des <i>S.aureus</i> productrices de β -lactamase selon la nature de prélèvement	114



Liste des abréviations

- **spp.** : espèce
- **ATB** : Antibiotique
- **C3G** : Céphalosporine de 3ème génération
- **BLSE** : β -lactamase à spectre étendu
- **K.p.** : *Klebsiella pneumoniae*
- **E.coli**: *Escherichia coli*
- **MH** : Muller – Hinton
- **DNase** : Désoxyribonucléase
- **ONPG** : Orthonitrophényl- β -D-galactopyrannoside
- **C1G** : Céphalosporine de 1ere génération
- **C2G** : Céphalosporine de 2eme génération
- **C3G** : Céphalosporine de 3eme génération
- **C4G** : Céphalosporine de 4eme génération
- **TEM** : TEMoneira- nom du patient
- **SHV** : SulfHydryl Variable
- **EDTA** : acide éthylène diamine tétraacétique
- **BGN** : bacille Gram négatif
- **CGP** : cocci Gram positif
- **CA-SFM** : Comité de l'Antibiogramme-Société Française de Microbiologie
- **CHU** : centre hospitalier universitaire
- **KEHS** : groupe Klebsiella, Enterobacter, Hafnia et Serratia
- **OXA** : Oxacillinase
- **PASE** : pénicillinase
- **H₂S** : sulfure d'hydrogène
- **UFC** : unité formant cellule
- **H** : heure
- **m** : mètre
- **nm** : nano-mètre
- **mn** : minutes
- **mm** : milli-mètre
- **M** : molaire
- **g** : gramme

Sommaire

Liste des figures.....	I
Liste des tableaux.....	II
Liste des abréviations.....	III
Résumé.....	VI

Introduction	1
---------------------------	---

Partie 1 : Partie bibliographique

Chapitre I : L'antibiorésistance bactérienne

I. Généralités	3
1. Les antibiotiques	3
2. Notion de la résistance bactérienne	4
2.1. Types de résistance	4
2.2. Mécanismes biochimique de la résistance bactérienne	6
II. Les β-lactamines	7
1. Définition	7
2. Historique	7
3. Classification des β-lactamines	8
4. Mode d'action des β-lactamines	11
4.1. Pénétration de β-lactamine	12
4.2. Cible des β-lactamine	12
5. Mécanismes de résistance aux β-lactamines	13
III. Les β-lactamases	13
1. Définition	13
2. Mode d'action	13
3. Classification des β-lactamase	14

IV. Les β -lactamases à spectre élargi (BLSE)	15
1. Définition.....	15
2. Facteurs de risque.....	16
4. Epidémiologies des BLSE.....	17

Chapitre II : Les souches productrices de bêta-lactamase

I. Les bacilles à Gram négatif.....	18
1. Les entérobactéries.....	18
1.1. Définition.....	18
1.2. Taxonomie.....	18
1.3. Les caractères bactériologiques.....	19
1.4. Résistance au β -lactamine.....	20
1.5. Principaux genres.....	21
I.2. Bacilles à Gram négatif non fermentants (BGN-NF) :	24
2.1. Classification.....	25
2.2. Mécanisme de résistance aux β -lactamines chez de <i>P. aeruginosa</i>	25
II. Les cocci à Gram positive : <i>Staphylococcus aureus</i>	26
1. Historique.....	26
2. Habitat.....	26
3. Position taxonomique et classification.....	27
4. L'espèce <i>Staphylococcus aureus</i> : agent pathogène.....	27

Partie 2 : Matériel et Méthodes

I. Matériel.....	33
1. Matériel biologique.....	33
2. Matériel non biologique.....	33

II. Méthodes	33
1. Techniques de prélèvements	33
2. Examens bactériologique	35
2.1. Examen macroscopique des prélèvements	35
2.2. Examen microscopique	36
2.3. Examen bactériologique (Mise en culture)	38
2.4. L'identification	40
2.5. L'antibiogramme	47
2.5.1. Méthodes de détection de la β-lactamase	49

Partie 3 : Résultats et discussion

I. Résultats	53
1. Etude statistique des prélèvements	53
1.1. Fréquence d'isolement	53
1.2. Répartition des cas positifs selon leurs origines	54
1.3. Répartition des cas positifs selon le sexe	54
1.4. Résultats de l'identification bactériologique	55
2. Etude statistique des souches productrice de β-lactamases	58
2.1. Taux des bacilles à Gram négatif productrices de β-lactamase à spectre élargie	58
2.2. Distribution des BLSE parmi les prélèvements	58
2.3. Répartition des BLSE selon la provenance	59
2.4. Répartition des BLSE selon l'espèce	59
2.5. Sensibilité des entérobactéries productrices de BLSE aux antibiotiques	60
2.5.1. <i>Escherichia coli</i> BLSE	60
2.5.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE	61
2.5.3. <i>Enterobacter spp</i>	62

2.5.4. Autres souches à BLSE.....	62
3. Etude statistique de la production de β -lactamase chez <i>Staphylococcus aureus</i>	63
3.1. Taux des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> productrices de pénicillinase.....	64
3.2. Fréquence des <i>S.aureus</i> productrices de β -lactamase selon leur origine.....	64
3.3. Répartition des <i>S.aureus</i> productrices de β -lactamase selon la nature de prélèvement.....	64
3.4. Sensibilité aux antibiotiques.....	65
II. Discussion.....	67
Conclusion générale	77
Références bibliographiques	79
Annexes	108

Les antibiotiques sont utilisés dans la lutte contre les infections bactériennes depuis la découverte de la pénicilline en 1929 par Alexander Fleming (**Ben redjeb et al., 2000**). Cependant, leur utilisation massive et répétée a conduit à l'apparition des souches résistantes aux antibiotiques. La diffusion de ces bactéries dans la population sont l'un des phénomènes infectieux majeurs de ces dernières années et constituent un enjeu de santé publique (**Belbel, 2014**). Cette résistance est le résultat d'interactions complexes entre la bactérie d'une part et son environnement d'autre part (**Ben redjeb et al., 2000**).

Les β -lactamines ont été les premiers antibiotiques découverts, ils ont été utilisés pour contrer toutes les maladies infectieuses à partir des années 40. Ils constituent la plus vaste famille d'antibiotiques et la plus utilisée, en raison de leur activité élevée et de leur absence presque totale d'effets secondaires (**Robert, 2013**).

À l'heure actuelle, la production des β -lactamases est le mécanisme de résistance le plus répandu et le plus important des bactéries *vis-à-vis* des β -lactamines (**Gangoue Pieboji, 2007**). Les premières bactéries résistantes ont été identifiées sont les *Staphylococcus aureus* productrices de pénicillinase (**Hall et al., 1998**) et parmi les bactéries les plus fréquentes rencontrées récemment sont les bactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) qui prennent une place de plus en plus importante. Elles ont largement été diffusées dans le monde depuis leur première mise évidence et font l'objet de nombreuses études (**Paterson et Bonomo, 2005**).

Les β -lactamases sont isolées principalement chez les entérobactéries et d'autres agents pathogènes à Gram négatif tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*. Néanmoins, les *Staphylococcus aureus* sont également producteurs.

Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) ne cesse de se renforcer notamment par l'acquisition de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). De nombreuses études relatent la progression continue à l'échelle mondiale de ce type de résistance (**Coque et al., 2008**).

Les BLSE ont été observées dans un premier temps en milieu hospitalier en 1983, chez *Klebsiella pneumoniae* en Allemagne (**Carrer et Nordmann, 2011**). Mais aujourd'hui, la diffusion à grande échelle dans le domaine communautaire de ce type de résistance laisse augurer un problème majeur de santé publique (**Pitout et al., 2005**).

Ces enzymes plasmidiques, confèrent à la bactérie une résistance à toutes les pénicillines, aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération et au moins une céphalosporine de 3^{ème} et 4^{ème} génération ou à l'aztréonam (**Robin et al., 2012**).

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**).

Cette étude vise à isoler et identifier les différentes souches bactériennes à partir des divers prélèvements pathologiques (urine, pus) et tester leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques, afin de détecter les souches productrices des enzymes β -lactamases étudier leur sensibilité.

Nous nous sommes proposé de présenter ce travail en trois parties :

- ✓ Une 1^{ère} partie, est consacrée à un bref rappel sur les antibiotiques notamment les β -lactamines ainsi que les mécanismes de résistance au ces derniers.
- ✓ La 2^{ème} partie, présentera le matériel et les méthodes expérimentales utilisées pour l'analyse de nos souches cliniques isolées.
- ✓ Enfin, la 3^{ème} partie, portera sur l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent.

I. Généralités

1. Les antibiotiques :

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle ou synthétique d'origine microbienne ou synthétisée chimiquement capable d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe (Gogny *et al.*, 2001 ; Morin *et al.*, 2005).

L'action des antibiotiques peut s'exercer sur des structures ou des mécanismes essentiels à la croissance des bactéries «action bactériostatiques» ou à leur survie «action bactéricides».

L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre d'action, plus un antibiotique agit sur des espèces bactériennes différentes, plus son spectre est large. (Guinoiseau, 2010).

Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (Yala *et al.*, 2001).

Les mécanismes d'action des agents antimicrobiens se divisent en fonction de la cible de l'antibiotique, ils peuvent agir sur :

- **La paroi bactérienne** : en inhibant la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane au cours de la multiplication cellulaire (Zeba, 2005).
- **La membrane cellulaire** : en désorganisation sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur.
- **ADN** : certaine famille d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase (Flandrois *et al.*, 1997).
- **Le ribosome**: entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales (Hermann, 2005).
- **Métabolisme** : en agissant entrant qu'antimétabolites bactériens au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries.

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, mode d'action, spectre d'activité, et la nature chimique (Benabbou, 2012).

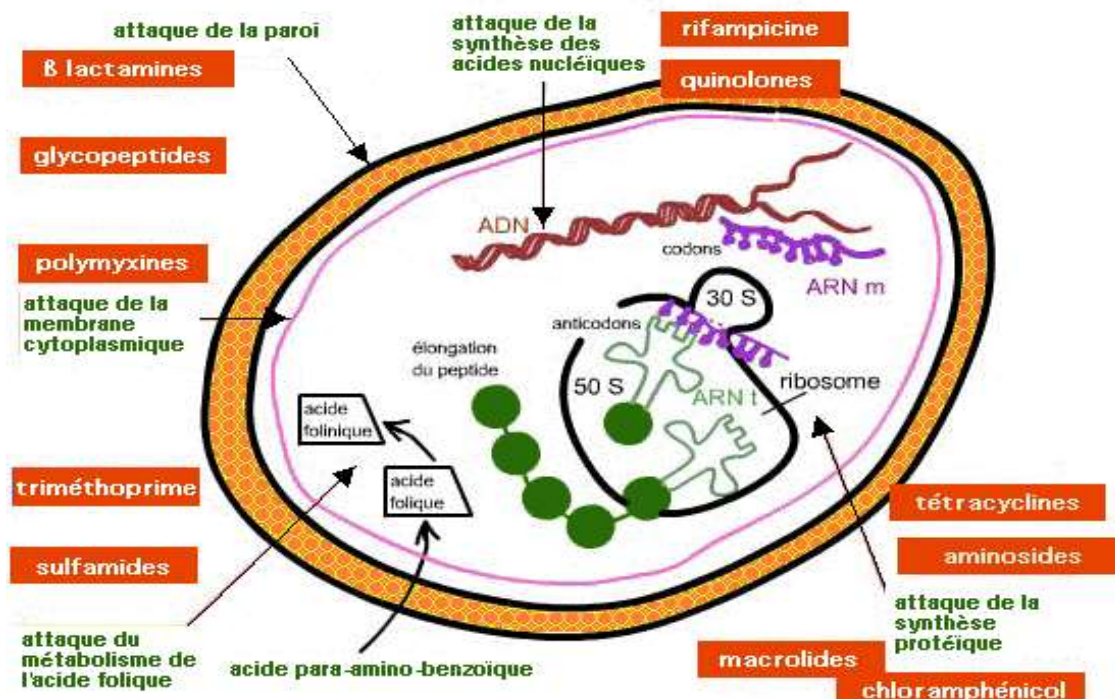


Figure1 : Différents sites d'action des classes d'antibiotiques (Lavigne, 2007).

2. Notion de la résistance bactérienne

Les bactéries ont établi des stratégies de défense et sont donc devenues résistantes aux antibiotiques. Une souche résistante aux antibiotiques définit comme : une souche qui supporte une concentration d'antibiotiques notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce (Robert, 2013).

2.1. Types de résistance

Les bactéries peuvent être résistantes aux certains antibiotiques de manière innée. En plus de ces résistances "naturelles", des modifications génétiques permettent aux certaines souches bactériennes d'échapper à l'action d'antibiotiques auxquels elles sont habituellement sensibles (Gilles, 2004).

Les différents mécanismes peuvent être à l'origine d'une résistance aux antibiotiques naturelle ou acquise (Chassagne, 2012).

A-Résistance naturelle (intrinsèque)

La résistance naturelle est programmée sur le génome et constante à l'intérieur du taxon, elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce (**Diallo, 2013**).

La résistance intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance mais elle n'est pas ou peu transmissible d'une bactérie à l'autre (**Lozniewsk et Rabaud, 2010**).

Dans tous les cas, la résistance naturelle fait partie des caractères normaux de l'espèce, elle détermine le niveau de sensibilité « basal » des bactéries et définit le phénotype sauvage d'une espèce. C'est la résistance de classe. Elle est constitutive et touche toute une famille d'antibiotiques (**Diallo, 2013**).

B-Résistance acquise

Les bactéries peuvent développer une résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques (**Sylvie-Carle, 2009**). La résistance acquise est un caractère qui ne concerne alors que quelques souches d'une espèce donnée. Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien (**Lozniewsk et Rabaud, 2010**).

Cette résistance acquise peut provenir par une mutation chromosomique ou par l'acquisition d'ADN étranger (**Chopra et al., 2003**).

➤ **Résistance par une mutation chromosomique**

C'est un phénomène rare, spontané, Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique. Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes. Elle est transmissible sur un mode vertical. (**Lozniewsk et Rabaud, 2010**).

➤ **Résistance extra-chromosomique**

Principalement due à la présence de trois types d'éléments extra-chromosomiques portant des gènes de résistance : les plasmides, les transposons et les intégrons. Ce type de résistance est transmissible de façon horizontal entre des bactéries phylogéniquement éloignées selon trois modes de transmission (**Diallo, 2013**). Cette résistance étant souvent une multirésistance. (**Lozniewsk et Rabaud, 2010**).

2.2. Mécanismes biochimique de la résistance bactérienne

Les bactéries ont développé différents mécanismes pour contrecarrer l'action des antibiotiques, ces mécanismes peuvent être regroupés en deux grands types :

2.2.1. Mécanismes non enzymatiques

Différents stratégies existent et peuvent être associés :

- **Diminution de la perméabilité** : Une modification qualitative ou quantitative des porines entraîne une diminution de la perméabilité membranaire (**Rodriguez-Martinez et al., 2009**).
- **Modification de la cible** : ce mécanisme de résistance produit une baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action (**Yamashita et al., 2000 ; Pitout et al., 2005**).
- **Pompes à efflux** : L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action par pompage actif de l'antibiotique vers l'extérieur de la bactérie. (**Benabbou, 2012**).

2.2.2. Mécanismes enzymatiques

L'inactivation enzymatique des antibiotiques reste le mécanisme de résistance le plus répandu dans le monde bactérien, l'antibiotique va être modifié ou hydrolysé par une enzyme bactérienne

Parmi les enzymes les plus fréquemment rencontrées, on les enzymes hydrolysant les β -lactamines (**Schmieder et Edwards, 2012**).

II. β - lactamine

1. Définition

Les β -lactamines constituent la famille la plus fréquemment utilisée dans le monde, pour leur large spectre antibactérien, leur activité bactéricide temps-dépendant, leur faible toxicité et le vaste choix de molécules disponibles. Ils ont un effet bactéricide sur les bactéries en voie de croissance (**Ferech et Coenen, 2006 ; Livermore, 1995 ; Vander-Stichele et al., 2006**). Il existe de nombreuses variétés de β -lactamines qui se distinguent par leur spectre d'activité et leurs propriétés pharmacologiques (**Jarlier, 1995 ; Jarlier et Nordman, 2000**).

Les béta-lactamines sont caractérisées par la présence dans la structure du noyau de base du cycle béta-lactame et comptent aujourd'hui plus d'une cinquantaine de produits utilisés en thérapeutique, la plupart obtenus par hémi-synthèse (**Matagne et al., 1999**).

2. Historique

L'histoire des β -lactamines débute dans les années 1930, lors des observations faite par Sir Alexander Fleming sur un agent antibactérien dénommé pénicilline isolé à partir du champignon *Penicillium notatum* (Fleming, 2001).

Ce n'est qu'en 1940 que deux autres chercheurs Florey et Chain, purifièrent la Pénicilline de *Penicillium chrysogenum* (Bryskier, 1996).

le développement de nouveaux antibiotiques connaît un franc ralentissement depuis plus de 10 ans (Rolinson *et al.*, 1998).

3. Classification des β -lactamines

La base commune à toutes les β -lactamines est le noyau β -lactame (Figure2). À partir de ce cycle, quatre sous-familles ont été développées par adjonction de chaînes latérales (Bryskier, 1984).

Toutes ces molécules présentent des caractéristiques communes ainsi que des particularités propres à chaque classe, notamment en termes de spectre antibactérien (Touati, 2013).

A ces quatre sous-familles, il faut ajouter enfin les inhibiteurs des bêta-lactamases qui n'ont pas d'activité antibactérienne intrinsèque mais permettent de prévenir la dégradation de la bêta-lactamine co-administrée (Chemelle, 2013).

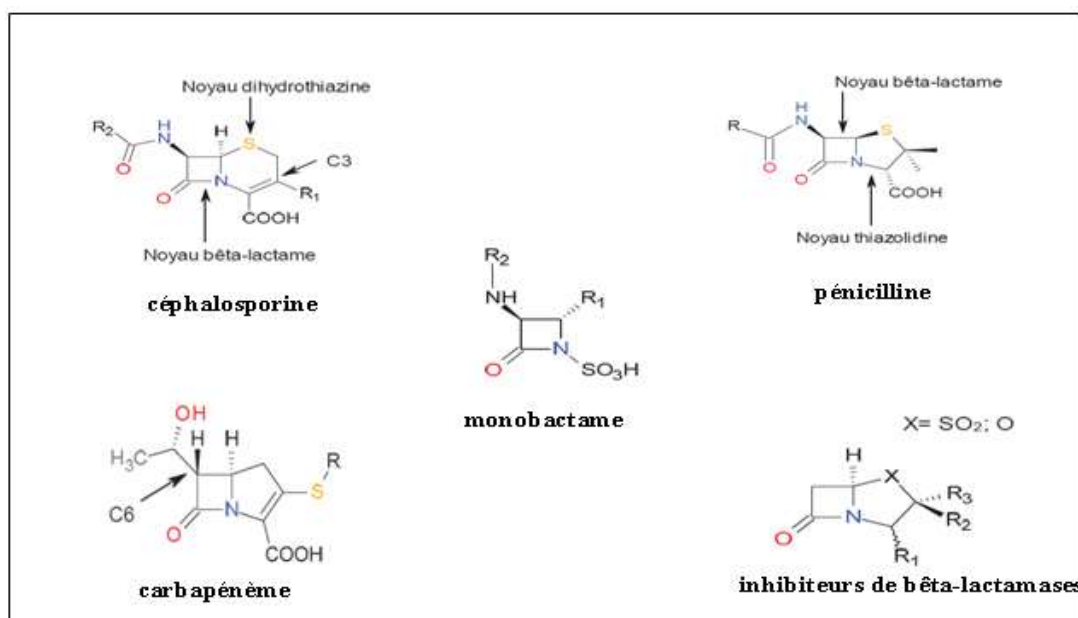


Figure 2 : Représentation des principales classes de β -lactamines obtenues par substitution ou fixation d'hétérocycles à partir du noyau β -lactame (Chemelle, 2013).

3.1. Les pénicillines

Leur noyau de base associe un cycle β -lactame à un cycle thiazolidine, correspondant aux pénicillines et se répartissent en cinq sous-groupes (**Ramoul, 2014**).

➤ **la pénicilline G (benzylpénicilline)**

La pénicilline G a pour spectre d'action les bactéries à Gram positif et les cocci à Gram négatif, à l'exception des souches productrices de pénicillinases (**Bibbal, 2008**).

➤ **la pénicilline M (isoxazolyl-pénicillines)**

Les pénicillines anti-staphylococciques, résistantes à la pénicillinase du staphylocoque : méthicilline et isoxazolyl- pénicillines (**Ramoul, 2014**).

➤ **la pénicilline A (amino-pénicillines) :**

Représentées principalement par l'ampicilline et l'amoxicilline, sont caractérisées par un spectre d'action élargi (**Chemelle, 2013**).

➤ **Les uréido-pénicillines et les carboxy-pénicillines**

Elles sont actives sur *Pseudomonas aeruginosa* et sur certaines souches productrices de céphalosporinases (**Bibbal, 2008**).

➤ **les amidinopénicillines**

Ne sont actives que sur les bacilles à Gram négatif (**Ramoul, 2014**).

3.2. Les Carbapénems

Les carbapénèmes notamment représentées par l'imipénème et la méropénème présentent un très large spectre d'activité et une grande stabilité vis à vis de la plupart des β -lactamases (**Zahel et al., 2005**). Elle sont historiquement considérées comme le traitement de choix des infections sévères à bactéries à Gram négatif (**Kattan et al., 2008**).

3.3. Les céphalosporines (ou céphèmes)

Les céphalosporines se distinguent chimiquement des pénicillines par le remplacement du cycle thiazolidine par un cycle dihydrothiazine (**Bryskier, 1984**). Elles possèdent en effet pour structure commune l'acide 7-amino céphalosporanique.

On distingue quatre générations de céphalosporines qui sont classées en fonction de leur date d'apparition.

➤ **Céphalosporines de première génération(C1G)**

Elles présentent un spectre antibactérien commun avec celui des pénicillines A et M et sont surtout utilisées contre les cocci Gram positif, à l'exception des entérocoques et de certains staphylocoques résistantes (**Chemelle, 2013**).

➤ **Céphalosporines de deuxième génération(C2G)**

Elle est caractérisée par une meilleure résistance aux β -lactamases et un spectre d'action plus large, une activité à faible concentration et une bonne diffusion tissulaire (**Touati, 2013**).

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. (**Limbirt et al., 1991**).

➤ **Céphalosporines de troisième génération(C3G)**

Elles comprennent entre autres le céfotaxime, le latamoxef, la céftriaxone, la céftazidime, le céfménoxime et le céftizoxime (**Cavallo et al., 2004**).

Elles sont moins efficaces que celles de première génération sur les germes Gram positif, mais beaucoup plus sur les entérobactéries, certaines de ces molécules sont particulièrement actives contre *Pseudomonas aeruginosa* (**Chemelle, 2013**). Ils peuvent être hydrolysés par les BLSE (**Bush, 2001**).

➤ **Céphalosporines de quatrième génération(C4G)**

Telles que céfépime, cefpirome, sont à large spectre et présentent un gain d'activité sur les cocci à Gram positif, une activité sur *P. aeruginosa* et une meilleure résistance à l'hydrolyse par les céphalosporinases hyperproduites (**Hardman et Limbird, 1998**).

Ils pourraient remplacer les céphalosporines de 3^{ème} génération pour le traitement des infections à germes résistants à ce dernier (**Wise, 1990**).

3.4. Les monobactames

Sont des β -lactamines monocycliques inactives sur les bactéries à Gram positif et les anaérobies. Ces derniers sont en revanche, très actifs sur les entérobactéries et *P. aeruginosa*. L'activité anti bactéries à Gram-négatif de l'Aztréonam est le chef de file de cette classe, est globalement comparable à celle des céphalosporines de 3^{ème} génération et notamment à celle de la ceftazidime. L'Aztréonam présente une bonne stabilité vis à vis des β -lactamases (**Lagha, 2015**).

3.5. Les inhibiteurs de bêta-lactamases

Les inhibiteurs de β -lactamases sont employés afin de préserver l'activité des bêta-lactamines auxquelles ils sont associés. Ces dérivés de l'acide clavulanique et de l'acide pénicillanique ne possèdent qu'une très faible activité antibactérienne intrinsèque mais jouent le rôle de substrat-suicide capable de se lier de manière irréversible à la β -lactamase, empêchant ainsi son action ultérieure sur les antibiotiques (**Rolinson, 1998**).

Citons trois inhibiteurs de β -lactamases (**Chemelle, 2013**).

- L'acide clavulanique
- Le sulbactam
- Le tazobactam

4. Mode d'action des β -lactamines

Le peptidoglycane est un constituant majeur de la paroi cellulaire présent chez toutes les bactéries. Il forme un réseau tridimensionnel autour de la cellule et la protège de son propre pression osmotique, elle est essentiel à la croissance et à la division cellulaire (**Matagne *et al.*, 1998**). Il s'agit d'un polymère formé de chaînes glycanes linéaires composées de sous-unités de saccharides réticulées avec des courts peptides, contenant le N-acétylglucosamine (NAG) et l'acide N-acétylmuramique (NAM) (**Van Hoof, 2001**). Le dernier sucre de ce disaccharide se termine toujours par deux résidus D-alanine.

L'assemblage final de ces unités, est un processus catalysé par un groupe de protéines, les PLP se terminant par le clivage du résidu D-alanine terminal (**Wilke *et al.*, 2005**). Cette étape de la synthèse du peptidoglycane représente une cible privilégiée pour de nombreux antibiotiques (bêta-lactamine, glycopeptide, bacitracine) (**Frere, 2007**).

4.1. Pénétration de β -lactamine

Les β -lactames rejoignent leur cible au niveau de l'espace périplasmique, cet accès est direct pour les bactéries à Gram positif dont le peptidoglycane est relativement perméable aux bêta-lactamines. Concernant les Gram négative, les β -lactames doivent emprunter les passages ménagés par les porines au niveau de la membrane externe pour rejoindre l'espace périplasmique (**Chemelle, 2013**).

4.2. Cible des β -lactamine

(Babic *et al.*, 2006). Les gènes qui codent pour ces enzymes sont situés soit sur des plasmides, soit sur le chromosome. Ils peuvent être intégrés dans des éléments génétiques mobiles et les déterminants génétiques de la résistance peuvent être transmis par transfert horizontal y compris entre espèces phylogénétiquement éloignées (Livermore, 1995).

Les mutations spontanées peuvent conduire à la sur expression ou à l'introduction de changements dans la structure primaire des β -lactamases, ceci peut accroître l'activité de celles-ci vis-à-vis de β -lactamines résistantes à l'hydrolyse enzymatique (Jacoby et Munoz-Price, 2005).

2. Mode d'action

Les bêta-lactamases hydrolysent le cycle β -lactame, empêchant ainsi les β -lactamines de se fixer de façon covalente sur le site actif des enzymes impliquées dans la synthèse de la paroi qui rendent l'antibiotique inactif avant qu'il n'atteigne sa cible : les protéines liant la pénicilline (PLP) (Figure 4) (Decré *et al.*, 2000 ; Phillipon et Arlet, 2006).

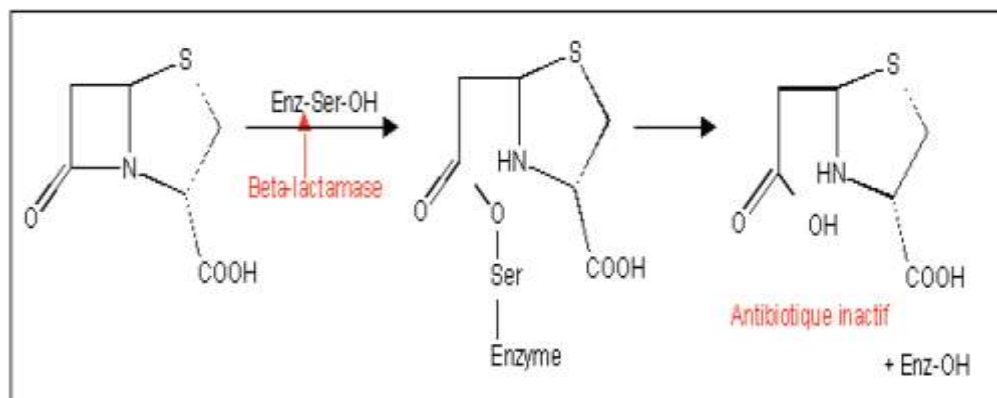


Figure 4 : Mécanisme d'inactivation de β -lactamine par l'enzyme β -lactamase (Barrial et Scotet, 2006).

3. Classification des β -lactamase

La diversité de ces enzymes a entraîné de nombreuses tentatives de classification, deux systèmes de classification sont actuellement utilisées, établis sur des bases fonctionnelles et moléculaires : (Bush *et al.*, 1995).

➤ Classification fonctionnelle de Bush

Élaborée en 1989 et réactualisée en 1995, selon les propriétés fonctionnelles de l'enzyme définies par son substrat préférentiel et son profil d'hydrolyse (Bush *et al.*, 1995), dans laquelle les auteurs divisent ces enzymes en quatre groupes (1 à 4) avec plusieurs sous-groupes (Jacoby et Medeiros, 1991).

➤ Classification structurale d'Ambler

Initialement proposée par Ambler, cette classification repose sur la similarité des séquences entre les différents membres des β -lactamases, impliquant la connaissance de la structure primaire des β -lactamines (Ambler, 1980).

Cette nomenclature se compose de quatre groupes, soit les β -lactamases de classe A, B, C et D. Les enzymes de classe A, C et D sont dites à sérine active tandis que celles de classe B sont appelées métallob- β -lactamases (carbapénèmases) (Philippon *et al.*, 2006).

- **classe A :**

Assurent un fort taux de résistance aux pénicillines, céphalosporines et monobactames, sont généralement sujettes à l'inhibition par les inhibiteurs de β -lactamases (Bonnet, 2011).

- **classe B :**

Comprend les métalloenzymes, inhibées par l'EDTA (Robin *et al.*, 2010) La plupart hydrolysent une variété de pénicillines et de céphalosporines et sont insensibles aux inhibiteurs classiques (Bebrone, 2007).

- **classe C :**

Correspondant aux céphalosporinases qui sont des enzymes résistantes à l'action de l'acide clavulanique et le sulbactam, toutefois certaines sont faiblement inhibées par le tazobactame (Doi *et al.*, 2004). Leur hyperproduction est associée au phénotype de multirésistance observé chez certains bacilles à Gram négatif (Philippon *et al.*, 2002).

- **classe D :**

Regroupe les β -lactamases qui hydrolysent l'oxacilline et ses dérivés et qui sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique, sont le plus souvent retrouvées chez *Pseudomonas aeruginosa* (Paterson et Bonomo, 2005).

IV. Les β -lactamases à spectre élargi (BLSE)

1. Définition

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes récemment apparues à la suite des mutations des pénicillinases, elles sont produites par des bactéries à Gram négatif et elles confèrent aux bactéries qui les produisent une résistance aux pénicillines, céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération et les monobactames (Aaztreonam).

Par contre, les souches productrices de BLSE restent généralement sensibles aux céphamycines (ex. céfoxitine) et aux carbapénèmes (ex. imipénème). Elles sont sensibles à

l'action des inhibiteurs de β -lactamase comme l'acide clavulanique (**Vora et Auckenthaler, 2009**).

Il s'agit d'un mécanisme de résistance de type plasmidique, la présence de ce type de mécanisme de résistance au sein de souches pathogènes fait peser un risque majeur d'inadéquation thérapeutique et donc d'échec thérapeutique (**Schwaber et Carmeli, 2007**).

2. Différents types des BLSE

Elles sont classées selon leurs types moléculaires, les plus fréquents étant les types TEM, SHV, CTX-M (**Jacoby et Munoz-Price, 2005**).

2.1. BLSE de type TEM

La première β -lactamase plasmidique de type TEM décrites chez les entérobactéries, confèrent la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime), au céfépime et à l'aztréonam. Ces BLSE dérivait par mutation ponctuelle des pénicillinases (**Bertrand et al., 2003**).

2.2. BLSE de type SHV

Les enzymes BLSE de type SHV dérivent par mutations ponctuelles de l'enzyme originale SHV-1 qui correspond à un gène de pénicillinase chromosomique de *K. pneumoniae* (**Brisse et Verhoef, 2001 ; Haeggman et al., 2004**).

2.3. BLSE de type CTX-M :(Nouvelles BLSE)

Le groupe CTX-M conférait chez les entérobactéries, un plus haut niveau de résistance au céfotaxime, céfépime et aztréonam qu'à la ceftazidime (**Arlet et Philippon, 2003 ; Bonnet, 2004**). Ces enzymes représentent à l'heure actuelle les BLSE les plus fréquentes au niveau mondial après leur diffusion rapide depuis les années 90 (**Bonnet, 2004 ; Livermore et al., 2007**). Les CTX-M sont plus fortement inhibées par le tazobactam que par l'acide clavulanique.

3. Facteurs de risque

Différents facteurs de risque ont été fréquemment associés avec l'acquisition d'une souche productrice de BLSE :

- L'utilisation accrue des antibiotiques surtout de type céphalosporines de 3^{ème} génération, dont les antibiotiques exercent une pression de sélection non-négligeable (**Jacobson et al., 1995 ; Sirot, 1989**).
- Hospitalisation prolongée et présence des dispositifs invasifs (cathéters veineux, sonde urinaire,...etc) qui implique une plus longue exposition au risque d'acquérir une bactérie multi-résistante (**Kassis-Chikhani et al., 2004 ; Wiener et al., 1999**).
- Chez les patients ayant une infection communautaire par *E. coli* BLSE : l'hémodialyse, l'incontinence urinaire, un cancer, une insuffisance rénale, un diabète (**Laupland et al., 2008**).
- D'autres facteurs de risque sont : la malnutrition, la nutrition parentérale totale, admission dans une unité de soins intensifs, l'admission en réanimation ou l'hospitalisation préalable (**Lautenbach et al., 2001 ; Pena et al., 1997**).

4-Epidémiologies des BLSE :

Découvertes en Europe dans les années 1980, les BLSE ont aujourd'hui une répartition mondiale .Leur prévalence est très variables selon la localisation géographique, l'espèce bactérienne et l'origine des isolats (**Messai et al., 2008 ; Tollentino et al., 2011**).

Les prévalences les moins élevées ont été notées en Europe du Nord, au Canada, aux États-Unis, au Japon, en Australie et en Nouvelle-Zélande (**Elhani et al., 2012 ; Reinert et al., 2007**).

Par contre, les prévalences les plus élevées ont été rapportées particulièrement en Asie (ex : *K. pneumoniae* : jusqu'à plus de 70 % en Jordanie et en Iran) (**Elhani et al., 2011**) et en Amérique latine, suivies de l'Europe du Sud et de l'Est (**Reinert et al., 2007**).

Des taux de prévalence élevés ont été aussi notés en Afrique particulièrement en Afrique du Nord et au Sud Afrique (**Bouchillon et al., 2004**).

Une étude en Egypte a montré un taux de production de BLSE par les entérobactéries varient 15.9% (Afrique du sud) à 3 8.5% (Egypte) (**Bouchillon et al., 2004**).

Les souches productrices de BLSE étaient souvent associées à des épidémies nosocomiales, notamment en unités de soins intensifs (USI). La prévalence des BLSE était plus forte chez *K. pneumoniae* que chez *E. coli*. (**Jacoby et Munoz-Price, 2005 ; Cantón et al., 2008**)

I. Les bacilles à Gram négatif

Les bacilles à Gram négatif, fréquemment isolés des laboratoires de bactériologie, occupent une place importante en pathologie humaine. Généralement, on les divise en deux grands groupes : les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires (**Liassine, 2000**).

I.1 Les entérobactéries

1.1. Définition

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif (BGN), dont les dimensions varient de 6 μm de long et 0,3 à 1 μm de large, ces dimensions varient suivant l'âge de la culture, l'espèce, la souche. Certaines espèces peuvent être très polymorphes, notamment le genre *Proteus*. Elles sont non sporulés, mobiles avec une ciliature péritriche ou immobiles.

Elles sont aérobies-anaérobies facultatives et elles peuvent être cultivées sur les milieux ordinaires. Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites (sauf certaines souches d'*Erwinia* et *Yersinia*). Elles n'ont pas d'oxydase et possèdent une catalase (sauf *Shigella dysenteriae* sérotype 1) (**Freney et Croze, 2007**).

Le nom « entérobactérie » fait référence à la localisation de cette famille de microorganismes dans le tube digestif et principalement le côlon de l'homme et des animaux (**Scheftel, 2008**).

1.2. Taxonomie

Actuellement, les entérobactéries sont classées sur la base du séquençage des ARN

5S et 16S dans :

- ❖ Domaine : *Eubacteria*
- Phylum XII : *Proteobacteria*
- Classe : *Cammaproteobacteria*
- Ordre : Enterobacterales
- Famille : *Enterobacteriaceae* (**Garrity et al., 2004**).

Les entérobactéries qui intéressent la bactériologie médicale peuvent être regroupées en 44 genres qui sont divisés en cinq tribus : d'après leurs propriétés fermentatives : *Escherichiae*, *Klebsielleae*, *Proteae*, *Yersinia* et *Erwiniae* (**Larpent, 2000**).

Actuellement plus de 1700 espèces différentes sont décrits au sein de cette famille. Leur classification est basée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques (fermentation de différents sucres, production ou non de sulfures, présence ou absence de certains enzymes du métabolisme) et génotypiques (Denis, 2007).

1.3. Les caractères bactériologiques

1.3.1. Caractères morphologiques

Ce sont des bacilles à Gram négatif généralement polymorphes. La plupart des espèces sont mobiles grâce à une ciliature péritriche, mais certaines sont immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*) (Wang *et al.*, 2008).

On note la présence d'une capsule visible au microscope est habituelle chez les *Klebsiella*. La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili qui sont des facteurs d'adhésion (Bakhoumi, 2004).

1.3.2. Caractères cultureux

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobiose et en anaérobiose. Sur milieux gélosés et pour la plupart des espèces les colonies sont habituellement bombées et rondes à bord net, leur surface est lisses, brillantes, de structure homogène (type « smooth » ou S). Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse (type « rough » ou R). (Joly et Reynaud, 2002).

Les *Proteus* ont tendance à envahir la gélose et à y former un tapis uniforme. Pour Les colonies de *Klebsiella* sont souvent très muqueuses larges et luisantes. En milieu liquide, les entérobactéries occasionnent un trouble uniforme de bouillon (Decoster, 2005).

1.3.3. Caractères biochimiques

L'identification des différents genres et espèces d'entérobactéries repose sur plusieurs caractères biochimiques (voir annexe III: tableau 5). Leur métabolisme peut être transféré de la respiration vers la fermentation lorsque leur environnement est privé en oxygène moléculaire (Joly et Reynaud, 2002).

Certaines réactions enzymatiques aboutissent à la production de métabolites qui sont identifiables grâce à une réaction spécifique, par exemple : production d'hydrogène sulfuré (H₂S) par le genre *Proteus* (Medboua, 2011).

1.3.4. Caractères antigéniques

L'étude des différents caractères antigéniques permet de classer en sérotypes les souches appartenant à une même espèce ou au même genre (Avril *et al.*, 2000).

Il existe plusieurs types d'antigènes :

- **Antigène commun** : appelé « antigène de Kunin » ou (ECA), est présent chez toutes les entérobactéries sauf certaines *Erwinia* (Liverlli *et al.*, 2007).
- **Antigène O (somatique)** : localisé au niveau de la paroi bactérienne, de nature lipopolysaccharidique, possède une endotoxine bactérienne complexes, très toxiques. (Fauchère et Avril, 2002).
- **Antigène H (flagellaire)** : n'est pas toxique, il n'est présent que chez les souches mobiles. Il est de nature protéique constitué d'une protéine « la flagelline» (Drancourt, 2007).
- **Antigène K (capsulaire)** : ou Ag de surface généralement constitué d'une couche externe de polysaccharides polysaccharidique ou protéique (Liverlli *et al.*, 2007).

On trouve aussi Les antigènes d'adhérences ou d'adhésines, qui sont de nature protéique, en relation avec la présence de pili (Bidet et Bingen, 2007).

1.4. Résistance au β -lactamines

Les entérobactéries ont la capacité de produire des bêta-lactamases dont les gènes de résistance se situent soit au niveau du chromosome bactérien, soit sur des éléments extra-chromosomiques (Maye 2000). Par exemple : Le gène codant pour SHV se situe sur le chromosome pour la majorité des souches de *Klebsiella pneumoniae*, mais est habituellement porté par un plasmide chez *E. coli* (Bradford, 2001).

En effet, une β -lactamase spécifique à une bactérie peut apparaître chez d'autres espèces par la suite, au vu du transfert de matériel génétique entre les différentes bactéries (Mirabaud, 2003).

1.5. Principaux genres

Les entérobactéries constituent plus de 80 % des germes isolés en laboratoire, et les genres les plus souvent retrouvées sont : *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Yersinia*, *Salmonelle* et *Sighelle*.

1.5.1. Le genre *Escherichia*

Isolée pour la première fois par Theodor Don Escherich en 1885, *Escherichia coli* représente l'espèce type de genre *Escherichia*. (Avril *et al.*, 2000). Cette espèce possède des caractères biochimiques particuliers permettant de la différencier des espèces voisines. La production d'indole à partir de tryptophane, l'absence d'utilisation du citrate comme source de carbone et oxydase négatif, nitrate positif et qui fermente le glucose et l'absence de production d'acétoïne (Joly et Reynaud, 2007 ; Farmer *et al.*, 2007).

Chez l'homme, la colonisation par *E. coli* est précoce et peut être responsable d'un nombre varié de pathologie. Toutefois, trois types de syndromes majeurs résultent : infections urinaires, les infections digestives (diarrhées, infections hépatobiliaires) et les méningites néonatales et septicémies (Jaureguy, 2009 ; Croxen *et al.*, 2010).

1.5.2. Les genres *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*

Le groupe *Klebsiella* - *Enterobacter* – *Hafnia*- *Serratia*, dit KEHS sont rassemblées des *Enterobacteriaceae* qui ont en commun les caractères suivants :

- ✓ La réaction de Voges-Proskauer (VP) est généralement positive.
- ✓ Bactéries pathogènes opportunistes.
- ✓ Multirésistance aux antibiotiques (Avril *et al.*, 2000).

❖ *Klebsiella*

Sont des bactéries immobiles, en diplobacilles, généralement capsulées (Delarras, 2007) et fermentent de nombreux sucres avec production de gaz, mais elles ne sont pas protéolytiques (Fauchère et Avril, 2002). Ce genre comporte actuellement cinq espèces *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ornithinolytica*, *K. terrigena* et *K. planticola* (Farah et Boutefnouchet, 2007).

❖ *Enterobacter*

Les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *E. cloacae* et *E. aerogenes*, sont des pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses y compris la bactériémie, les infections des voies respiratoires et urinaires, l'endocardite, les infections intra-abdominales, l'arthrite septique et les ostéomyélites (Fraser *et al.*, 2010).

Enterobacter sakazakii est l'agent d'infections rares mais sévères. Cette espèce se différencie des autres *Enterobacter* par son pigment jaune (Leclercq, 2006 ; France, 2004).

❖ *Serratia*

Le genre *Serratia* comprend maintenant dix espèces (**Sekhsokh et al., 2007**), la principale espèce pathogène du genre est *S.marcescens* qui provoque habituellement des infections nosocomiales. (**Basilio et Anía, 2009**). Toutes les *Serratia* possèdent une gélatinase et une DNase sauf *S. fonticola* (**Denis et Ploy, 2007**).

❖ *Hafnia*

Une seule espèce *Hafnia alvei* est une bactérie présente dans l'environnement, commensale de l'homme et des animaux, responsable d'infections opportunistes occasionnelles. (**Jehl et al., 2003**).

1.5.3. Les genres *Proteus*, *Morganella* et *Providencia*

La tribu des *Proteae* se caractérise par la désamination d'acides aminés en acides cétoniques qui additionnés d'ions ferriques, donnent des réactions colorées.

❖ *Proteus*

Les *Proteus* spp sont généralement très mobiles, polymorphes, sont largement répandues dans la nature et elles sont isolées du sol, de l'eau, de l'intestin de l'homme et de nombreuses espèces animales. Actuellement, ce genre *Proteus* rassemble cinq espèces dont 3 espèces importantes pour l'homme : *P.mirabilis*, *P.vulgaris* et *P.penneri* (**Goubau et Pellegrims, 2000 ; Lamnaouer, 2002**).

❖ *Providencia*

Les espèces du genre *Providencia* sont habituellement considérées comme commensaux dans le tube digestif, mais certaines espèces (*Providencia stuartii* et *Providencia alcalifaciens*) ont été associées à des infections nosocomiales et sont considérées comme des pathogènes opportunistes (**Tribe et Rood, 2002; O'Hara et al., 2000**).

❖ *Morganella*

Le genre *Morganella* sont initialement appelé *Proteus morganii*, se compose actuellement d'une seule espèce avec deux sous espèces, *morganii* et *sibonii* (**O'Hara et al., 2000**).

Morganella morganii ne fermente pas le lactose, fermente le glucose, réduit le nitrate en nitrite, métabolisme du tryptophane en indole (**Bilgin et al., 2003 , Flandris., 1997**). Elle se trouve normalement dans le sol, l'eau, les eaux usées, il fait également partie de flore fécale de l'homme est souvent isolée dans les urines (**Chou et al., 2009 ; Flandrois et al., 1997**).

1.5.5. *Salmonella* :

Le genre *Salmonella* avait individualisé sur la base de tests phénotypiques et de tests sérotypiques à plusieurs sous-genres et de très nombreuses espèces de *Salmonella* ((Weill, 2009). Depuis 2005, une nouvelle nomenclature est en vigueur sur le plan international (Tindall *et al.*, 2005). Elle fait suite aux études moléculaires qui ont révélé la présence de seulement deux espèces dans le genre *Salmonella* (*S. enterica*, espèce majoritaire et *S. bongori*, espèce rare) (Popoff, 2001).

1.5.6. *Citrobacter*

Citrobacter sont des bacilles ou des coccobacilles possédant une β -galactosidase, facultativement anaérobiques (Abbott, 2007), leur réservoir est l'intestin de l'homme et des animaux, sol, eau, les eaux usées et les aliments (Holmes et Aucken, 1998 ; Knirel *et al.*, 2002 ; Doran, 1999).

L'espèce type du genre est *Citrobacter freundii* : germe fréquemment isolé en milieu hospitalier. (Zhha-Zarifi, 1996; Ryan, 2004).

1.5.7. *Yersinia*

Ces bactéries ont une croissance plus lente que celle des autres entérobactéries. On les rencontre dans diverses espèces animales et plus particulièrement chez les rongeurs (Nauciel, 2000). Ce genre comprend 3 espèces pathogènes pour l'homme : *Y. pestis*, *Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis* (Branger *et al.*, 2009).

I.2. Bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGN-NF)

Les bacilles à Gram négatif non fermentaire (BGN-NF) sont des bactéries ubiquitaires retrouvées dans l'environnement, ils peuvent être responsables d'infections cliniques.

Au sein des BGN-NF, les souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* sont les bactéries les plus fréquemment isolées lors des infections nosocomiales dans les unités de soins intensifs (Berthelot *et al.*, 2005).

❖ *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa c'est la plus incriminée dans les infections nosocomiales au service de réanimation car c'est un colonisateur de l'environnement de ces services. Elle peut survivre plusieurs mois sur des surfaces inertes et même humides (Allegranzi *et al.*, 2011).

2.1. Classification

L'espèce *Pseudomonas aeruginosa* classé selon la classification de Bergey (2004) est :

- ❖ Règne : *Bacteria*
- ❖ Division : *Proteobacteria*
- ❖ Classe : *Gammaproteobacteria*
- ❖ Ordre : *Pseudomonadales*
- ❖ Famille : *Pseudomonadaceae*
- ❖ Genre : *Pseudomonas* (**Brenner, 2005**).

2.2. Mécanisme de résistance aux β -lactamines chez *P. aeruginosa*

2.2.1. Résistance naturelle

Pseudomonas aeruginosa possède une résistance naturelle à un grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une β -lactamase chromosomique inductible de classe C. Cette résistance naturelle est due aussi à une mauvaise perméabilité membranaire, il est donc naturellement résistant aux pénicillines des groupes V, G, M et A, à la plupart des céphalosporines de 3^{ème} génération et aux quinolones de 1^{ère} génération. *P. aeruginosa* est aussi généralement résistant à la kanamycine (**Livermore, 1995**).

A ces différents mécanismes s'ajoute le système d'efflux actif, ce système joue un rôle fondamental dans la résistance naturelle à de nombreux antibiotiques dont les β -lactamines et les aminosides (**Masuda et al., 2000**).

P. aeruginosa a toujours été considéré comme un micro-organisme difficile à traiter en raison de sa résistance aux antibiotiques, il n'est sensible naturellement qu'à un nombre restreint d'antibiotiques (**Poole et al., 2004**).

2.2.2. Résistances acquises

➤ Résistance par hyperproduction de la céphalosporinase AmpC :

L'hyperproduction de ce dernier permet à *P.aeruginosa* de résister à toutes les β -lactamines à l'exception des carbapénèmes. Son action échappe à l'action des inhibiteurs de β -lactamases (**Bagge et al., 2002**).

➤ Pénicillinases

Parmi les pénicillinases décrites : PSE-1 (enzyme spécifique de *Pseudomonas*) (**Bert et al., 2002**). Ils hydrolysent les Carboxypénicillines, les Uréidopénicillines et l'acefsulodine, sont inactives sur la Ceftazidime et les carbapénèmes (**Sanschagrin et al., 1998**).

➤ **Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE)**

Cinq types de BLSE de classe A ont été détectés chez *P. aeruginosa*. La diffusion des gènes de la classe A des BLSE joue un rôle important dans la diffusion de la résistance aux antibiotiques (Touati, 2013).

➤ **Résistance par production de β -lactamases de classe B**

L'isolement de ces enzymes est de plus en plus fréquent (Walsh *et al.*, 2009).

➤ **Résistance par production de β -lactamases de classe D**

Chez *P. aeruginosa*, les BLSE dérivées d'OXA-10 et OXA-2 ont été isolées ainsi que la β -lactamase OXA-18. Ces enzymes sont localisées sur des plasmides (Pechere *et al.*, 1998).

II. Les cocci à Gram positive : *Staphylococcus aureus*

❖ Le genre *Staphylococcus*

1. Historique

En 1871, c'est les premières descriptions des Staphylocoques isolés à partir de pus d'abcès. Ainsi en 1880, Louis Pasteur en 1880 décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine (Karthik, 2007). Après En 1883, Ogston crée le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains groupés en amas irréguliers à la façon de raisin (staphylo) (Spicer, 2003 ; Breche, 1988 ; Stephen et Hawkey, 2006), mais la distinction entre staphylocoque doré et staphylocoque blanc revient à Rosenbach en 1884. (Avril *et al.*, 1992 ; Karthik, 2007).

2. Habitat

Ce genre joue un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constitue une barrière de colonisation, empêchant l'implantation de bactéries de la flore transitoire (Wylie *et al.*, 2005 ; Hirsh *et al.*, 2004).

Les souches de *S.aureus* sont présentes également sur les membranes muqueuses du tractus respiratoire ainsi que le tractus urogénitale et comme flore transitoire dans le tractus digestif (Quinn, 2011). Cependant, l'habitat préférentiel de ces souches la muqueuse nasale (Eveillard, 2007). Ils sont largement disséminés dans l'environnement, retrouvés dans le sol, les poussières, l'eau et dans certains produits alimentaires (laitages, conserves salées) (Shimeld et Rodgers, 1999).

3. Position taxonomique et classification

Selon la 9^{ème} édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC, dans le phylum des firmicutes :

- Domaine : *Eubacteria*
- Phylum BXIII : *Firmicutes*.
- Ordre : *Bacillales*
- Classe : *Bacilli*
- Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus* (Presscot, 2010)

Le genre *Staphylococcus* est séparé en deux groupes sur la base de la présence de la coagulase :

- Le groupe des Staphylocoques à coagulase négative avec 33 espèces dont la majorité ne présente pas de risque sanitaire (Blaiotti *et al.*, 2004).
- Le groupe des Staphylocoques à coagulase positive est constituée de 7 espèces, qui peuvent être impliquées dans des infections humaines : *S.aureus*, *S.delphini*, *S.hyicus*, *S.intermedius*, *S.lutrae*, *S.pseudintermedius*, *S.schleiferi* (Avril *et al.*, 1992 ; Quinn *et al.*, 2011).

4. L'espèce *Staphylococcus aureus* : agent pathogène

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus* est la première cause d'infection bactérienne à travers le monde (Corne, 2004).

Les infections à *S.aureus* sont très polymorphes, allant d'atteintes cutanées bénignes à des pathologies mettant en jeu le pronostic vital (Gordon et Lowy, 2008).

4.1. Caractères morphologiques

S. aureus se présente sous l'aspect de cocci sphérique de 1 μ m de diamètre, à coloration de Gram positive, immobiles. La grande majorité des souches sont capsulées, d'autres forment des colonies mucoïdes et sont entourées d'une pseudocapsule (Fauchere et Avril, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004).

Sur les cultures en milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de grappes de raisin (Ananthanarayan et paniker, 2006).

4.2. Caractères biochimiques

Toutes les souches de *S.aureus* ont un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif, produisent une coagulase, une nucléase thermostable et une catalase mais pas d'oxydase. La plupart des souches sont lipolytiques (**Ananthanarayan et paniker, 2006**).

Contrairement aux autres espèces, les souches de *S.aureus* produisent de l'hémolyse β , Cette bactérie est capable de dégrader de nombreux substrats glucidiques, protéiques et lipidiques grâce à son équipement enzymatiques (**Couture, 1990**).

Le métabolisme glucidique est intéressant, la plupart des sucres sont fermentés : glucose, saccharose, lactose et mannitol, dont le glucose et le mannitol sont utilisés en anaérobiose et en aérobie. (**Couture, 1990 ; Guiraud et Rosec, 2004**).

Globalement, l'espèce *S.aureus* peut être différenciée des autres staphylocoques par la présence simultanée d'une coagulase libre et d'une DNase thermostable (**Fauchere et Avril, 2002**).

4.3. Caractères cultureux

Staphylococcus aureus sont des germes peu exigeants sur le plan nutritif, se cultivent facilement sur milieux usuels simples en aérobie comme anaérobiose (**Le loire et al., 2003 ; Bhatia et Zahoor, 2007 ; Di Giannatale et al., 2011**). Ils sont capables de se multiplier dans des milieux contenant 5 à 10% de NaCl, ces caractéristiques confèrent à lui la capacité de coloniser une grande variété d'aliments (**Bhatia et Zahoor, 2007**).

Sur milieux solides, les colonies sont larges circulaires, légèrement bombées, lisses et luisantes, leur couleur peut varier du blanc au jaune ou jaune orangé (**Denis et poly, 2007**). En milieu liquide, la culture est rapide, en quelques heures un trouble homogène puis un dépôt, il n'y a pas de production de pigment (**Ananthanarayan et Paniker, 2006**).

Sur gélose au sang, ils peuvent produire des colonies de grand diamètre que celles produites sur gélose nutritive et de couleur jaune doré, entourées d'une hémolyse β . (**Couture, 1990 ; Denis et poly, 2007**).

4.4. Pouvoir pathogène de *S.aureus* :

Staphylococcus aureus, parmi les autres pathogènes de l'homme, est celui qui est responsable de la plus grande variété de maladies (tableau 2) (**Schaechter, 1999**).

Tableau 1: Les maladies causées par les Staphylocoques (**Schaechter,1999 ; Strobel , 2003**).

Localisation	Maladies
la peau et les tissus mous	Furoncles, abcès, infections des plaies (traumatiques, chirurgicales), cellulite, impétigo
Sang	Bactériémies (souvent avec des abcès métastatiques)
système nerveux central	Abcès du cerveau, méningite-rare, abcès épidual
Pommons	Embolie, aspiration
Tractus génito-urinaire	Abcès rénal, infection du tractus urinaire inférieur
Maladies provoquées par des toxines	Syndrome du choc toxique, intoxications alimentaires (gastroentérites)
Muscles et squelette	Ostéomyélite, arthrite

4.5. Facteurs de virulence

Les souches de *Staphylococcus aureus* expriment de nombreux facteurs de virulence potentiels qui contribuent à la pathogénicité du germe, en produisant des enzymes et des cytotoxines (Todar, 2005) qui permettent en particulier de convertir les tissus locaux de l'hôte en nutriments nécessaires à la croissance bactérienne (Dinge et al., 2000 ; Nehal et al., 2010).

4.5.1. Composants de surface : comprend des éléments à la fois structurelle et solubles de la bactérie (Nehal et al., 2010), ils s'agissent de :

- ❖ **Capsule polysaccharidique :** confère à la bactérie une forme de résistance vis-à-vis des antibiotiques, peut induire la formation d'abcès (Deverrière, 2007).
- ❖ **Acide teichoïque :** il assure La protection contre les antimicrobiens et le stress environnemental (Xia et al., 2010).
- ❖ **Peptidoglycane :** produit en grande quantité lors d'infections locales qui provoque des lésions tissulaires et une hyperthermie (Garrity et al., 2007 ; Avril et al., 2003).

4.5.2. Facteurs d'invasion et d'adhésion

Sont des protéines exprimées à la surface de la bactérie, elles favorisent l'attachement à l'hôte, ces adhésines jouent un rôle dans la colonisation de l'hôte et au cours de la maladie invasive (Stephan et al., 2006).

Quatre protéines ont été caractérisées :

- ❖ **Protéine A** : active le complément, déclenche la réaction de phagocytose (Schlievert *et al.*, 2010).
- ❖ **Protéine de liaison au collagène** : C'est un facteur de virulence important dans les infections osseuses et articulaires (Buckingham *et al.*, 2004).
- ❖ **Protéine de liaison au fibrinogène** : Il est responsable de la formation d'une sorte de coque autour des germes qui deviennent résistants à la phagocytose (Fauchère et Avril, 2002).
- ❖ **Protéine de liaison à la fibronectine** : elle contribue à l'adhérence aux biomatériaux ayant un contact prolongé avec le sang (Foster et McDevitt, 1994).

4.5.3. Substances élaborées par *S.aureus*

Toutes les souches de *S.aureus* produisent des substances excrétées dans le milieu extracellulaire ou restent fixées à la membrane cytoplasmique, qu'elles sont douées soit d'une activité enzymatique, soit d'une activité toxique (Bhatia et Zahoor, 2007).

Les enzymes

- ❖ **Coagulase libre** : Elle forme avec la prothrombine du plasma, un complexe « Staphylothrombine » qui converti le fibrinogène en fibrine (Todar, 2009).
- ❖ **β -lactamase** : elle inactive les β -lactamines et joue un rôle important dans la résistance à ces antibiotiques (Motamedi *et al.*, 2010).
- ❖ **Lipases** : ces enzymes capables de détruire les acides gras cutanées, favorisant la survie et la dissémination de la bactérie (Tally, 1999).
- ❖ **Hyaluronidase** : hydrolyse l'acide hyaluronique ce qui permet la diffusion tissulaire des *S. aureus* (Makris *et al.*, 2013).
- ❖ **Fibrinolysine ou Staphylokinase** : C'est une enzyme transforme le plasminogène en plasmine ((Deverrière, 2007).
- ❖ **Désoxyribonucléase thermostable** : hydrolyse de l'ADN de cellule de l'hôte, elle intervienne dans la formation des lésions (Guiraud et Rosec, 2004).
- ❖ **Catalase** : elle converti le peroxyde d'hydrogène en molécules d'eau et d'oxygène, (William, 2009).

B- Les toxines

S.aureus produit un certain nombre de molécules cytotoxiques qui peuvent être divisés en quatre classes : (Prévost, 2004)

❖ Les hémolysines ou staphylolysines

Quatre hémolysines ont été isolées. Elles possèdent toutes une activité hémolytique qui s'exercent sur l'homme et sur différents animaux (Azele, 1989).

- **α - hémolysine** : provoque la formation de canaux membranaires ce qui induit la lyse de la cellule ciblée. (Seeger *et al.*, 1990 ; Hiron, 2007).
- **β - hémolysine** : thermolabile altère les membranes riches en lipides (Todard, 2005).
- **δ -hémolysine** : elle est comme un détergent sur les membranes biologique (Fanny *et al.*, 2008).
- **γ - hémolysine** : elle est sécrétée par 50 à 60 % des souches (Gravet *et al.*, 2001).

❖ La Leucocidine de Panton et Valentine (LPV) :

Il s'agit d'exotoxines, elle est toxique pour les monocytes, les macrophages et les polynucléaires neutrophiles (Rainard *et al.*, 2003, Fanny *et al.*, 2008).

Les entérotoxines :

Les entérotoxines staphylococciques sont de potentiels agents d'intoxication alimentaire Elles sont résistants aux enzymes protéolytiques du tube digestif (Bendahou *et al.*, 2009 ; Di Giannatal *et al.*, 2011).

❖ L'exfoliatine ou épidermolysine

Certaines souches de *S.aureus* (environ 5%) secrètent la toxine épidermolytique ou exfoliatine. Elles sont responsables du "syndrome de la peau ébouillantée (Avril *et al.*, 1992).

❖ Toxine du syndrome de choc toxique

C'est une protéine extracellulaire la cause majeure du syndrome de choc toxique staphylococcique TSS (Nagase *et al.*, 2002).

4.5.4. Variant microcolonies (SCVs)

Ces microcolonies constituent des sous populations de bactéries à croissance lente (Von Eiff *et al.*, 2001) survivants à des concentrations létales d'antibiotiques sans avoir pour autant un mécanisme de résistance spécifique (Lewis *et al.*, 2010).

Discussion générale

La production de β -lactamase constitue le premier mécanisme décrit et identifié de résistance à un antibiotique, ce mécanisme a été décrit chez différentes bactéries, notamment chez la plupart des souches de *Staphylococcus aureus* dont sont résistants à la pénicilline par la production d'une β -lactamases nommé également pénicillinase (Robert, 2013 ; Devapriya et al., 2013).

Néanmoins, les bactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi constituent une préoccupation majeure en milieu hospitalier en raison de leur diffusion épidémique et de leur multirésistance aux antibiotiques. En effet, les BLSE sont retrouvées chez une vaste proportion de bacilles à gram négatif, mais les entérobactéries représentent les germes les plus incriminés (Gniadkowski, 2001).

Notre étude a porté sur **1212** prélèvements reçus au laboratoire central d'EPH Fares Yahia de Koléa, durant une période de trois mois, dont **1151** échantillons d'urines et **61** échantillons de pus, selon notre étude les prélèvements urinaires occupe une place importante parmi les prélèvements recueillis, ces résultats corrobore avec les résultats d'une étude réalisée en France en 2000 qui montre que **91,1%** des prélèvements communautaires sont des prélèvements urinaires (Péan et al., 2001). En effet, ce résultat est expliqué par le fait que, l'infection urinaire est l'une des infections communautaires les plus fréquentes (Sekhsokh et al., 2008). En Tunisie, un taux de **60%** des souches isolées dans les urines, est rapporté par Mkaouar et al., (2008).

Selon nos résultats le taux de culture positive des pus est très élevé (**62%**). Ceci correspond aux résultats obtenus des études réalisées par Chaib et Zitouni (2010) à l'hôpital de Koléa (**78.46%**) et à l'hôpital de Salim Zemirli «El Harrach» (**62.24%**) (Touarigt, 2011).

Ces résultats sont dus probablement à la dénutrition et l'immunodépression. En outre, dans les sites opératoires, l'acquisition de l'infection est très fréquente, elle est due à la transmission des germes provenant de l'équipe chirurgicale, du patient lui-même ou de son environnement (Brucker, 1998). Par contre le taux des cultures négatifs est faibles (**33%**).

Nous constatons aussi que **5%** des prélèvements sont contaminées, cette contamination peut avoir deux origines, soit au niveau de patient donc au cours du prélèvement lui-même, soit au laboratoire au cours du traitement.

Dans les deux situations, la principale cause est le manque d'hygiène qui engendre l'inoculation de bactéries de l'environnement qui ne sont pas en relation avec l'infection mais qui peuvent coloniser le malade (dans le cas de la contamination chez celui-ci) et provoquer chez lui des infections nosocomiales. (**Aouati, 2009**)

En revanche, la fréquence faible des cultures positives des urines (**10%**) est peut expliquer par une mauvaise orientation du diagnostic clinique ou à la présence des germes exigeants tel que les anaérobies strictes qui nécessitent des milieux et des conditions d'incubation spécifiques. Comme il peut s'agir d'un examen de contrôle que le médecin demande pour mieux établir son diagnostic (**Baudouin, 1999**).

Par ailleurs, nos résultats sont proches aux résultats obtenus par les étudiants **Bellit et Derdour (2013) (9%)** qui ont fait leur étude au niveau de l'hôpital de Trichine Ibrahim (FABOR) et à ceux de **Touchene et Ghalmi (2015)** à l'hôpital de Koléa qui ont trouvé **11%**.

La présence des prélèvements contaminés (**7%**) est probablement liée au :

- Mauvaises conditions de prélèvement.
- L'existence d'une leucocyturie sans germes à cause d'un traitement aux antibiotiques ayant précédé le prélèvement.
- Le désinfectant utilisé lors de la toilette avant la collecte des urines qui peut contaminer le prélèvement.

Notre étude montre une prédominance des infections urinaires chez les femmes avec un taux de **67%** contre **33%** pour les hommes. En effet, les infections urinaires sont beaucoup plus fréquentes chez la femme que chez l'homme, cela s'explique par le fait que les glandes périurétrales n'ont pas d'activité antibactérienne (contrairement au liquide prostatique). Aussi, l'infection chez la femme est favorisée par l'osmolarité faible des urines en particulier durant la grossesse (**Saighi et al., 2004**).

Ces constatations sont relativement semblables à celles de **Medboua (2011)** qui a trouvé un pourcentage de **64.24%** et ainsi les travaux de **Hamrouni (2013)** qui a trouvé un pourcentage de **75.23%**. Des résultats différents ont été rapportés par **Larabi et al (2003)** en Tunisie.

L'étude de répartition des infections dans les pus selon le sexe montre que la fréquence des infections est élevée chez les sujets masculins (**58%**) par rapport aux sujets féminins qui présentent un taux de **42%**. Cette variation n'a pas une importance selon **Berche et al (1991)**, le sexe ne semble pas avoir une influence déterminante sur l'apparition de l'infection.

D'après nos résultats, **75.48%** des prélèvements provenant du milieu externe contre **24.52%** provenant de milieu hospitalier, contrairement à ce qui est rapporté en Tunisie en 2008 où **65%** des isolats provenaient de malades hospitalisés (**Mkaouar et al., 2008**).

Notre étude montre une fréquence très élevée des bacilles à Gram négatifs (**79.89%**) en comparaison avec les cocci à Gram positifs (**20.11%**). Cette prédominance des BGN s'explique aussi bien par le fait que les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires (*Pseudomonas*) occupent une place très importante en pathologie humaine infectieuse. Leur importance est due à la variété des espèces bactériennes qui les composent et leur fréquence au niveau de la santé des populations. (**Ramoul, 2014**).

Parmi les bacilles à Gram négatifs, les entérobactéries dominent dans notre étude avec une fréquence d'isolement de **73%** (131 souches) notamment dans les urines (**86%**) par rapport aux bacilles à Gram négatif non fermentant avec un taux de **7%**. Selon **Debré (2004)**, les entérobactéries sont les germes les plus souvent responsables des infections urinaires.

De plus, ces agents infectieux présentent avec une forte proportion dans les pus (**48%**). D'après **Berche et al (1991)** ils sont des bactéries opportunistes provoquent des infections cutanées chez les malades immunodéprimés ou après les interventions chirurgicales, et se développent rapidement lorsque la peau est endommagée en cas des blessures ou des plaies.

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Souna (2011)** au niveau du CHU de Sidi Bel Abbas qui a trouvé un pourcentage de **56%**. Nos résultats concordent aussi bien avec ceux obtenus au Maroc (**Elouennass, 2008**), France (**Zogheib et Dupont, 2005**) et au Cameroun (**Gangoué Piéboji et al., 2007**).

Globalement le profil bactériologique des isolats est marqué par une prédominance d'*Escherichia coli* qui reste l'espèce la plus fréquente (**51.15%**), suivie par *Klebsiella pneumoniae* (**16.03%**) comme cela été rapporté par plusieurs études (**Messai et al., 2007 ; Nadmia et al., 2010**). Ainsi par les études de **Boukeroui (2013)** à l'hôpital de Boufarik qui a trouvé un taux de **47.67%** pour *E.coli*. En Tunisie *E.coli* occupe aussi la première place avec **81,7%** suivi par *K. pneumoniae* avec **3.7%** (**Péan et al., 2001**).

Le taux élevé d'*Escherichia coli* est expliquée par le faite que cette bactérie est une espèce ubiquitaire, elle est très répondeue dans l'environnement : eau, sols, et dans les aliments et se retrouve en abondance dans la flore commensale humaine. Elle constitue l'espèce dominante de la flore aérobie anaéro-tolérante (Ahoyo *et al.*, 2007 ; Bonacorsi *et al.*, 2001).Par ailleurs, est un germe facile à diagnostiquer. Elle représente 60 à 80% des infections urinaires communautaires (Caracciolo *et al.*, 2011).

En effet, *K. pneumoniae* se distingue comme un agent pathogène opportuniste causant des infections nosocomiales surtout au sein des populations ayant un système immunitaire affaibli. Elle constitue une cause fréquente d'infections urinaires, pneumonies et bactériémies (Decre *et al.*, 2011).

Pour les autres souches isolées sont classés par ordre décroissant : *Klebsiella oxytoca* (9.92%), *Proteus* spp (10.69%), *Enterobacter* spp (6.11%), Alors que, *Morganella morganii* et *Serratia* spp occupent la dernière place avec des taux d'isolement faibles soit 3.05% et 0.76% respectivement.

Selon Lahlou *et al* (2009), *Enterobacter* spp et *Proteus* spp sont des bactéries responsables surtout d'infections nosocomiales (Lahlou *et al.*, 2009). Ils sont incriminés en ambulatoire suite à une hospitalisation récente ou à une prise d'antibiotiques à large spectre (Djennane *et al.*, 2009).

Concernant les cocci à Gram positifs, *Staphylococcus aureus* est très fréquente, isolé avec un taux de 13% (27 % dans les prélèvements de pus et 6% dans les prélèvements des urines) suivie de *Streptococcus* spp avec un taux de 5% et *Enterococcus* spp qui occupe la dernière position avec un faible taux de 2%. Cela est due au fait que les Staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires que l'on retrouve fréquemment sur la peau et dans les narines des personnes. C'est l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines. Ils sont doués d'une grande capacité d'acquérir et d'exprimer un large éventuel de facteurs de virulence et de résistance aux antibiotiques (Elazhari *et al.*, 2010). En outre la vie commensale des staphylocoques associée à la virulence de certaines espèces explique que ces bactéries représentent une cause majeure d'infection (Avajjar, 2006).

Les Streptocoques sont les germes les plus souvent isolés en clinique humaine après les entérobactéries et les staphylocoques (**Kernbaum, 1990**).

Nos travaux rejoignent ceux de **Lazoul et Rabhi (2014)** où ils notent un taux de **17%** de *S.aureus*. Une autre étude, menée au CHU de Béni Messous par **Badis (2012)** rapporte une fréquence de **36 %** des *S.aureus* dans les prélèvements de pus et **5%** dans les prélèvements des urines.

Les niveaux des résistances bactériennes liées à la production de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) varient d'un pays à l'autre et d'une année à l'autre donc la connaissance de la situation locale et de son évolution sont nécessaires pour le choix de l'antibiothérapie (**El Bakkouri et al., 2009**).

Durant notre étude, **30** souches d'entérobactéries productrices de BLSE sont recueillies parmi **143** bacilles à Gram négatifs identifiés soit un taux de **21%**, dont **20** souches isolées à partir des prélèvements des urines (**66.67%**) et **10** souches isolés dans les pus (**33.33%**).

Selon **Ben Redjeb et al (2000)**, l'utilisation large des β -lactamines (céphalosporines de 3^{ème} génération) a eu comme conséquence le développement d'entérobactéries résistantes par production de β -lactamases à spectre étendu. Elles sont souvent responsables d'épidémies notamment dans les unités de soins intensifs. De plus, ces résistances acquises du fait de leur déterminisme plasmidique, ont grand pouvoir de dissémination (**Larabi et al., 2003**).

En outre, le problème lié aux BLSE est surtout la présence fréquente de co-résistances rendant les souches multirésistantes (**Leotard et Negrin, 2010**). Aussi selon **Giraud-Morin et Fosse (2008)** les entérobactéries produisant une BLSE sont toujours d'actualité dans les structures de soins, malgré les mesures de prévention de leur dissémination aujourd'hui bien codifiées et on note plutôt une augmentation de leur nombre.

Les prévalences de production de BLSE que nous avons observées correspondent à peu près à celle retrouvée à Blida (**Ballit et Derdour, 2013**) et à Koléa en 2015 (**Ghalmi et Touchene, 2015**).

Par contre, ces taux sont relativement élevés en comparaison à des fréquences de **5.8%** et **7.4%** respectivement trouvées à Bejaia (**Touati, 2006**) et à Laghouat (**Lagha, 2015**) et inférieures à celles rapportées dans d'autres hôpitaux à taux élevés de BLSE, comme l'hôpital de Tlemcen (**39.22%**) (**Baba Ahmed-Kazi et al., 2013**) et à Sidi Bel Abbes (**37.1%**).

La prévalence globale de la production de BLSE a varié considérablement selon les zones géographiques des pays et dans différents structures hospitaliers. A titre d'exemple, l'Egypte a enregistré un taux élevé de **38.5%**, en revanche la Hollande a enregistré un taux très faible de **2%**(**Ho et al., 2000 ; Bouchillon et al., 2004**).La Turquie a marqué un taux de **21%**, cette valeur est égale à nos résultats.

Cependant des prévalences très faibles ont été notées dans certains pays de l'Afrique subsaharienne qui ne représentent probablement pas la réelle incidence des BLSE dans cette région car la détection de cette résistance n'est pas utilisée comme test de routine dans les laboratoires cliniques (**Elhani, 2012**)

La répartition des souches montre qu'*E.coli* représente l'espèce productrice de BLSE la plus isolée (12 souche, **40%**) suivi par *Klebsiella pneumoniae* (9souches, **30%**), *Enterobacter spp* (5souches, **17%**). Ce classement est identique à celle trouvées par **Balahouane (2013)** et **Lagha (2015)**. Pour les autres bactéries identifiées : *K.oxytoca*, *Serratia spp*, *M.morganii* et *P.rettgeri* arrivent à la dernière position avec une souche pour chacune (**3%**). Pendant notre travail aucune souche de *Pseudomonas aeruginosa* productrice de BLSE a été isolée.

Nous notons que le nombre de souches productrices de BLSE est plus élevé chez *Enterobacter spp* (**62.5%**), cette prévalence est correspondent à celle trouvée par **Debabza (2015)** à Annaba. Par contre elle est supérieure à celle retrouvée dans un travail réalisé en France par **Belmonte et al (2010)**, qui a montré un pourcentage **39%**. Ce taux est largement inférieur à celle retrouvée à Tlemcen par **Terkia Derrdra (2013)**.

Les prévalences de production de BLSE chez *E. coli* et *K. pneumoniae* que nous avons observé dans cette étude ont été de **17.9%** et **42.9%** respectivement. Ces taux sont parait être du même ordre de grandeur que les proportions trouvées respectivement par **Dioman (2008)** et **Duval et al (2009)** au Mali.

Selon **Lucet et Birgand (2011)** certaines souches à BLSE comme *K. pneumoniae* et *Enterobacter spp* sont plus facilement transmises que d'autres entre patients durant leur séjour, ce qui reflète des capacités de diffusion plus importantes.

Ainsi, **Carrer et Nordmann (2011)** ont noté que *K. pneumoniae* est l'espèce d'entérobactérie qui a démontré ses particularités d'acquisition de plasmide exprimant des β -lactamases à spectre étendu.

Selon la provenance, nous avons marqué que **60%** des souches à BLSE sont provenant des patients externes et **40%** provenant des patients hospitalisés contrairement à ce qui est rapporté dans la littérature par **Crivaro et al., (2007)**, ont également démontré que la durée de séjour à l'hôpital constitue l'un des facteurs de risque pour l'acquisition des EBLSE, ce qui suggère que le milieu hospitalier joue un rôle crucial dans la transmission de ces pathogènes. Toutefois, il est à noter que le taux EBLSE ne cesse d'augmenter partout à travers le monde, non seulement dans les infections nosocomiales, mais aussi dans les infections communautaires (**Terkia Dendra, 2013**).

Le profil de sensibilité aux antibiotiques des trente souches productrices de BLSE étudiées montre la résistance à la plupart des β -lactamines sauf l'imipénème (**0%**), le taux de résistance est de **100%** pour : Amoxicilline, Céfazoline, Céfotaxime et Ticarcilline est de **16.67%** vis-à-vis de Céfoxitine. D'après nos résultats l'imipénème est la seule β -lactamine active. Cela indiquant sa place en premier choix dans le traitement alternatif des infections sévères à bactéries multirésistantes (**Lagha, 2015**). Cependant, selon le réseau national de la surveillance des bactéries résistantes aux antibiotiques, la résistance aux carbapénèmes (IMP) commence à disséminer dans les hôpitaux algériens (**Benamrouche et al., 2009**).

Concernant la résistance à l'AMX nos résultats sont identiques à ceux de **Dioman (2008)** au Mali et de **Lagha (2015)**.

Nous avons signalé aussi dans ce travail qu'aucune souche d'*E.coli* et *K.pneumoniae* est résistante à la céfoxitine contrairement à *Enterobacter* spp où toutes les souches sont résistantes vis-à-vis de ce dernier. Des résultats semblables ont été rapportés par **Lagha (2015)** qui montrent une résistance plus importante chez *Enterobacter* spp que chez *E.coli* et *K.pneumoniae*.

Actuellement, Il est prouvé que l'utilisation des antibiotiques, notamment les céphalosporines de 3^{ème} génération dans un but thérapeutique est le facteur de risque le plus important dans le développement de résistances bactériennes (**Rubin et Samore, 2002**).

Dans notre étude, le taux de résistance des entérobactéries aux C3G (Céfotaxime) observé est de **100 %**, ce dernier est identique à celui de **Touati et al (2012)** et proche de résultats obtenus par **Ghalmi et Touchene (2015)** où ils trouvent une valeur de **95.56%**.

Cette résistance ne cesse de se renforcer depuis plus de 20 ans notamment par l'acquisition de β -lactamases à spectre élargi (**Belmonte et al., 2010**).

Néanmoins, notre étude enregistre des taux de résistance moindres aux autres familles d'antibiotiques (**50%** à Ciprofloxacine, **43.33%** à l'Acide nalidixique, **0%** à l'Amikacine et à la Gentamicine). En ce qui concerne l'acide nalidixique des taux voisins ont été obtenus représentant **46.4%** et **41,67%** dans les études établies par **Souna (2011)** et **Medboua (2011)** respectivement.

La résistance aux quinolones (CIP, NA) résulte principalement : d'une accumulation de mutations au niveau des gènes codant les cibles de ces molécules, l'hyper expression des pompes d'efflux ou l'imperméabilité qui entraînent une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique (**Merensa et Servonneta, 2010**).

Selon **Paterson et Bonomo (2005)**, les BLSE sont généralement portées par de grands plasmides qui portent aussi des gènes de résistance aux classes d'antibiotiques non β -lactamines, tels que les aminosides et les quinolones. Aussi, l'utilisation de ces antibiotiques contribue à la sélection de souches productrices de BLSE. De plus, L'utilisation intensive d'agents antimicrobiens dans les hôpitaux est l'un des facteurs qui contribue à l'émergence de souches multi-résistantes, insensibles à une large gamme d'antibiotiques (**Touati, 2013**).

La pénicilline a été présentée dans les années 40 comme étant le premier traitement efficace contre *Staphylococcus aureus*. Cependant, peu de temps après son introduction, des souches résistantes à la pénicilline sont apparues en raison d'une enzyme plasmidique : β -lactamase. (**Halem et al., 2006**).

Aujourd'hui, *S.aureus* est devenu résistant à de nombreux antibiotiques couramment utilisés. L'émergence de la résistance a donné lieu à grande crise clinique (**Ali et al., 2004**).

Notre étude a montré une prévalence importante de *S.aureus* productrice de pénicillinase (**87%**) contre une prévalence de **13%** des souches non productrices de pénicillinase. Selon **Devapriya et al (2013)**, la production de pénicillinase protège *S.aureus* contre la Pénicilline, cette enzyme hydrolyse le cycle β -lactame de la Pénicilline et la Céphalosporine et les rendant inactives.

De plus, la sensibilité des souches de *S. aureus* aux β -lactamines varie selon la molécule, **80 %** à **95 %** des souches produisent une pénicillinase qui inactive la pénicilline G et l'ampicilline, rendant leurs indications obsolètes dans le cadre d'une infection à *S. aureus*. (**Daurel et Leclercq, 2008**).

Ces pénicillinases sont extracellulaires, inductibles et généralement codées par des plasmides. Le gène codant pour cette enzyme est *bla Z* qui est porté par un plasmide ou un transposon. (Trotot-Voilliot, 2012)

Les résultats de notre étude rejoignent ceux signalés par Devapriya *et al* (2013), où ils ont trouvé une fréquence de 79%. Une autre étude menée au Maroc par Elazhari *et al* (2010) rapporte un taux de 90%, elle a été de l'ordre de 93% à Tlemcen (Rebiahi, 2012). Dans une étude menée par Faye (1997), il a trouvé 61%, ce qui est inférieur à notre valeur.

L'étude de la résistance de *S.aureu* saux ATB a révélé une résistance importante à la Pénicilline avec un taux de 100%. Ces résultats sont en corrélation avec la tendance générale observée en France depuis quelques années (Medeiros *et al.*, 2000) et avec une étude réalisée par Devapriya *et al* (2013). Des autres études menées par Patrick *et al* (2006) au Trinidad et Tobago, et par Islam *et al* (2008) au Bangladesh rapportent les même taux de résistance. Cette résistance est due à la production de pénicillinase qui confère à la bactérie de résister à la pénicilline G. Ainsi, l'hyperproduction de pénicillinase responsable de l'hydrolyse des pénicillines M, céphalosporines et des carbapénèmes. (Bismuth et Leclercq, 2000)

Pour ce qui est de la résistance des souches à l'oxacilline (la méthicilline), nous enregistrons un taux de 71%, cette résistance résulte de la production d'une protéine de liaison à la pénicilline (PLP2a) altérée qui possède une affinité diminuée pour la plupart des antibiotiques de la famille des β -lactamines (Deurenberg et Stobberingh, 2008). Cette fréquence est comparable à celui d'une étude faite par Nsofor *et al* (2016) au Nigeria (68%).

Concernant la Vancomycine et la Rifampicine, elles gardent toujours une activité sur nos souches (5%, 0% respectivement). Cette sensibilité est corroborée par Pesavento *et al* (2007), Normanno *et al* (2007) en Italie et Vazquez-Sanchez (2012) en Espagne. Néanmoins, l'émergence des souches résistantes à la Vancomycine a été déjà décrite en milieu hospitalier dans plusieurs pays, particulièrement en Algérie par Rebiahi *et al* (2011). Mais elle reste toujours active dans les hôpitaux marocains (Elhamzaoui *et al.*, 2009 ; Elazhari *et al.*, 2009).

Pour les macrolides, la résistance à l'Erytromycine était de 33% et 24% à la Clindamycine. Ces résultats se rapprochent de ceux de Badis (2012) qui a trouvé des fréquences de 33.33% et 16.67% respectivement.

Nous avons noté une résistance assez importante pour les aminosides : Kanamycine (**48%**), Amikacine (**38%**), Gentamycine (**38%**). Selon **Aouati (2009)** la résistance aux antibiotiques de la famille des aminosides est surtout une résistance associée à la résistance à la méticilline. (Une étude réalisée à l'hôpital de Mustapha Bacha en 2012 par Ait Seddik qui a trouvé que **47.94%** et **19.17%** des souches sont résistantes à la Kanamycine et à la Gentamycine respectivement.

A la fin, on peut conclure que la détermination et la compréhension des mécanismes moléculaires de l'émergence des caractères de résistance représentent l'un des buts essentiels de la bactériologie médicale pouvant faire évoluer les stratégies thérapeutiques (**Boukerzaza, 2005**)

Matériel et méthodes

Notre travail a été effectué au niveau du laboratoire central de l'hôpital Fares Yahia de Koléa durant une période de stage de 4 mois allant du mois de Février au mois de Mai 2016.

➤ Objectifs de l'étude

Cette étude a pour but :

- ✓ Dans un premier temps d'isoler et identifier les différentes souches bactériennes à partir divers prélèvements pathologiques (urine, pus).
- ✓ Dans un deuxième temps, détecter les souches productrices des enzymes β -lactamases et étudier leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques.

I. Matériel

1. Matériel biologique

Durant notre travail, nous avons utilisé différents matériels biologiques comme suit :

- ✓ 1212 prélèvements (pus et urine) à partir différents services tels que : néphrologie, pédiatrie, rhumatologie, médecine interne et aussi à des malades consultant à titre externe.
- ✓ Nous avons également travaillé avec des souches de référence :
S.aures ATCC 25923 sensible à pénicilline.
S.aures ATCC 43300 résistant à pénicilline.

2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique est représenté par : les milieux de culture, les équipements, la verrerie, les réactifs et les disques d'antibiotiques (voir annexe I).

II. Méthodes

1. Techniques de prélèvements

Le résultat des examens bactériologiques dépend pour une grande part des conditions de prélèvement et de transport de l'échantillon. Les prélèvements doivent être effectués en principe avant l'administration d'antibiotiques, tous les prélèvements sont évidemment réalisés avec du matériel stérile à usage unique en respectant les règles d'asepsie. La nature du prélèvement est en fonction du site de l'infection (Nauciel et Vildé, 2005).

1. 1 Prélèvement des urines

Après lavage hygiénique des mains et toilette soignée des organes génitaux externes, de préférence les urines du matin (au moins 4 heures après la miction précédente). Après élimination du premier jet, les urines sont recueillies dans un tube stérile (environ 10 à 20 ml), le tube est fermé hermétiquement et porté au laboratoire dans une demi-heure, sinon il faut le placer dans de la glace (**Djennane et al., 2009**).

- **Chez l'adulte**

Après toilette soignée au savon ou antiseptique doux de la région vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme suivi d'un rinçage à l'eau, l'urine vésicale doit être recueillie de façon à éviter sa contamination de la flore commensale de l'urètre et chez la femme, de la région génitale externe (**Orthez et al., 2015**).

- **Chez le nouveau-né**

Le recueil des urines est fait à l'aide d'un collecteur (poche). Ce dispositif à usage unique adapté à l'anatomie se pose après désinfection soignée du périnée. Dès la miction terminée le collecteur est enlevé (ne peut être laissé en place plus d'une 30 minute), si l'enfant n'a pas uriné, le dispositif est éliminé et remplacé par un collecteur neuf (**Françoise, 2010**).

- **Chez les porteurs de sonde à demeure**

Le recueil s'effectue par ponction sur le site spécifique du dispositif de sonde, après désinfection soignée et clampage, en suite les urines transférer dans un tube stérile (**Orthez et al., 2015**).

- **Ponction sus-pubienne**

Réaliser après une désinfection soignée des téguments, par ponction directement dans la vessie.

1. 2 Prélèvement de pus

Les prélèvements sont pratiqués par le personnel médical (les chirurgiens, les cliniciens...) :

Dans le cas où le pus est localisé dans un abcès superficiel fermé ou dans une cavité séreuse, le pus est récolté par ponction à l'aide d'une seringue stérile et cela après une désinfection soignée de la peau avec de l'alcool iodé, ensuite il est transvasé dans un tube stérile.

Dans le cas des abcès ouverts, plaies suppurées ou pustules et les fistules où le pus s'écoule à l'extérieur, le prélèvement se fait à l'aide d'un écouvillon après désinfection de la plaie. Le prélèvement est effectué dans la partie la plus profonde de la plaie tout en évitant la contamination par la flore cutanée saprophyte. L'écouvillon doit être acheminé au laboratoire et humidifié par un bouillon afin d'éviter la dessiccation de prélèvement (**Ploy et Denis, 2007**).

- **Transport et conservation du prélèvement**

- ✓ Les urines doivent être conservées au réfrigérateur (12h au maximum à 4°C) jusqu'à l'arrivée du coursier et doivent être acheminées au laboratoire dans les plus brefs délais (moins de 1heure), afin d'éviter la multiplication bactérienne.
- ✓ la conservation de pus ne doit être dépassée 2 heures à température ambiante pour les plaies profondes ou 4 heures pour les plaies superficielles, si on utilise d'écouvillon avec milieu de transport on peut le conserver 48h.

Tous les prélèvements reçus au laboratoire doivent être accompagnés d'une fiche de renseignement qui nous permet d'obtenir des informations complémentaires, elle comporte :

- Nom et prénom.
- Age et sexe.
- Service d'hospitalisation.
- Nature de prélèvements.
- Antibiothérapie en cours.

2. Examens bactériologique

2.1 Examen macroscopique des prélèvements

Cet examen nous a permis de connaître les caractères organoleptiques des prélèvements : l'odeur (purulente ou fétide), l'aspect et la couleur, qui peut fournir des renseignements intéressants et des éléments d'orientation dont il faut tenir compte (**Diop, 2001**) :

- **Urine** : normalement est un liquide jaune clair plus ou moins foncé (la couleur peut changer par les aliments), en cas d'infection on observe trouble ou hématurique.

- **Pus** : l'aspect granuleux et mal lié oriente vers la présence des streptocoques, les pus crémeux orientent vers la présence des staphylocoques ou pneumocoques.

2.2 Examen microscopique

Cet examen doit être réalisé rapidement afin de limiter l'altération des éléments cellulaires. L'examen microscopique est fondamental, il permet d'orienter le diagnostic dans tous les cas et d'envisager la suite des examens à effectuer.

A/ l'état frais et numération

But : cet examen permet d'observer :

- La présence ou l'absence des bactéries et leur mode de regroupement.
- La morphologie et la mobilité des bactéries.
- La présence des cellules d'accompagnant : soit des polynucléaire ou des lymphocytes (étude qualitative et quantitative) et leur état.
- La présence des éléments anormaux (cristaux, cylindres,...) dans les urines.

❖ Pour les pus

➤ *Technique*

Diluer le pus avec l'eau physiologique, par la suite l'étaler en utilisant l'écouvillon de prélèvement sur lame puis recouvrir lame par une lamelle. L'observation se fait au microscope optique au grossissement (X40).

➤ *Lecture*

On peut observer des bactéries (une ou plusieurs espèces), différentes cellules leucocytaires (signe d'inflammation) et des hématies (leur présence signifie des mauvaises conditions de prélèvement).

❖ Pour les urines

➤ *Technique*

Prendre une cellule de Malassez propre recouverte d'une lamelle, après remplir la pipette pasteur avec quelques millilitres d'urine puis mettre l'extrémité de la pipette sur le bord de la cellule et laisser la cellule se remplir, observer au microscope optique au grossissement (X40).

➤ **Lecture**

On compte par champ microscopique :

- ✓ Eléments organiques : cellules épithéliales, globules rouges, leucocytes (leucocyturie) et des bactéries.
- ✓ Eléments inorganique : des cristaux d'acide urique, urates et du calcium.

B/ Examen après coloration au bleu de méthylène

➤ **Principe**

La coloration au bleu de méthylène indique la réaction cellulaire, la présence ou non de polynucléaires altérés et la morphologie des bactéries (**Diop, 2001**).

➤ **Technique**

- ✓ Etaler le pus à l'aide de l'écouvillon qui a servi pour le prélèvement sur une lame propre avec des mouvements circulaires.
- ✓ Pour les urines, déposer une goutte d'urine sur une lame à l'aide d'une pipette pasteur.
- ✓ Laisser sécher quelques secondes à l'air libre et fixer à la chaleur en passant la lame au-dessus de la flamme de bec bunsen.
- ✓ Recouvrir la lame avec le bleu de méthylène, laisser agir 20 minutes.
- ✓ Rincer à l'eau et laisser sécher (fixer à la chaleur en rapprochant la lame devant le bec bunsen).
- ✓ Observer au microscope optique (GX100) avec une goutte d'huile à immersion.

➤ **Lecture**

Tous les éléments cellulaires et les bactéries apparaissent colorés en bleu.

2.3 Examen bactériologique (Mise en culture)

✓ But

La culture permet l'isolement et l'identification des germes responsables des infections, elle représente l'étape la plus importante pour le diagnostic bactériologique. Elle s'effectue en plusieurs étapes étroitement liés l'une à l'autre.

✓ Choix des milieux

Les milieux d'isolement les plus appropriés à la reprise des germes observés à l'examen direct sont ensemencés, l'orientation microscopique guidant le choix de ces milieux.

Tableau 2 : Principaux milieux de cultures ensemencés.

Milieux	Spécificité	Incubation
Gélose nutritive	Milieu de culture pour germes non exigeantes	37°C pendant 18 à 24 h
Gélose au sang frais (GSF)	Milieu d'enrichissement pour les germes qui ont l'action hémolytique (exp : <i>Streptocoques</i>)	37°C pendant 18 à 24 h en anaérobie
Gélose au sang cuit (GSC)	Milieu d'enrichissement pour les germes exigeants	37°C pendant 18 à 24 h en anaérobie
Chapman	Milieu d'isolement hypersalé (riche en Na Cl) pour les <i>Staphylocoques</i>	37°C pendant 18 à 24 h
Hektoen	Milieu d'isolement pour les <i>Enterobacteries</i> grâce à la présence des sels biliaire.	37°C pendant 18 à 24 h
Sabouraud	Milieu d'isolement pour les levures et autre champignons pathogènes.	37°C pendant 18 à 48h

✓ Technique d'ensemencement

A / Pus

L'ensemencement se fait sur cinq milieux de cultures (GSF, GSC, Hektoen, Chapman et GN).

1. Etaler le pus avec l'écouvillon de prélèvement près du bord de la boîte de pétri.
2. A l'aide d'une pipette pasteur on continue par des stries serrées jusqu'à ce que l'ensemencement ait atteint toute la surface de la boîte de pétri.
3. Incuber les GSF et GSC dans une jarre avec une bougie (atmosphère riche en CO₂) et les GN, Chapman, Hektoen sont incubées dans l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24h.

B / Urine

1. Homogénéiser le tube contenant l'urine.
2. Prélever 0.1 ml d'urine à l'aide d'une pipette pasteur, additionner à 9.9 ml d'eau physiologique pour obtenir une dilution de 1/100.
3. A l'aide d'une pipette pasteur déposer deux gouttes de dilution sur la gélose nutritive, ensuite ensemercer par étalement en surface.
4. Incuber à 37 °C pendant 18 à 24.

✚ Dénombrement des bactéries : Méthode de KASS

➤ Principe

Après l'incubation, on compte les nombres des colonies apparaissent sur la boîte et chaque colonie qui pousse à partir de l'urine diluée correspond à 1000 UFC/ml, l'interprétation se fait selon la formule de KASS :

$N = n \times 10 \times \text{inverse de dilution}$

N : nombre de germes /ml.

n : nombre de colonies sur la boîte.

➤ L'interprétation des résultats cytologique et bactériologique

Depuis les travaux de KASS l'interprétation des cultures s'effectuait de la manière suivante pour confirmer la présence ou l'absence d'infection urinaire :

- Bactériurie < 10³ CFU / ml : absence d'infection urinaire.
- Bactériurie > 10⁵CFU / ml : présence d'infection urinaire.
- Entre 10³ et 10⁴ CFU / ml : zone d'incertitude (valeurs à contrôler si besoin).

En cas d'infection urinaire, le processus inflammatoire se traduit le plus souvent par la présence de :

- > 5X 10⁴leucocytes /ml.
- > 10⁴ hématies /ml.

Tableau 3 : Interprétation des situations basées sur le contexte épidémiologique, la présence de signes cliniques, d'une leucocyturie et d'une bactériurie.

Catégories	Critères microbiologiques
Infection urinaire aigue non compliquée de la femme	≥10000 GB/ml ≥10 ³ UFC/ml uropathogènes reconnus
Pyélonéphrite aigue simple	≥10000 GB/ml ≥10 ⁴ UFC/ml uropathogènes reconnus
Infections du tractus urinaire à risque ou compliquée dont celle de l'homme	≥10000 GB/ml ≥10 ⁵ UFC/ml uropathogènes reconnus
Bactériurie asymptomatique (contrôlée sur 2 ECBU)	≥10000 GB/ml ≥10 ⁵ UFC/ml

2.4. Identification

L'identification des souches isolées est réalisée en plusieurs étapes en basant sur les caractères morphologiques des colonies sur les milieux de cultures (forme, taille, couleur, surface, l'odeur).Après l'obtention de colonies pures sur les milieux de culture, nous avons réalisé ensuite les tests de pré-identification : aspect des colonies, Gram, oxydase, catalase, type respiratoire. Nous avons utilisé les milieux de la galerie classique afin de différencier les bacilles à Gram négatif fermentaires ou non.

2.4.1 Coloration de Gram

But :

La coloration de Gram permet de différencier les bactéries selon la structure de leur paroi: bactérie à Gram positive et bactérie à Gram négative, il permis ainsi d'apprécier la morphologie, le mode de groupement, l'abondance et l'aspect polymorphe de la flore bactérienne.

➤ *Principe et technique :*

La coloration de Gram basée sur la perméabilité de la paroi bactérienne à l'alcool. Cette perméabilité dépend de la composition de la paroi, elle s'effectue en trois étapes, en premiers temps le colorant violet pénètre dans les cellules bactériennes, et colore le cytoplasme de toutes les bactéries en violet.

En suite l'alcool dissout le violet de gentiane, si la paroi bactérienne est perméable à l'alcool, celui-ci pénètre dans les bactéries et décolore leur cytoplasme. Si les bactéries ont une paroi imperméable à l'alcool elles restent colorées en violet. A la fin, la fuschine recolore en rose les bactéries précédemment décolorées.

Lecture : on observe la lame au microscope optique (GX100) et l'interprétation se fait selon la couleur : Gram (+) : violet.

Gram (-) : rose.

2.4.2 Tests d'orientation

Test de la catalase

➤ *Principe*

La catalase est une enzyme présente chez les bactéries aérobies et anaérobies facultatif dégrade le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui est toxique pour les bactéries. Ce test permet de différencier les staphylocoques des streptocoques (**Denis et al., 2007**).

➤ *Technique et lecture*

Prélever une petite quantité de culture à l'aide d'une pipette pasteur, réagir la colonie dans une goutte de l'eau oxygénée (H_2O_2) déposée sur une lame. Une réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (O_2).

✚ Test d'oxydase

➤ *Principe*

Ce test permet de faire la différenciation entre les Entérobactéries et les *Pseudomonas*, à la base de mettre en évidence de l'enzyme : diamine oxydase chez les bactéries à Gram négatif qui le produisent.

Cette enzyme est capable d'oxyder le réactif N-diméthyl- paraphénylène diamine, cette réaction libère un composé coloré en rose-rouge.

➤ *Technique*

Déposer un disque d'oxydase sur une lame, après prélever une colonie bien isolée et l'écraser sur le disque, laisser agir pendant 30s.

➤ *Lecture*

-Coloration violette foncée puis noire : Oxydase (+) —→ *Pseudomonas*.

-Absence de coloration : Oxydase (-) —→ Entérobactéries.

✚ Test de coagulase

➤ *Principe*

La coagulase est une enzyme présente chez les souches de *Staphylococcus*, capable de coaguler le plasma humaine et de lapin. La recherche de cette enzyme se fait par le Staph-plus qui permet la détection du facteur d'affinité pour le fibrinogène de protéine A et des polysaccharides capsulés de *S.aureus*.

➤ *Technique*

-Déposer une goutte de réactif latex dans un cercle de la carte d'agglutination.

-Prélever une colonie bien isolée et faire réagir avec le réactif.

-homogénéiser par des mouvements circulaires.

➤ *Lecture*

-Présence d'agglutination : test positif.

-Absence d'agglutination : test négatif.

2.4.3 Identification biochimique

A / La galerie classique

✚ Milieu T.S.I (Triple Sugar Iron)

➤ *Principe*

Ce milieu permet de différencier entre les espèces dites fermentants ou non-fermentants, il consiste à étudier la fermentation de trois sucres (glucose, lactose, saccharose), d'apprécier la production ou non de H₂S et de noter la production ou non de gaz à partir du glucose.

➤ *Technique*

Elle consiste à ensemencer une colonie prélevée à l'aide d'une pipette pasteur stérile en stries serrées la pente de la gélose puis par piqûre centrale le culot. La lecture se fait après 24h d'incubation à 37°C.

➤ *Lecture*

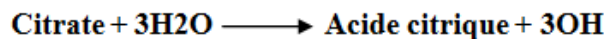
- Virage de couleur de la pente vers le jaune : fermentation de lactose et saccharose.
- Virage de couleur de la pente vers le jaune : fermentation de glucose.
- Noircissement de du milieu : production de H₂S.
- Formation de bulles de gaz dans la masse du culot : production de gaz.

✚ Milieu du Citrate de Simmons (CS)

➤ *Principe*

Ce milieu contient un indicateur de pH qui est le bleu de bromothymol, ce qui confère au milieu une coloration verte à l'état acide. Les germes qui utilisent le citrate comme seule source de carbone entraînent une alcalinisation du milieu, d'où le virage du vert au bleu.

Nous avons la réaction suivante :



➤ *Technique*

Ensemencer le milieu par des stries serrées en laissant une partie comme témoin, après incuber à 37 °C pendant 24h.

Lecture

- Virage de couleur de vert au bleu : Citrate positive.
- Le milieu reste vert : Citrate négative.

✚ Milieu Urée-Indole

➤ *Principe*

C'est un milieu liquide dans lequel on recherche trois caractères :

- La production d'uréase : qui dégrade l'urée en carbonate d'ammonium, qui se provoque l'alcalinisation du milieu.
- La formation de l'indole : à partir de tryptophane grâce à l'enzyme tryptophanase, (après addition du réactif de Kovacs).
- la présence de TDA : Le tryptophane désaminase agit sur le tryptophane en produisant l'acide indole- pyruvique(AIP), qui en présence de perchlorure de fer(FeCl_3) donne une coloration rouge-brun.

➤ *Technique*

-Ensemencer une colonie dans le milieu urée-indol pour la recherche de l'urée, puis incubé 24h à 37°C.

-Après l'incubation, ajouter quelque goutte de réactif Kovacs pour la mise en évidence de l'indole et de réactif de TDA.

➤ *Lecture*

-Changement de coloration de jaune au rose : Uréase (+).

-Absence de virage de couleur : Uréase (-).

-Formation d'anneau rouge après l'addition de Kovacs: Indole (+).

-Virage de couleur au rouge-brun : TDA(+).

✚ Milieu Clark et Lubs

➤ *Principe*

Ce milieu permet de réaliser deux tests : La réaction de Voges-Proskauer (VP) ou acétoïne et la réaction au rouge de méthyle (RM), qui permettent de différencier entre la fermentation par voie butan-2,3-diol et la voie des acides mixtes.

➤ *Technique*

-Prendre une colonie bien isolé à l'aide d'une pipette pasteur et l'ensemencer dans le milieu Clark et Lubs.

-Incuber à 37°C pendant 24h.

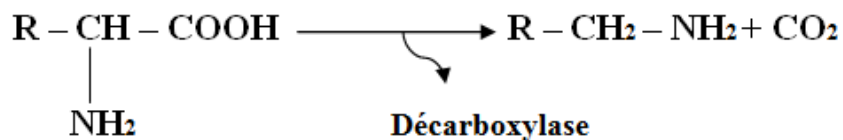
➤ **Lecture**

- Pour la réaction de Voges-Proskauer : Avant de la lecture ajouter les réactifs suivant : deux gouttes de soude NaOH (VPI) et deux gouttes d'alpha-naphtol(VPII) pour accélérer la réaction et favoriser l'oxydation. L'apparition d'une coloration rose après 10mn signifiant que la bactérie est VP+.
- Pour la réaction au rouge de méthyle (RM) : ajouter quelques gouttes de réactif RM : si le milieu prend une coloration rouge la réaction est RM+, s'il reste jaune la réaction est RM-.

✚ **Recherche de dégradation des acides aminés par une décarboxylase**

➤ **Principe**

Les décarboxylases : l'ornithine décarboxylase (ODC), la lysine décarboxylase (LDC) et l'arginine déshydroxylase (ADH), sont des enzymes sécrétées par certaines bactéries, elles scindent les acides aminés, entraînant la formation de l'amine correspondante et la libération de CO₂ selon la réaction suivante :



Il s'agit d'enzymes induites dont la synthèse est favorisée par un pH acide (pH optimum : 3,5 à 5,5) et des conditions anaérobioses.

Le milieu d'étude contient du glucose, un indicateur coloré (le rouge phénol) et bien entendu l'acide aminé. On utilise pour la recherche des décarboxylases un milieu témoin sans acides aminés.

Chez les bactéries, la fermentation du glucose entraîne une baisse de pH qui fait virer l'indicateur au jaune. L'alcalinité due à la décarboxylation de l'acide aminé entraîne ensuite le virage de l'indicateur au violet après une courte phase de jaunissement. (**Minor et Veron, 1989**).

➤ **Technique**

Inoculer les trois tubes d'acides aminés par une suspension bactérienne à étudier ainsi qu'un témoin, ensuite ajouter quelques gouttes d'huile de vaseline, puis les incuber à 37°C pendant 24h.

➤ **Lecture**

- Le témoin devient jaune et le tube d'acide aminé violet : décarboxylase positive.
- Le témoin devient jaune et le tube d'acide aminé jaune : décarboxylase négative.
- Si le témoin reste violet : test à refaire.

✚ **Test d'ONPG (Orthonitrophénylβ-D-Galactopyranoside)**

➤ **Principe**

Ce test consiste à la recherche de l'enzyme β-Galactosidase par les germes étudiés, ce dernier dégrade le lactose en deux molécules : Glucose et Galactose.

Le test à l'ONPG est une technique basée sur l'action directe de l'enzyme sur une molécule chromogène l'ortho-nitrophényl-b-D-galactopyranoside. Ceci est utilisé comme substrat et libèrent respectivement l'orthonitrophénol de couleur jaune et le b-naphtol.

➤ **Technique**

Préparer une suspension bactérienne, introduire le disque d'ONPG à l'aide d'une pince flambée, incuber 24h à 37°C.

➤ **Lecture**

-Couleur jaune : ONPG (+).

-Pas de coloration : ONPG (-).

B/ La Galerie API 20E

➤ **Principe**

La galerie se compose de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés pour la mise en évidence d'enzymes ou de fermentation de sucres. Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense réalisée à partir d'une culture pure, qui réhydrate les substrats. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par les virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

➤ **Technique**

- On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide et on place la galerie dans la boîte d'incubation.
- On prélève quelques colonies et on prépare une suspension bactérienne dans l'eau distillée stérile.
- On remplit les tubes et cupules des tests CIT, VIP et GEL avec la suspension bactérienne et on remplit uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- On réalise une anaérobiose dans les tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
- On referme la boîte d'incubation qu'on incube à 37°C pendant 24H.
- Après incubation, on note sur la fiche de résultat toutes les réactions spontanées.
- La révélation des trois TDA, VP et indole est faite par l'ajout des réactifs nécessaires (TDA, VP1, VP2 et KOVACS).

➤ **Lecture**

La lecture des galeries API20E se fait selon les indications du fournisseur. Après codification des réactions en profil numérique :

- les tests regroupés en groupe de 3 prennent les chiffres (1,2 ou 3) pour le test positif et le chiffre 0 pour test négatif.
- On obtient un nombre de 7 chiffres (profil numérique).

L'identification est alors obtenue en comparant avec le catalogue analytique.

2.5. L'antibiogramme

➤ **Principe**

L'antibiogramme est l'examen biologique destiné à mesurer l'interaction entre chacune des molécules antibactériennes utilisables et une souche bactérienne susceptible d'être pathogène. Le résultat contribue à évaluer la sensibilité de la souche bactérienne examinée ou sa résistance, ce qui signifie que la molécule sera probablement active au sens thérapeutique ou le traitement sera un échec (**Scavizzi et al., 2000**).

Pour chaque souche identifiée un antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton, selon la technique de l'écouvillonnage, selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. (CA-SFM-2015).

➤ **Technique**

✓ **Milieu de culture**

C'est la gélose de Mueller-Hinton coulé en boîte de pétri sur une épaisseur de 4 mm. Les boîtes doivent être séchées à 37°C avant leur emploi.

✓ **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure de 18H à 24H sur milieu d'isolement, on prélève à l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées qu'on dissocie dans 10ml d'eau physiologique, bien homogénéiser la suspension bactérienne, sa charge doit être équivalente à 0,5 McFarland (correspondant à environ 10^8 bactéries/ml).

✓ **Ensemencement**

- Tremper l'écouvillon dans la suspension bactérienne, frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface, de haut en bas, en stries serrées.
- Etaler à trois reprises sur la surface entière de la gélose, après chaque application faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et tourner la boîte à environ 60° afin d'obtenir une distribution égale de l'inoculum.
- Faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Déposer les disques d'antibiotiques à tester à l'aide d'une pince stérile en appuyant légèrement, puis incuber les boîtes pendant 24H à 37°C.

➤ **Lecture**

Mesurer avec précision les diamètres de chaque zone d'inhibition en mm à l'aide d'un pied de coulisse et classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante en se référant aux normes de CA-SFM 2015. (Voir annexe IV).

2.5.1. Méthodes de détection de la β -lactamase

2.5.1.1. Recherche de la β -lactamase à spectre élargi chez les bacilles à Gram négatifs

La détection de la résistance aux C3G est une étape essentielle dans la décision thérapeutique et la surveillance épidémiologique.

Les souches d'entérobactéries présentant un diamètre réduit à la Céfotaxime avec ou sans image de synergie (CTX-AMC), les souches de *Pseudomonas spp* et *Acinetobacter spp* présentant un diamètre réduit à la Céftazidime avec ou sans image de synergie (CAZ-TCC) ou l'imipénème ont été retenues.

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes :

- Céfotaxime (CTX \leq 27mm)
- Ceftazidime (CAZ \leq 22mm)
- Ceftriaxone (CRO \leq 25mm)
- Aztréonam (ATM \leq 27mm).

Les BLSE ont été mises en évidence selon les techniques suivantes :

A/ Test de synergie

➤ *Principe*

Il consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamases et un disque C3G (ceftriaxone, ceftazidime et cefotaxime) ou un monobactam (aztréonam). Cette image dite en bouchon de champagne est caractéristique de la présence de BLSE. Un résultat positif est basé sur l'inhibition des BLSE par l'acide clavulanique et par conséquent l'augmentation de l'activité des céphalosporines de troisième et quatrième génération en présence d'acide clavulanique (**Robin et al., 2012**).

➤ *Technique*

La recherche de BLSE est fait dans les conditions standard de l'antibiogramme, en disposant les disques d'ATB : un disque d'Amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10 μ g) à 30 mm (centre à centre) des disques de C3G (CTX 30 μ g, CRO 30 μ g, CAZ 30 μ g) et/ou l'aztréonam (ATM 30 μ g) pour les entérobactéries et TCC (Ticarcilline+clavulanate) (75 /10 μ g) pour les *Pseudomonas spp* et les *Acinetobacter spp* sur les boites de Pétri. Puis incubation pendant 24h h à 37°C.

➤ **Lecture**

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie (bouchon de champagne) entre les disques :

- Pour les entérobactéries :
 - AMC et CTX.
 - AMC et ATM.
 - AMC et CAZ
- Pour les *Pseudomonas spp* et les *Acinetobacter spp* :
 - TCC et CAZ.
 - TCC et ATM.
 - TCC et CTX.

La lecture du test de synergie s'avère souvent délicate pour cela un test complémentaire doit être pratiqué.

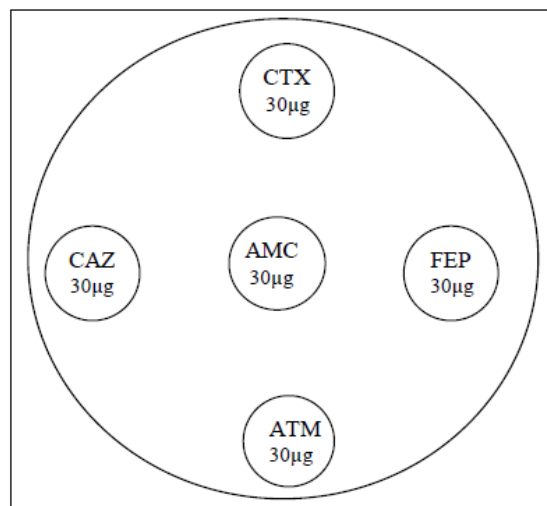


Figure 5 : Disposition des disques pour le test de synergie.

B/Test du double disque (test espagnol)

Ce test est fait pour les souches qui ne présentent pas une image de synergie, avec diminution des diamètres des céphalosporines de 3ème génération.

➤ **Principe**

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

➤ **Technique**

- A partir d'une culture de 18h préparer une suspension, ensemencée une gélose Mueller-Hinton selon la technique de l'antibiogramme :
- Pour les entérobactéries on dépose un disque d'AMC et un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (céfotaxime) à une distance de 30mm (centre à centre).
- Pour *Pseudomonas spp* et *Acinetobacter spp* on dépose un disque de TCC avec un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (ceftazidime) ou monobactam (aztréonam) à une distance de 30mm.
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse en mettant le couvercle de la boîte en haut).
- Après diffusion, on enlève le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de céfotaxime, ceftazidime ou aztréonam selon la souche.
- On incube la boîte 37°C pendant 24 H.

➤ **Lecture**

Le test est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération.

2.5.1.2 Recherche de β -lactamase chez *Staphylococcus aureus*

❖ **Test de Trèfle :**

La recherche de β -lactamase est réalisée pour toute souche présentant un diamètre à la pénicilline < 28mm.

➤ **Technique**

- Ensemencer une souche de référence de *S.aureus* ATCC 25923 (sensible à la pénicilline) sur une gélose Mueller-Hinton.
- Appliquer un disque de pénicilline G au centre de la boîte.
- Ensemencer en stries radiales (du centre de la boîte au périphérique) la souche à tester prélevée à partir d'une culture pure de 18h la souche témoin négatif (*S.aureus* ATCC 25923) et la souche témoin positive (*S.aureus* ATCC43300 résistante à la pénicilline).
- Incuber la boîte 18h à 35°C.

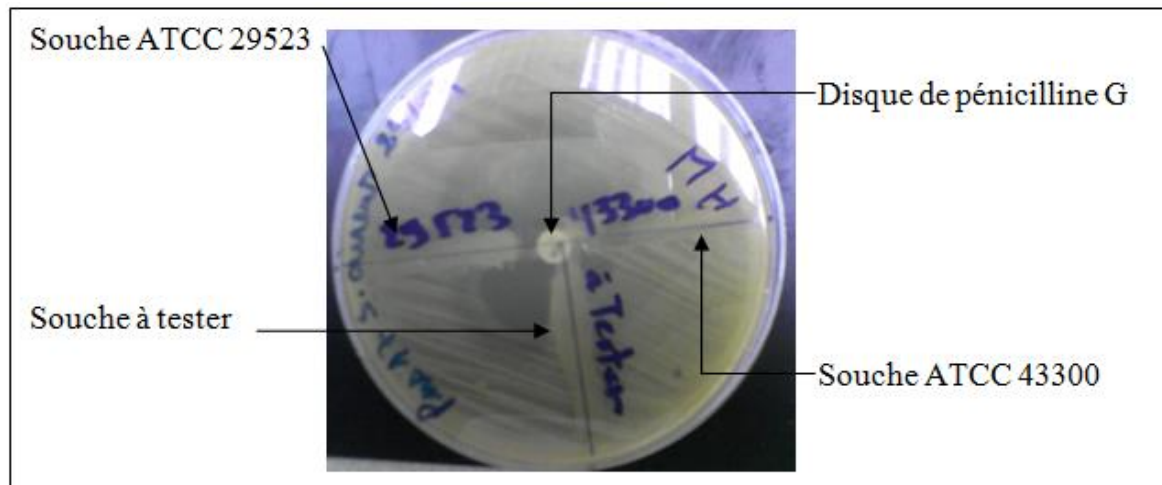


Figure6 : Présentation de Test de trèfle.

➤ **Lecture**

La production de β -lactamase (pénicillinase) par la souche à étudier et la souche témoin positive induit la culture de la souche témoin négative jusqu'au contact du disque de pénicilline.

I. Résultats

Durant la période de notre stage pratique au niveau du laboratoire central de l'établissement public hospitalier « Fares Yahia » de Koléa, nous avons collecté **1212** prélèvements, dont **1151** prélèvements d'urine et **61** prélèvements de pus, adressés pour un examen cyto bactériologique.

Les données représentant le dénombrement total des échantillons et leurs interprétations sont étudiées dans cette partie.

1. Etude statistique des prélèvements

1.1. Fréquence d'isolement

Les résultats de l'examen cyto bactériologique des urines montrent que parmi les **1151** prélèvements d'urines reçues au laboratoire, **117** prélèvements se sont révélés positifs (**10%**) (présence d'infection urinaire), **960** prélèvements négatifs (**83%**) et **74** échantillons du nombre total sont destinés à refaire (**7%**) à cause de la présence d'une flore microbienne polymorphe (prélèvement contaminé) ou bien, d'une discordance entre l'examen direct et la culture (leucocyturie sans germes).

On note aussi selon nos résultats que parmi les **61** prélèvements de pus adressés, **38** sont positifs (62%), et 20 sont négatifs (33%), avec un taux de 5% des prélèvements contaminés.

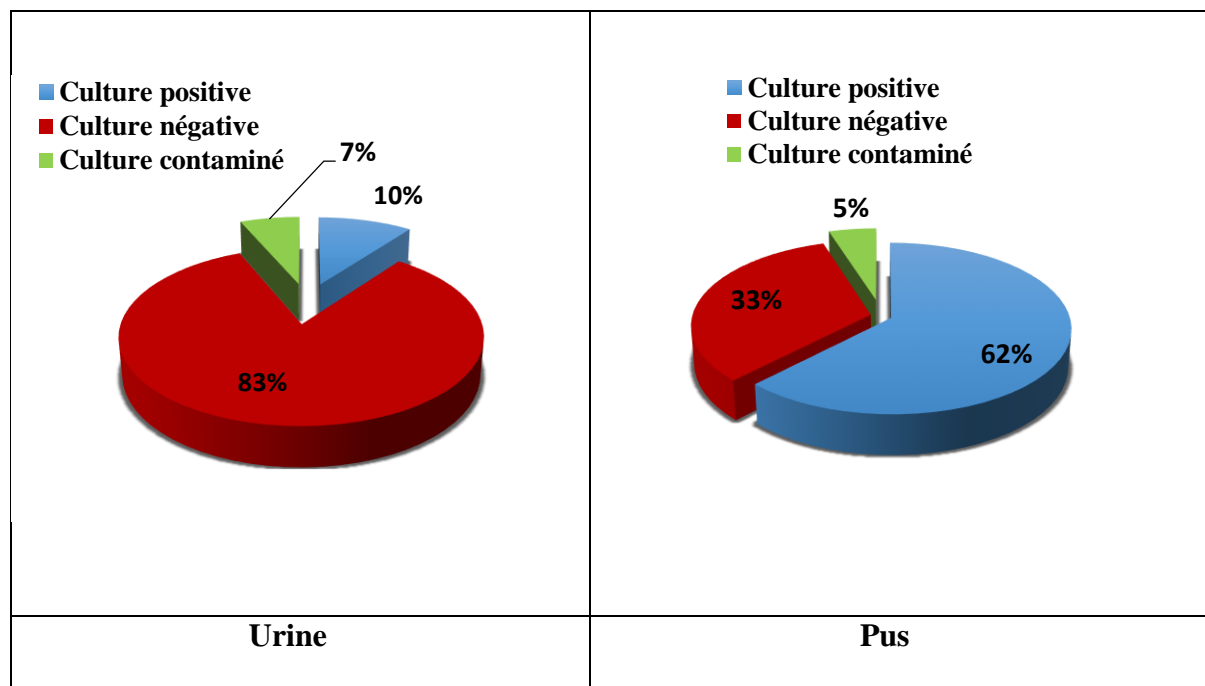


Figure 7 : Répartition des cas positifs, négatifs et contaminés.

1.2. Répartition des cas positifs selon leurs origines

Durant la période d'étude, nous avons reçu **155** cas positifs dont, **117** prélèvements révélés positifs des patients externes à l'enceinte hospitalière et seulement **38** prélèvements des patients hospitalisés dans les différents services de l'hôpital (pédiatrie, médecine interne, chirurgie,...).

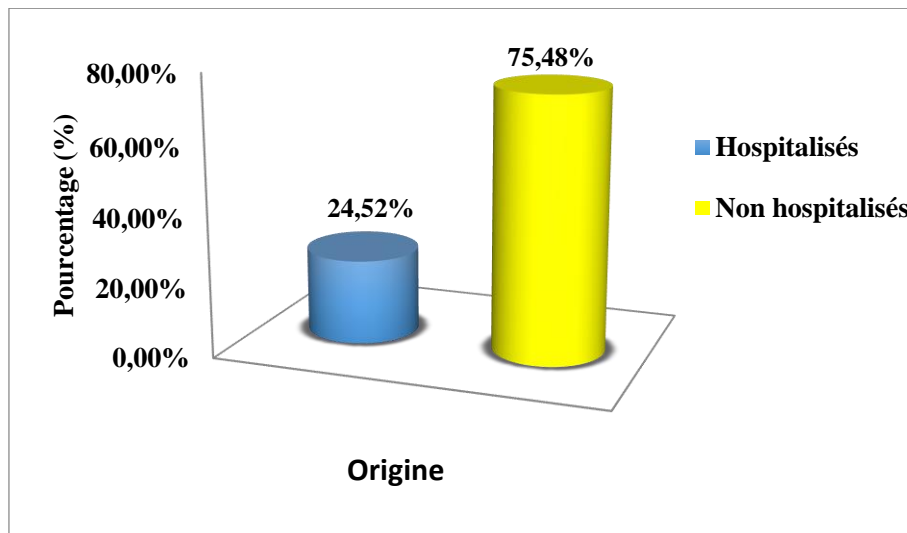


Figure 8 : Répartition des cas positifs selon leurs origines.

Nous avons constaté également que la plupart des échantillons proviennent des patients traitant à titre externe (**75.48%**) comparé avec un faible taux chez les patients hospitalisés (**24.52%**).

1.3. Répartition des cas positifs selon le sexe

D'après notre étude, en constatant également une prédominance des infections urinaires chez les femmes (**67%**), avec une fréquence plus au moins faible chez les hommes (**33%**). Le sex-ratio femme/homme = $78/39 = 2$. Il y'a donc deux fois plus de patient de sexe féminin que de patient de sexe masculin.

Contrairement aux prélèvements de pus, où nous avons noté que le taux des infections chez les hommes est plus élevé (**58%**) par rapport aux femmes (**42%**), avec un sexe ratio de **0.73**, donc il n'y'a pas une différence entre les deux sexes.

La répartition des cas positifs en fonction de sexe des patients est illustrée dans la figure 9.

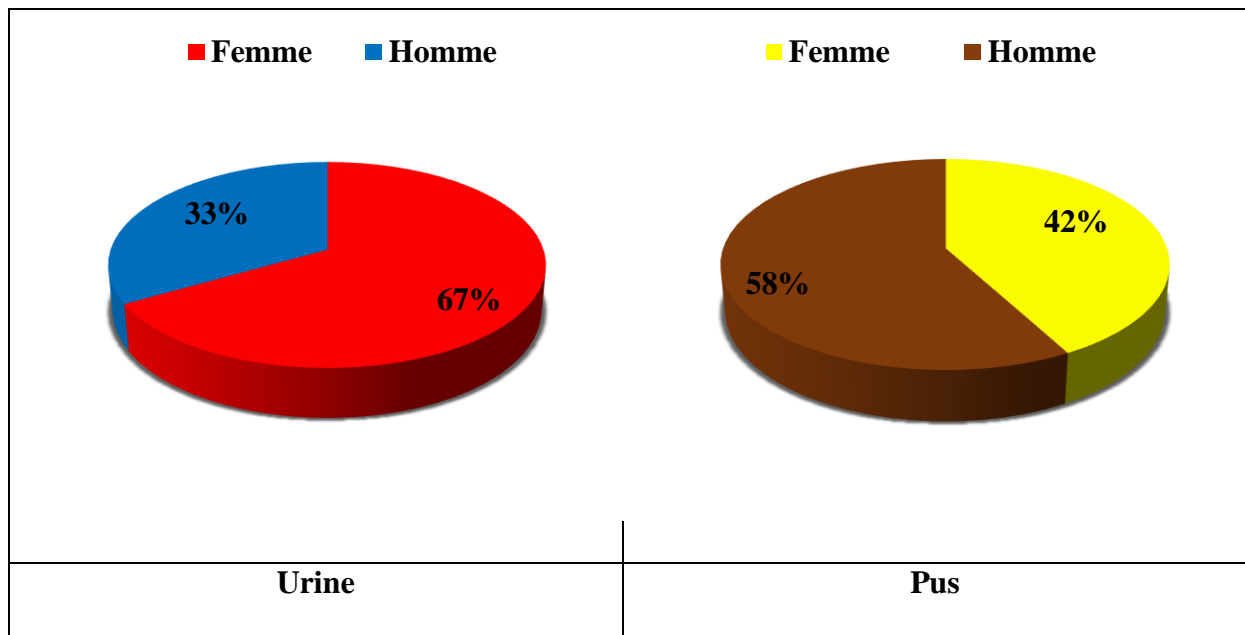


Figure 9 : Répartition des cas positifs selon sexe.

1.4. Résultats de l'identification bactériologique

1.4.1 Coloration de Gram

Les résultats obtenus après la coloration de Gram des bactéries isolés à partir des pus et urines à révéler que parmi les **179** cultures positives, **143** sont des bacilles à Gram négatif et **36** sont des cocci à Gram positif.

Selon nos résultats, nous remarquons que la plupart des souches isolées dans notre étude sont des bacilles à Gram négatifs avec un pourcentage de **79.89%**, par rapport au cocci à Gram positif qui représentent un faible taux de **20.11%**.(Voir annexe V : tableau 10).

1.4.2 Résultats de l'identification biochimique

L'identification biochimique nous a permis d'identifier les différents germes isolés et leur répartition. (figure10).

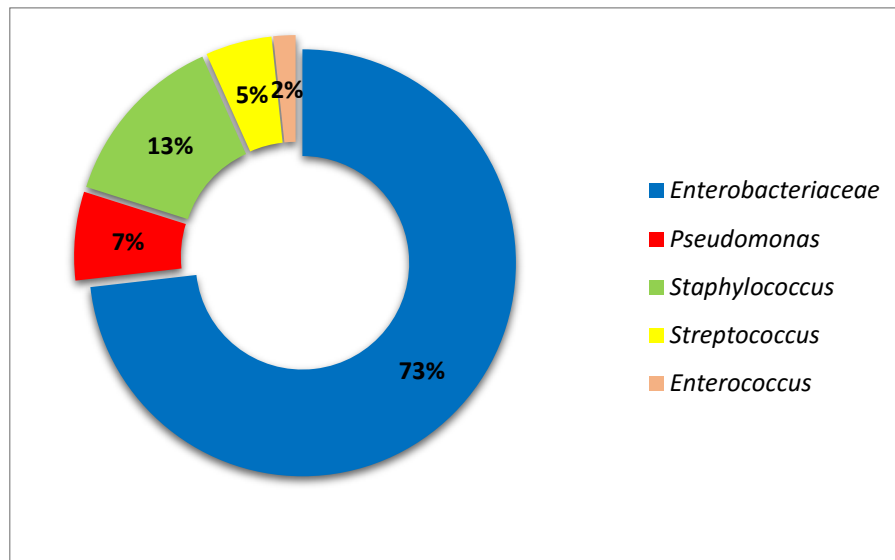


Figure 10 : Fréquence globale des germes isolés.

On observe que la majorité des germes isolés sont des entérobactéries avec un taux de **73%** suivie par *Staphylococcus* (**13%**) et *Pseudomonas* (**7%**). Les Streptocoques sont présents à raison de **5%** du total des germes et enfin les entérocoques à seulement **2%**.

1.4.3 Distribution des germes isolés selon la nature de prélèvement

Selon la nature des prélèvements, il est à indiquer que les entérobactéries sont les plus isolés dans les deux types de prélèvements (**86%** dans les urines et **48%** dans les pus) suivi par *Staphylococcus* qui occupent une place importante dans les pus avec un taux de **27%** et représentent un taux de **6%** dans les urines, on note aussi un taux faible des *Enterococcus* (**2%**) dans les deux type de prélèvements (figure11).

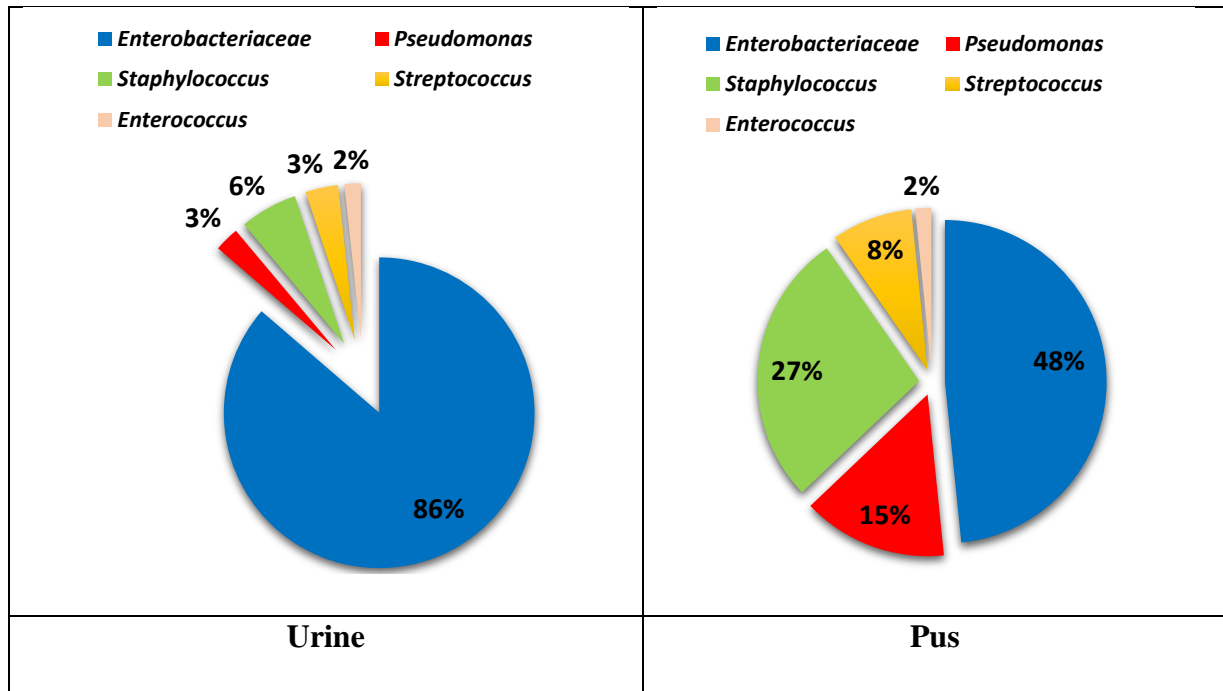


Figure11 : Distribution des germes isolés selon la nature de prélèvement.

1.4.4 Répartition des espèces d'entérobactéries isolées

L'analyse des espèces identifiées par rapport à l'ensemble des souches d'entérobactéries isolées a montré une prédominance d'*Escherichia coli* avec **67** souches soit **51.15%**, suivie par *Klebsiella pneumoniae* avec **21** souches (**16.03%**), *Klebsiella oxycytoca* avec **13** souches (**9.92%**) et finalement *Proteus spp* avec **14** souches (**10.69%**).

Les différentes espèces de *Proteus* sont représentées par *Proteus mirabilis* (**6.11%**), *Proteus vulgaris* (**0.76%**) et *Proteus rettgeri* (**3.82%**).

Les autres entérobactéries viennent en dernière position avec **16** isolats soit **12.21%** et qui correspond à *Morganella morganii* (**3.05%**), *Enterobacter spp* (**6.11%**) et une souche de *Serratia spp*. Répartition de ces espèces sont illustrés dans le tableau 13 (Voir annexe V).

2. Etude statistique des souches productrices de β -lactamases

2.1. Taux des bacilles à Gram négatif productrices de β -lactamase à spectre élargi

Au total, nous avons relevé la présence de **30** souches productrices de β -lactamase (BLSE) (**21%**) Parmi les **143** bacilles à Gram négatif, avec **113** souches ne produisent pas de BLSE (**79%**).

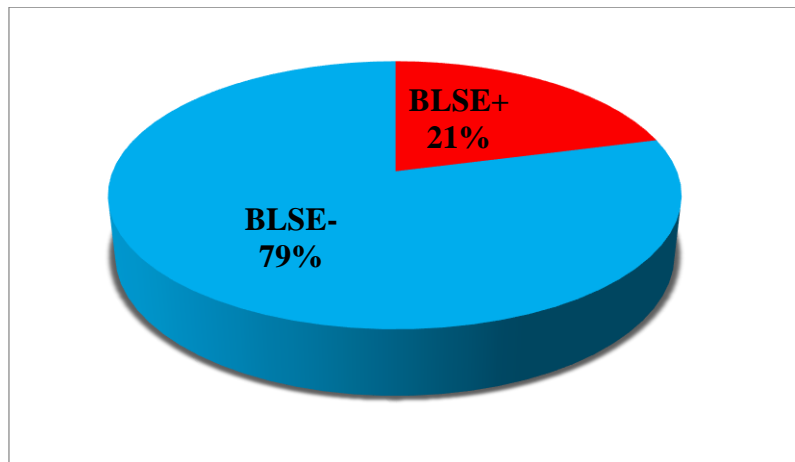


Figure 12 : Taux des bacilles à Gram négatif productrices de BLSE.

2.2. Distribution des BLSE parmi les prélèvements

La répartition des **30** cas des souches productrices de BLSE est mentionnée dans la figure ci-dessous :

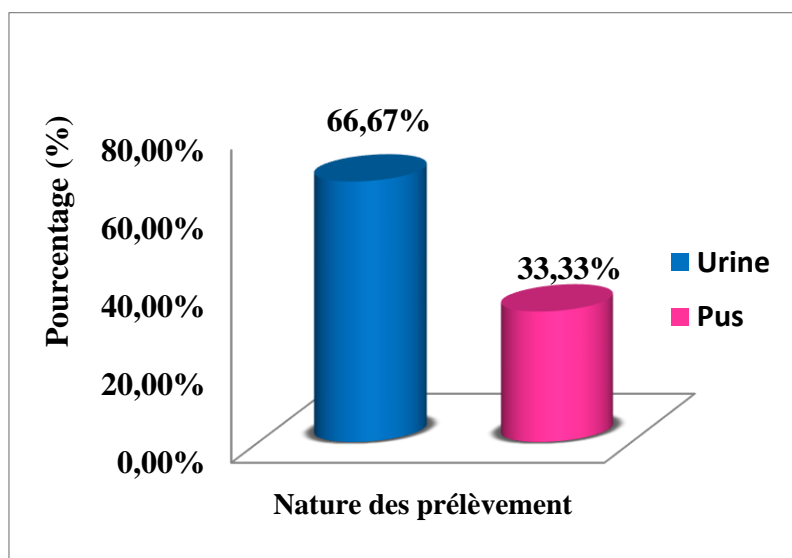


Figure 13 : Distribution des BLSE parmi les prélèvements.

La répartition des sites anatomiques présentée dans la figure 13, montre que le site le plus concerné par les BLSE était les urines (**66.67%**), suivis par le prélèvement de pus avec un taux de **33.33%**.

2.3. Répartition des BLSE selon la provenance

Nous avons identifié **18** souches d'origine communautaires et **12** souches proviennent des patients hospitalisés.

Les résultats illustrés dans le tableau 14 (Voir annexe V) montrent une prédominance des souches productrices de β -lactamase à spectre élargi communautaires par rapport aux souches hospitalières.

2.4. Répartition des BLSE selon l'espèce

Nous avons relevé la présence de **30** souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu, les souches productrices de BLSE sont réparties comme suit : 12 *Escherichia coli*, 9 *Klebsiella pneumoniae*, une souche de *Klebsiella oxytoca*, 5 *Enterobacter*, une souche de *Proteus rettgeri*, une souche de *Morganella morganii* et une souche de *Serratia spp*.

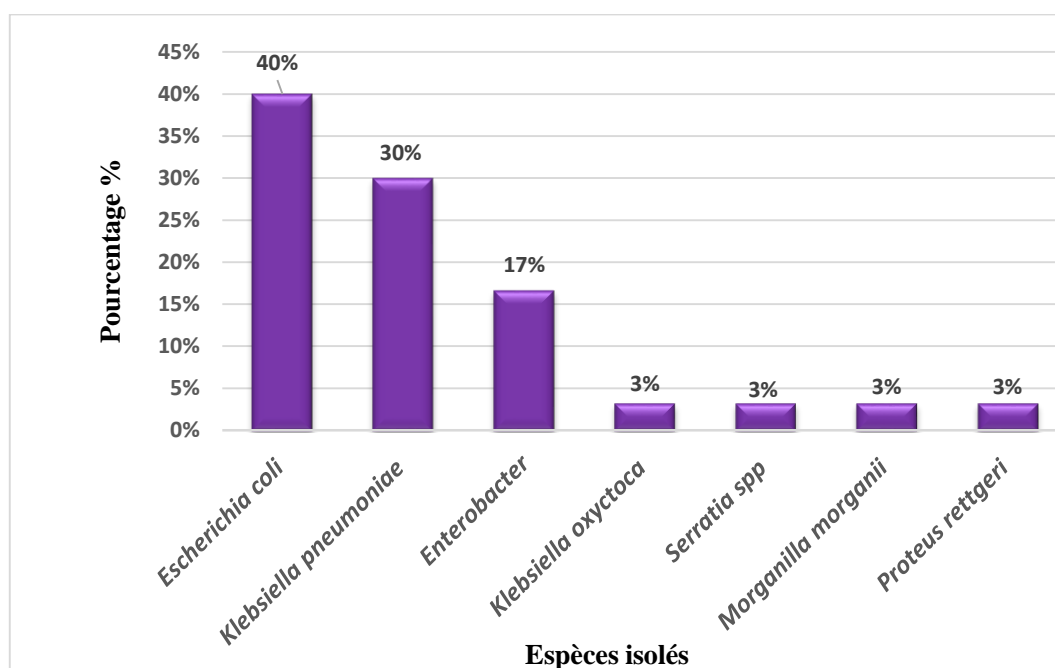


Figure 14 : Répartition des germes producteurs de BLSE.

2.5. Sensibilité des entérobactéries productrices de BLSE aux antibiotiques

Les souches d'entérobactéries productrices de BLSE ont été testées vis-à-vis de 10 molécules d'antibiotiques appartenant à 3 familles différentes dont 6 β -lactamines, 3 aminosides et une quinolone. Les résultats sont illustrés dans la figure 15.

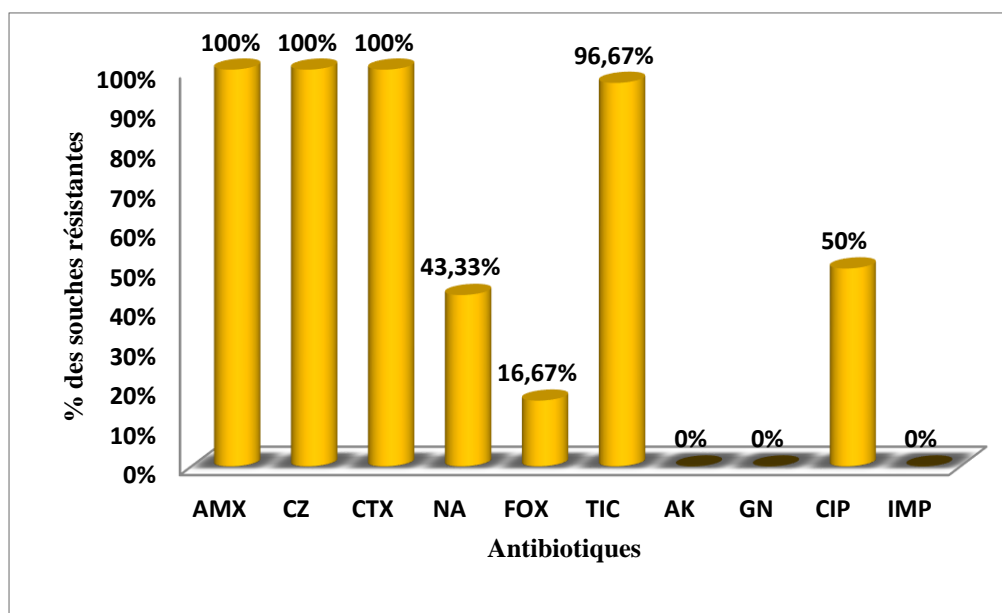


Figure 15 : Pourcentage de résistance des entérobactéries aux différents antibiotiques.

On note d'après la figure 15 que les souches d'entérobactéries sont montrées une résistance à du nombreux antibiotiques. Les taux de résistances étaient les suivants : Céfotaxime, l'Amoxicilline et Céfazoline avec un taux de **100%**, et à la Ticarcilline (**96.67%**), suivi par Ciprofloxacine (**50%**), l'Acide nalidixique (**43.33%**) et Céfoxitine (16.67%). Aucune souches également n'a été retrouvées résistantes à l'Amikacine, ni à la Gentamicine, ni à l'Imipénème qui restent les antibiotique de choix qui inhibent la croissance de toutes les souches d'entérobactéries isolées.

2.5.1. *Escherichia coli* BLSE

Les résultats de l'étude de la sensibilité des 12 isolats d'*Escherichia coli* productrices de BLSE montrent que toutes les souches sont **100%** résistantes à l'amoxicilline, à la Ticarcilline, Céfoxatime, Céfazoline. Ainsi, les souches étaient résistantes à l'Acide

nalidixique (**83%**) et à la Ciprofloxacine (**58%**). Une bonne activité a été marquée pour l'Impénème, l'Amikacine, la Céfoxitine et la Gentamicine avec **100%** de souches sensibles.

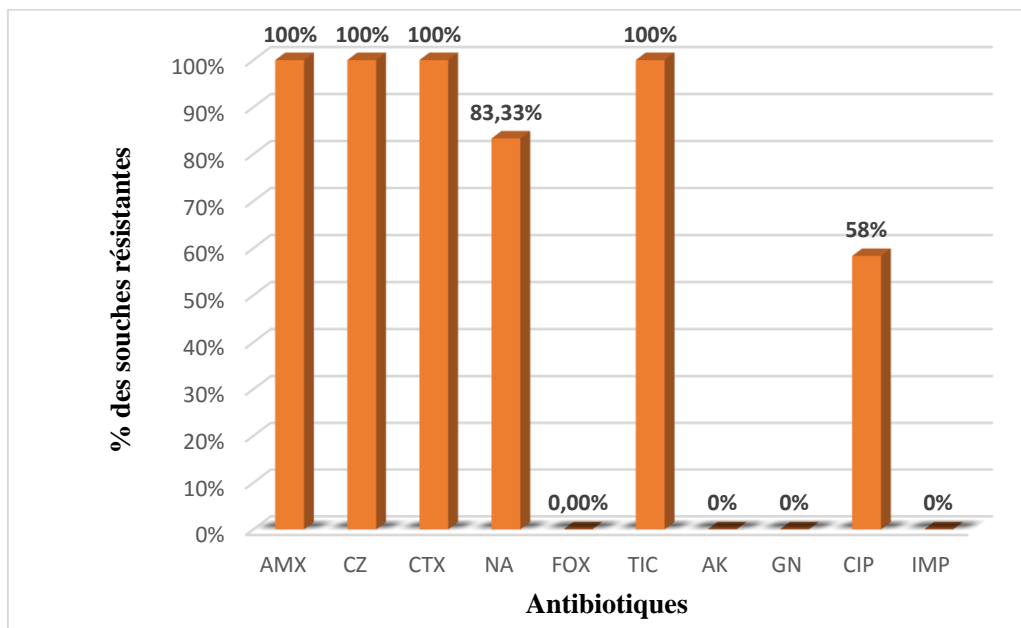


Figure 16 : Taux de résistance d'*E.coli* aux antibiotiques.

2.5.2. *Klebsiella pneumoniae* BLSE

L'étude de la résistance de 9 souches de *Klebsiella pneumoniae* révèle des taux de résistance très élevés pour la Céfoxatime (**100%**), l'Amoxicilline (**100%**), la Ticarcilline (**100%**) et la Céfazoline (**100%**).

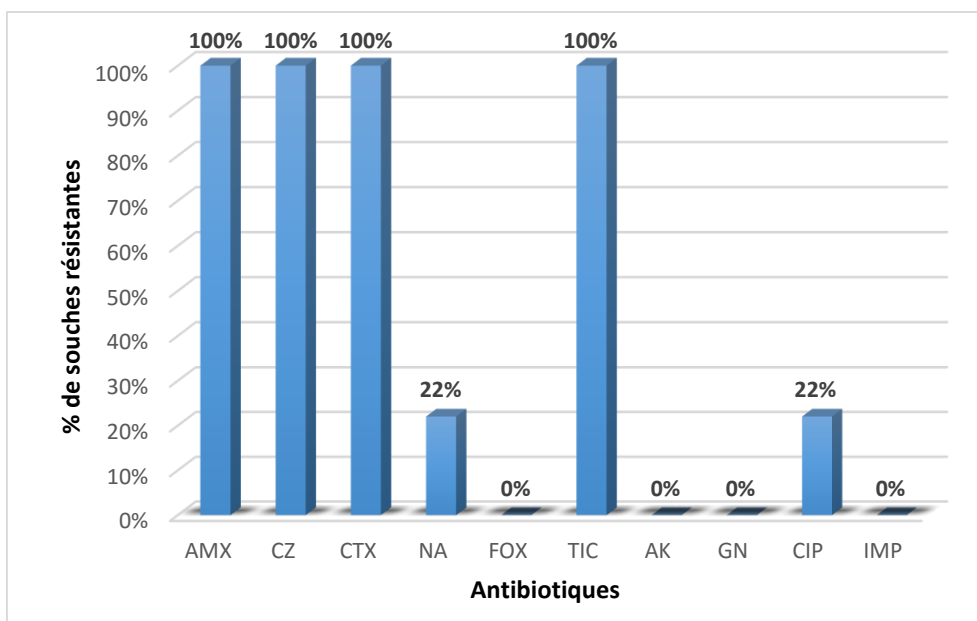


Figure 17 : Profil de résistance de *K.pneumoniae* aux antibiotiques

Concernant les quinolones, on assiste à une résistance assez marquée pour l'Acide nalidixique et la Ciprofloxacine (**22%**). En revanche une excellente activité est enregistrée pour les autres antibiotiques (FOX, AK, GN et IMP) dont on a constaté 0% de souches résistantes.

2.5.3. *Enterobacter spp*

La résistance des souches d'*Enterobacter spp* productrices de BLSE aux différentes familles d'antibiotique est donnée dans la figure 12. On remarque que **100%** des souches sont résistantes aux : l'Amoxicilline, Céfazoline, Céfoxitine, Céfoxatime et au ciprofloxacine. On note aussi une résistance importante pour la Ticarcilline (**80%**).

En revanche, les antibiotiques Imipénème, Acide nalidixique, Amikacine et Gentamicine demeuraient plus actifs à la plupart des souches.

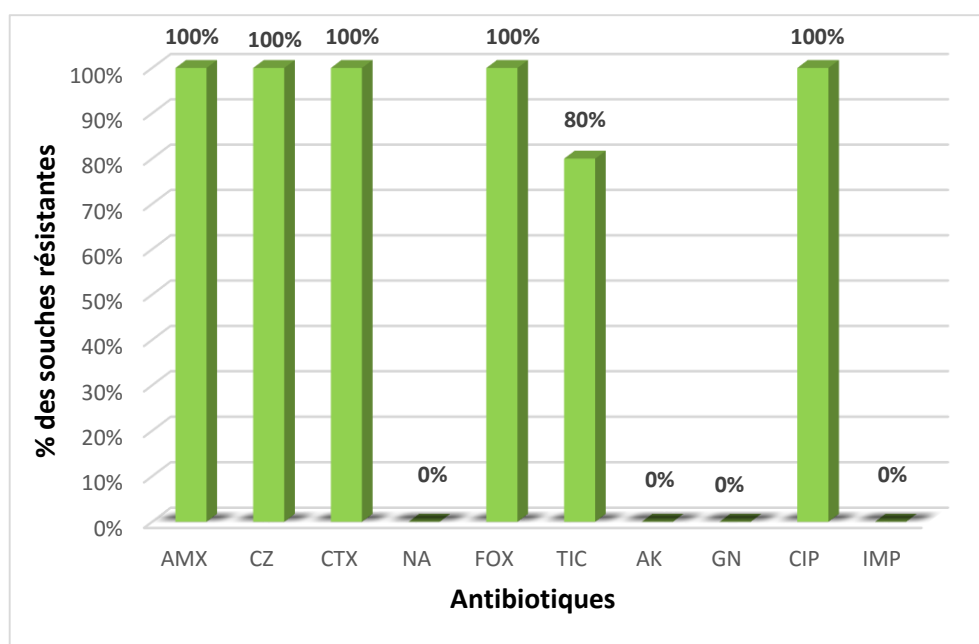


Figure 18 : profil de résistance d'*Enterobacter spp* aux antibiotiques.

2.5.4. Autres souches à BLSE

Le tableau montre les différents taux de résistance des souches productrices de BLSE. On remarque que les souches de *K.oxytoca*, *Serratia spp*, *M.morganii*, *P.rettgeri* présentent une résistance totale pour ces antibiotiques (AMX, CZ, CTX, TIC) et nulle pour FOX, AK, GN et

IMP. En ce que concerne la famille de quinolone (CIP et NA) on note que la totalité des souches sont sensibles sauf *K.oxytoca* qui résiste à l'effet de Ciprofloxacine et *P.rettgeri* qui résiste à l'effet de l'Acide nalidixique.

Tableau 4 : Taux de résistance des souches productrices de BLSE.

ATB \ Espèce	AMX	CZ	CTX	CIP	NA	FOX	TIC	AK	GN	IMP
<i>K. oxytoca</i>	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S
<i>Serratia spp</i>	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S
<i>M. morganiï</i>	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S
<i>P.rettgeri</i>	R	R	R	S	R	S	R	S	S	S

3. Etude statistique de la production de β -lactamase chez *Staphylococcus aureus*

D'après la mesure des zones d'inhibition autour des disques de pénicilline, nous avons réalisé le test de trèfle afin de confirmer la production de pénicillinase chez les souches de *S.aures* isolées. Ce phénomène est illustré dans la figure19.

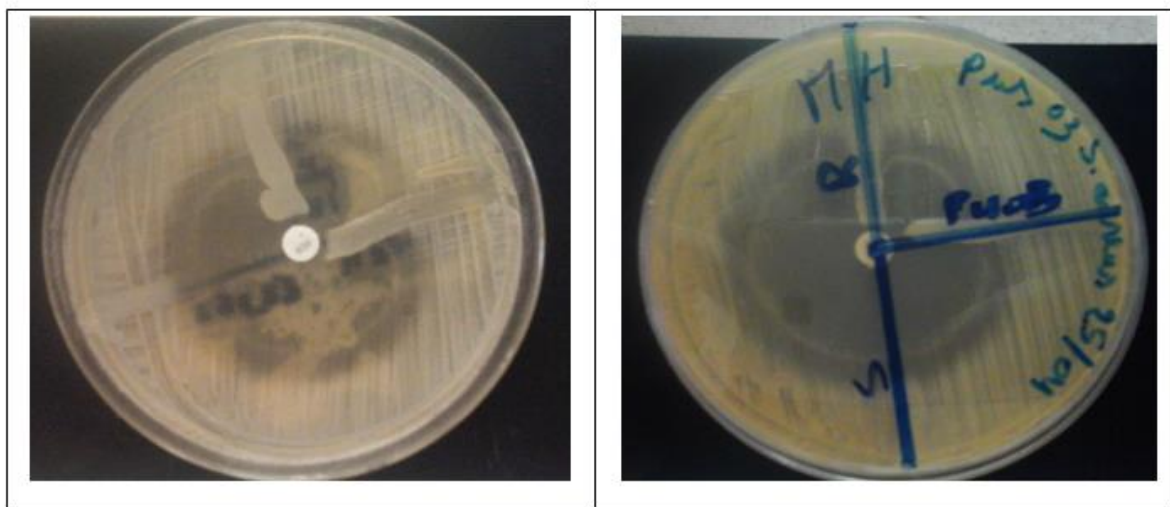


Figure 19 : Résultat de test de trèfle

3.1. Taux des souches de *Staphylococcus aureus* productrices de pénicillinase

A l'aide de test de trèfle, **21** souches de *S.aureus* productrices de β -lactamase ont été identifiées soit un taux de **87.5%** parmi **24** souches isolés, notre résultats montre que la production de pénicillinase par *S.aureus* est très fréquent.

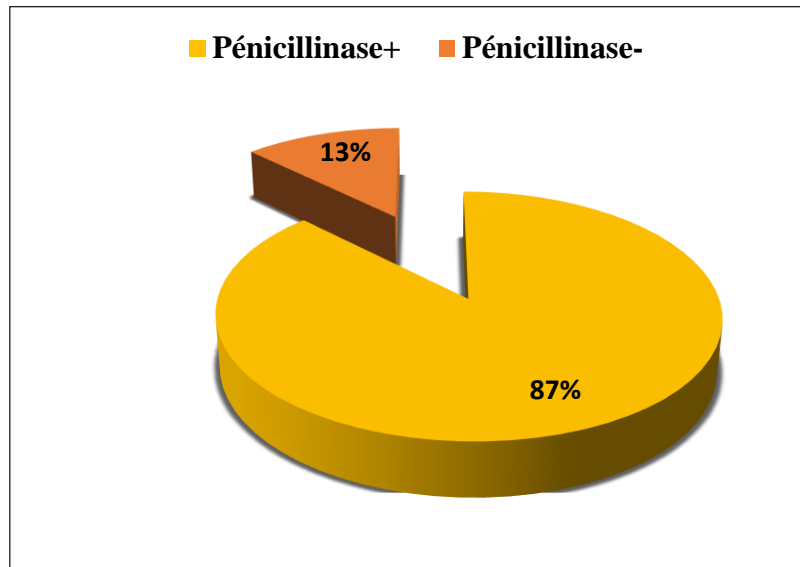


Figure20 : Taux des souches de *Staphylococcus aureus* productrices de pénicillinase

3.2. Fréquence des *S.aureus* productrices de β -lactamase selon leur origine

Parmi les **21** souches productrices de pénicillinase, **11** sont impliquées dans des infections nosocomiales représentant les souches hospitalières et **10** souches sont impliquées dans des infections communautaires. Les résultats illustrés dans le tableau 15 (Voir annexe V)

3.3. Répartition des *S.aureus* productrices de β -lactamase selon la nature de prélèvement

Les résultats de la figure 21 révélés une nette dominance des *S.aureus* productrices de pénicillinase dans les urines (**100%**).

Concernant les pus, on remarque également que le pourcentage des *S.aureus* productrices de pénicillinase est très important (**82.35%**) par rapport aux souches non productrices de pénicillinase (**17.65%**).

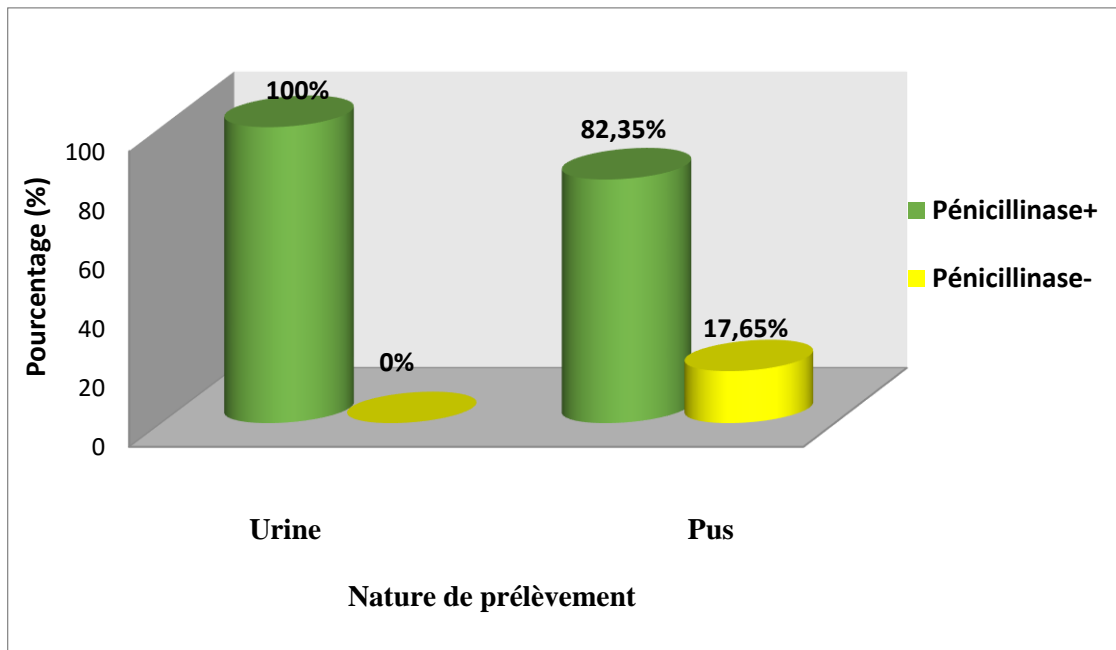


Figure 21 : Répartition des *S.aureus* productrices de β -lactamase selon la nature de prélèvement.

3.4. Sensibilité aux antibiotiques

Les taux de sensibilité et de résistance de *S.aureus* aux différents antibiotiques sont représentés dans la figure 22.

Nous remarquons une très forte résistance des souches de *S.aureus* vis-à-vis la Pénicilline et l'Oxacilline (**100%**), la résistance à l'Acide fusidique est de **57,14%** et à la Kanamycine est de **47,62%**, les résistances aux autres antibiotiques sont par ordre de fréquence décroissant : Gentamicine et Amikacine, Erythromycine, Clandamycine, chloramphénicol, pour le reste des antibiotiques les résistances sont négligeables.

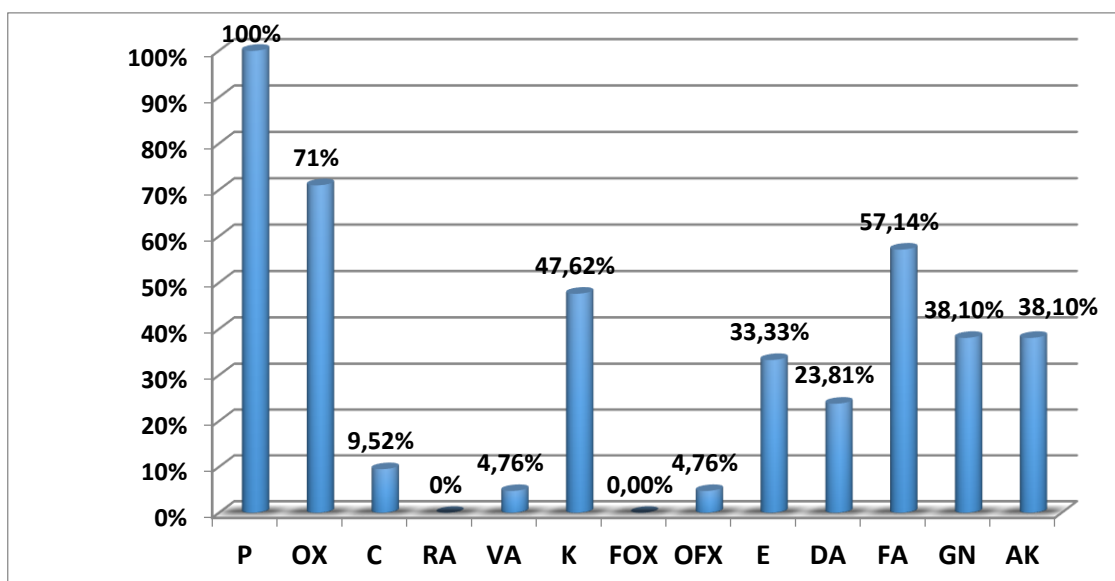


Figure 22 : Taux de résistance de *S.aureus* aux antibiotiques

Abstract

Surveillance of antibiotic sensitivity to the hospital is an essential step; it guides the choice of empirical treatment and reduces the selection pressure by antibiotics.

The purpose of this study was to isolate and identify the strains producing β -lactamase, study their sensitivity to different antibiotics and their prevalence.

During this study, which took place in the EPH Koléa "Fares Yahia" we collected 1212 samples of urine and pus, a total of 179 strains were isolated and identified, of which 131 are enterobacteria and 24 are *S.aureus*.

The results of this study showed a high prevalence of producing Enterobacteriaceae strains of β -lactamase extended spectrum (21%) and a very high prevalence of penicillinase production in strains of *S. aureus* (87%). ESBL producing strains are distributed as follows: 12 *Escherichia coli*, 9 *Klebsiella pneumoniae*, a strain of *Klebsiella oxytoca*, 5 *Enterobacter* spp , a strain of *Proteus rettgeri*, a strain of *Morganella morganii* and strain of *Serratia* spp.

Vis-à-vis different antibiotic resistance revealed the emergence of strains of *Enterobacteriaceae* ESBL-producing β -lactam-resistant and most other classes of antibiotics except for Imipenem, the Amikacin and Gentamicin is 100% sensitive strains.

On the other hand, the (*S. aureus*) strains have expressed an unacceptable level of resistance; have also expressed multidrug resistance, characterized by the emergence of resistance to vancomycin (5%).

Keywords: β -lactamase, β -lactam antibiotics, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, Multiresistance.

Les résultats de cette étude permettent de fournir des données épidémiologiques sur les souches productrices de β -lactamase ainsi qu'une évaluation de la sensibilité à plusieurs antibiotiques. Ce type d'étude d'incidence représente un des éléments épidémiologiques qui peut être intégré dans un programme plus global de lutte contre les souches multi-résistantes.

En résumé, nous avons obtenu au cours de notre étude les résultats suivants :

- 155 souches ont été isolées et identifiées parmi 1212 échantillons collectés.
- Au total 131 souches d'entérobactéries ont été isolées, dont 30 sont productrices de β -lactamase à spectre élargie.
- Une résistance importante des souches d'EBLSE vis-à-vis de Céphalosporine de 3^{ème} génération (100%).
- La plupart des souches de *Staphylococcus aureus* sont sécrétrices de pénicillinase avec un taux de 87%.
- Les souches de *S.aureus* productrices de pénicillinase expriment une multirésistance qui touche plusieurs molécules allant des β -lactamines, des aminosides et atteignant même la vancomycine.

Au terme de ce travail, nous avons assisté à une augmentation fulgurante de la résistance aux antibiotiques, en particulier chez les bactéries à Gram négatif. En effet, l'émergence d'entérobactéries produisant des β -lactamase à spectre élargie est un fait établi à l'EPH de koléa, la nature de type de BLSE incriminées n'a pas encore été déterminée.

Nous avons obtenu aussi un taux élevé de souches de *S.aureus* sécrétrices de pénicillinase. Ce qui confirme que la sécrétion de pénicillinases est un des mécanismes de résistance les plus importants de *S. aureus* à la Pénicilline G.

L'actualisation des données locales, sur le profil épidémiologique de ces germes et leurs sensibilités joue un rôle important dans la rationalisation de l'utilisation des antibiotiques et dans la détermination d'une stratégie de contrôle du développement de bactéries multi-résistantes notamment les souches productrices de β - lactamase.

Ainsi, notre travail ouvre de nombreuses perspectives :

- ✓ Prévenir les infections par les techniques d'hygiène.
- ✓ Le traitement d'une infection doit nécessairement se baser sur les résultats d'une étude de sensibilité aux antibiotiques.
- ✓ Il faut promouvoir et développer la surveillance de la sensibilité des germes dans les laboratoires des structures sanitaires publiques et privées.
- ✓ Définir un protocole de traitement des infections qui permettrait de recourir d'abord aux β -lactamines, ensuite aux autres antibiotiques.

En fin, 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 des souches multi-résistantes exige une collaboration étroite entre les différents acteurs de santé concernés.

Références bibliographiques

A

- **Abbott S.L.** 2007. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas*, and other *Enterobacteriaceae*. Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC : American Society for Microbiology press. 9 : 698-715.
- Ahoyo A.T., Baba-Moussa L., Anago A.E., Avogbe P., Missihoun T.D., Loko F et al.**2007. Incidence d'infections liées à *Escherichia coli* producteur de β -lactamase à spectre élargi au Centre hospitalier départemental du Zou et Collines au Bénin. *Médecine et maladies infectieuses*. 37: 746-752.
- Ali A.M., Rafi S and Qureshi A.H.**2004 Frequency of extended spectrum beta lactamase producing Gram negative bacilli among clinical isolates at clinical laboratories of Army Medical College, Rawalpindi. *Journal of medical college abbotabad*.16:357-417.
- Allegranzi B., Bagheri NS., Combescure C et al.** 2011. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries : systematic review and meta-analysis. *Lancet* .377: 228-41.
- **Avril J.L., Dabarnet H., Denis F and Onteil H** .1992.Bacteriologie clinique. 2^{ème} édition.
- Alomar J.**2007.Etude des propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus gaviae* pour la maîtrise de *Staphylococcus aureus* en technologie fromagère. Thèse de doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires. Institut national polytechnique de Lorraine-Nancy. France.
- **Ambler R.P.** 1980. The structure of β -lactamases. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 289: 321-331.
- Ananthanarayan and Paniker.**2006.Textbook of Microbiology. Edition Seventh. India. p665.
- Andreu A and Planells I.**2008. Grupo Cooperativo Espanol para el Estudio de la sensibilidad Antimicrobiana de los Patogenos Urinario.Etiology of community-acquired lower urinary infections and antimicrobial resistance of *Escherichia coli*: a national surveillance study. *Medicina clinica (Barc)*.130 (13) : 6-481.
- Aouati H.** 2009. Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Thèse de Magister

en Microbiologie appliquée et Biotechnologies microbiennes. Université Mentouri. Constantine.p50.

-**Arlet G and Philippon A.**2003. Les nouvelles β -lactamases à l'aube du troisième millénaire. *Revue Française des Laboratoires*. 352 :41-55.

-**Arvieux C and Coll.** 1996. Intérêt de la prise en charge multidisciplinaire des infections ostéoarticulaires à *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline : revu de 27 cas. *Médecine et Maladies Infectieuses*. Tome 26 : Ricai- Juin.

-**Avajjar N.**2006.Multirésistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* et *Staphylococcus aureus* et survie sur divers tissus hospitaliers.145 : 61-76.

-**Avril J.L., Dabernat H., Denis F and Monteil H.** 2000. Bactériologie clinique. 3^{ème} édition. Ellipses édition marketing S.A. Paris. p 171-229.

- **Avril J.L., Dabernat H., Denis F and Monteil H.** 2000. Bactériologie clinique. 3^{ème} édition. Ellipses. Paris. p 8-28.

- **Azele F.** 1989.Bactériologie médicale. 13^{ème}édition. Edition C et R.

B

-**Baba Ahmed-Kazi Tani Z., Decré D., Genel N., Boucherit-Otmani Z., Arlet G., and Drissi M.** 2013. Molecular and Epidemiological Characterization of Enterobacterial Multidrug 65 Resistant Strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008–2010). *Microbial Drug Resistance*.19 (3) : 185-190.

- **Babic M., Hujer A.M and Bonomo R.A.** 2006. What's new in antibiotic resistance ? Focus on bêta-lactamases. *Drug Resistance Updates*. 9:142-56.

-**Badis S** .2012.Identification de souches pathologiques et évaluation de résistance de *S.aureus* aux β -lactamine isolés à partir de différentes prélèvements pathogènes cas du CHU de Béni-Messous. Thèse de master en biologie. Université Saad Dahleb .Blida .p38

-**Bagge N., Ciofu O., Hentzer M., et al.**2002. Constitutive high expression of chromosomal betalactamase in *Pseudomonas aeruginosa* caused by a new insertion sequence (IS1669) located in ampD. *Antimicrob Agents Chemother* .46: 11-3406.

-**Bakhoum I.**2004. Contrôle qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne. Thèse de doctorat en pharmacie.N°8.

- Balaban N., Rasooly A.**2000.Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology* 61 :1-10.
- Balahoune N.**2013.Etude de la résistance aux ATB des souches d'entérobactérie isolées à partir de divers prélèvement pathologiques au niveau de l'hôpital de koléa .Thèse de master en biologie. Université Saad Dahleb .Blida.
- Baraduc R., Darfeuille-Michaud A., Forestier C., Jallat C., Joly B., and Livrelly D.** 2000. *Escherichia coli* et autres *Escherichia*, *Shigella*. Précis de bactériologie clinique. Editions ESKA. p 1115-1126.
- Barguigua A., El Otmani F., Talmi M., Bourjilat F., Haouzane F., Zerouali K and Timinoui M.** 2011. Characterization of ESBL-producing *E.coli* and *K.pneumoniae* isolates from community in Morocco. *Journal of Medical Microbiology*. 60: 1344-1352.
- **Barrial K and Scotet J.** 2006. Classification raisonnée des β -lactamases chez les bacilles Gram négatif. Perspective d'évolution. *Tigaud de bactériologie*. p3-10.
- **Basilio J.A.** 2009. *Serratia*. *Medicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections*. Sur le lien : <http://emedicine.medscape.com/article/228495-overview>.
- Baudouin V.**1999. Pédiatre1, chapitre infection de l'appareil urinaire chez l'enfant. Edition Doin. p115.
- **Bebrone C.** 2007. Metallo-béta-lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. *biochemical pharmacology*. 74: 701-1686.
- Bellit S and Derdour W.** 2013. Isolement et identification antibio-résistance des souches d'entérobactéries productrice de β -lactamase dans l'infection urinaires. Thèse de master en microbiologie.Université Saad Dahleb .Blida. p43-44
- Belmonte O., Drouet D., Alba J., Moiton M.P., Kuli B., Lugagne-Delpon N and al.** 2010. Evolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques sur l'île de la Réunion : émergence des β -lactamases à spectre élargi. *Pathologie Biologie*. 58: 18–24.
- **Benabbou .**2012. Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées de produits artisanaux algériens.Thèse de magister en biotechnologie. Université d'Oran. p22.
- Benamrouche N., Hadjila L and Rahal K.** 2009. Mécanismes de résistance aux antibiotiques des bactéries résistantes en Algérie. *Revue bibliographique*. In : Surveillance de

la résistance des bactéries aux antibiotiques. 11^{ème} rapport d'évaluation (Janvier à Décembre 2009).p 198.

-Bendahou A., Abid M., Bouteldoun N., Catelejine D and Lebbadi M. 2009. Enterotoxigenic coagulase positive *Staphylococcus* in milk and milk products, Lben and jben, in northern Morocco. *Journal of Infection in Developing Countries.* 3(3) : 169-176.

-Ben Redjeb S., Ben Hassen A., Hammami A and Kechrid A. 2000. Epidémiologie des résistances bactériennes en Tunisie. Laboratoire "Résistance aux antibiotiques" .Faculté de Médecine .Tunis.Necker-Enfant malade. Sur le lien : www.medix.free.fr/.../bacterie-diarrheeague-php

-Berche P., Gaillard J.L and Simonet M.1991.Bactériologie : les bactéries d'infections humaines-édition Flammarion. p510, p660.

-Bert F., Branger C and Lambert-Zechovsky N.2002.Identification of PSE and OXA béta-lactamase genes in *Pseudomonas aeruginosa* using PCR-restriction fragment length polymorphism. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 50: 8-11.

- Berthelot P, Grattard F, Mallaval FO et al.2005. Epidemiology of nosocomial infections due to *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie Biologie.* Paris. 53: 8-341.

-Bertrand X., Hocquet D., Boisson K., Siebor E., Plesiat P and TalonD.2003. Molecular epidemiology of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase in a French university-affiliated hospital.*International Journal of Antimicrobial Agent.* 22:128-133.

-Bhatia A and Zahoor S.2007. *Staphylococcus aureus* enterotoxins.*Journal of Clinical and Diagnostic Research.*3 :188-197.

- Bibbal D.2008.Impact des β -lactamines sur l'émergence d'entérobactéries résistantes dans la flore digestive chez le porc : caractérisation et stratégie de prévention.,Thèse de doctorat en pharmacologie. Université de Toulouse III-Paul Sabatier. p 25

-Bidet P and Bingen E. 2007. Enterobacteriaceae. *In* : **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E and Quentin R.** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson Paris. p 295-322.

-Bismuth .R and Leclercq R. 2000. *Staphylococcus aureus* et antibiotiques, in Précis de Bactériologie clinique. Edition ESKA ; P 611-616.

- Blaiotti G., Pennacchia C., Villani F., Ricciardi A., Tofalo R and Parente E.2004.** Diversity and dynamics of communities of coagulase-negative staphylococci in traditional fermented sausage. *Journal of applied Microbiology*.97 :271-284.
- Bonacorsi S., Houdoin V and Bingen E.** 2001. Facteurs de virulence associés à *E. coli* responsable de méningite néonatale. Elsevier SAS. Service de microbiologie, hôpital Robert-Debré, 48, boulevard Sérurier, 75019 Paris, France. *Archives de Pédiatrie; 8 Supplement . 4:* 726-31.
- Bonnet R.** 2004. Growing group of extended-spectrum-beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48: 1–14.
- Bonnet R.** 2006. β -lactamines et Enterobacteries. In Courvalin.
- Bonnet R.** 2011. Chapitre 16 - β -lactamines et entérobactéries In *Antibiogramme*, 3^{ème} Edition. p165-188.
- Bouchillon S.K., Johnson B.M and Hoban D.J.** 2004. Determining incidence of extended-spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae*, Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 19 countries: The PEARLS study 2001-2002. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 24: 119-124.
- Bouchillon S.K., Johnson B.M., Hoban D.J., Johnson J.L., Dowzicky M.J.,Wu DH et al.**2004. Determining incidence of extended spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae*, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 17 countries : the PEARLS study 2001-2002. *International Journal of Antimicrobial Agents.*24 : 24-119.
- Boudjema A and Zahra F.**2010.L'évolution des entérobactéries vis-à-vis de la famille des béta-lactamines.Thèse de master en biologie.Université Saad Dahleb.p45
- Boukeroui Y and Menoueri N.**2013.Profil de résistance d'*E.coli* aux ATB dans les différents prélèvements effectués à l'hôpital de Boufarik. Thèse de master en biologie.Université Saad Dahleb .Blida.p33.
- Boukerzaza S.** 2005. Etude génétique et moléculaire du phénotype de résistance des *Salmonella enterica* sérotypes *Senftenberg*. Thèse de Magistère en Génétique Moléculaire. Université Mentouri de Constantine.

- Bouvier Hache R., Gare L.C., Gerbay R., Echarmeaux C and Sapins T.** 2002. Manuel de prélèvement. Laboratoires de biologie médicale SELAFA. p27.
- **Bradford P.A.** 2001. Extended-spectrum bêta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*. 14: 51-933.
- Branger C.G., Torres-Escobar A., Sun W., Perry R., Fetherston J., Roland K.L et al** .2009. Oral vaccination with LcrV from *Yersinia pestis* KIM delivered by live attenuated *Salmonella enterica* serovar Typhimurium elicits a protective immune response against challenge with *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica*. *Vaccine*. 27(39) : 5363-5370.
- Breche P., Gaillard J and Simonet M.** 1988. Collection de la biologie à la clinique.
- **Brenner D.J.** 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2^{ème} édition.
- Brisse S and Verhoef J.** 2001. Phylogenetic diversity of *K. pneumoniae* and *K. oxytoca* clinical isolates revealed by randomly amplified polymorphic DNA, *gyrA* and *parC* genes sequencing and automated ribotyping. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 51: 915-924.
- Bryskier A.** 1984. Classification of bêta-lactams. *Pathologie Biologie*. Paris. 32: 67-658.
- Bryskier A.** 1996. Histoire des antibiotiques In : Bergogne-berezine E., Dellamonica P. Antibiothérapie en pratique clinique. Edition *Masson*. Paris. p1-16.
- **Bryskier G.** 1998. Infection nosocomiales et environnement hospitalier. Édition : Médecine-science Flammarion. p84.
- Buckingham S.C., McDougal L.K., Cathey L.D.** 2004. Emergence of community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a Memphis, Tennessee children's hospital. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 23 :619-624.
- Bush K.** 2001. New bêta-lactamases in gram-negative bacteria : diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clinical Infectious Diseases*. 32:1085-9.
- Bush K., Jacoby G. A. and Medeiros A. A.** 1995. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39:1211-1233.

C

- Cantón R., Novais A., Valverde A., Machado E., Peixe L., Baquero F et al.** 2008. Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* .14:144-153.
- Carrer A and Nordmann P.** 2011. CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae*: a change in the epidemiology of ESBL. *Pathologie Biologie*. Paris 59:133-135.
- Cavallo J.D., Fabre R., Jehl F., Rapp C and Garrabé E.** 2004. Bêtalactamines. EMC *Maladies infectieuses*. 1: 129-202.
- Chaalal W.**2013.Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires. Thèse de magister en microbiologie fondamentale et appliquée. Université d'Es-Senia. Oran. p12.
- CA-SFM.**2014.Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandation 2014.
- Chaieb C and Zitouni F.Z.** 2010. Etude cyto bactériologique de divers pus au niveau de l'hôpital de koléa .Thèse de master en biologie.Université Saad Dahleb .Blida.
- Chassagne C** .2012.Caractérisation phénotypique de souches d'entérobactéries produisant une oxacillinase-48 isolées lors d'une épidémie survenue au CHU de Nancy en 2009/ 2011. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lorraine. p2.
- **Chemelle J.A** .2013. Etude par modélisation moléculaire de l'effet allergène des antibiotiques de la famille des β - lactamines, tant sur le plan immédiat que retardé. Thèse de doctorat en .Université Claude Bernard Lyon 1.p 34.
- **Chen Y.S., Wong W.W., Fung C.P., Yu K.W and Liu C.Y.** 2002. Clinical features and antimicrobial susceptibility trends in *Citrobacter freundii* bacteremia.*Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 35(2) : 109-114.
- Chou Y.Y., Chiu S.K., Lai H.C. et Chang F.Y.** 2009. Tubo-ovarian abscess with *Morganella Morganii* bacteremia. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 42: 357- 359.
- **Chouchani C., Marrakchi R., Ferchichi L and Walsh TR.** 2011.VIM and IMP metallo betalactamases and other extended-spectrum bêta-lactamases in *Escherichia coli* and

Klebsiella pneumoniae from environmental samples in a Tunisian hospital. *acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*.119 : 725-32.

-**Chopra I., O'Neill A and Miller K.** 2003. The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bacteria. *Drug Resistance Updates*. 6: 137-145.

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

-**Corne P.**2004.*Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique. Thèse de doctorat en sciences biologiques et chimiques de la santé. Université de Montpellier I. France. .p175.

-**Courvalin P., Leclercq R and Bingen E.** 2006. Antibiogramme. 2:142-162, 227-246, 263-277.

-**Couture B.**1990.Bactériologie médicale « Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical ». *Vgot*. Paris. p 15-32.

-**Crivaro V., Bagattini M., Salza MF., Raimondi F., Rossano F., Triassi M and al.**2007. Risk factors for extended-spectrum β -lactamase-producing *Serratia marcescens* and *K. pneumoniae* acquisition in a neonatal intensive care unit. *Journal of Hospital Infection*.67: 135-141.

-**Croxen M. A and Finlay B. B.** 2010. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*. 8 :26-38.

D

- **Dagnra A.Y., Akolly K., Gbadoe A., Aho K and David M.** 2007. Émergence des souches de salmonelles multirésistantes aux antibiotiques à Lomé (Togo). *Médecine et maladies infectieuses*. 37 : 266-269.

-**Daurel C and Leclercq R.**2008. L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Francophone des laboratoires* ; N°407 : 81-90.

-**Debabza M.**2015.Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar-Annaba.p143.

-**Decoster A.** 2005. Entérobactéries. *Front de libération du Macina*. p 1-16. Sur le lien <http://anne.decoster.free.fr/btelechar/bpoly/enteroba05.pdf>.

- **Decre D., Gachot B., Lucet J.C., Arlet G and Régnier B.** 2000. Surveillance épidémique des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de β -lactamases à spectre étendu (K.p BLSE) dans un service de réanimation. *Rev Française des laboratoires*. 320: 31- 38.
- Decre D., Verdet C, Emirian A., Le G. T, Petit J. C., Offenstad Gt., Maury Eet al.** 2011. Emerging severe and fatal infections due to *Klebsiella pneumoniae* in two university hospitals in France. *Journal of Microbiology* 49: 3012-3014. ..
- **Denis F., Poly MC., Martin C., Bingen E and Quentin R.** 2007. In Bacteriologie médicale : techniques usuelles. Edition MASSON .p 295.
- Deurenberg R.H and Stobberingh E.E.**2008. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection Genetics and Evolution* ; 8:747-63.
- Devapriya F., Ramesh R., Sajit Khan AK and Shanmugam J.** 2013. β -lactamase production of *Staphylococcus aureus*: a comparison study of different iodometric methods. *Gulf medical journal*.2 (1):16-21.
- Deverrière B.V.M.**2007. Reproduction expérimentale de mammites à *S. aureus* chez la brebis : Comparaison lignées génétiques divergentes pour les comptages cellulaires. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Paul Sabatier. Toulouse.
- Di Giannatale E., Vincaen P., Alfreda T., Cristina M and Giacomo M** .2011. Characterisation of *Staphylococcus aureus* strain isolated from food for human consumption. *Veterinria Italiana*.47(2).165-173.
- **Diallo A.**2013. *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire, Thèse de doctorat en Microbiologie. Université de Toulouse. p59.
- Dinge M.M., Orwin P.M and Schlievert P.M.**2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*.13 :16-34.
- Dioman S.A.**2008. Epidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases a spectre elargi au chu du point g. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de bamako.p13
- Diop M.**2001. Etude bactériologique des otites moyennes chroniques au chu à Dakar. Thèse de doctorat en pharmacie. Université cheikh antadiop de dakar.p27

-Djennane F., Mohammedi D., Tiouit D., Touati D and Rahal K. 2009. Examen Cytobactériologique des Urines. Techniques Microbiologiques. Institut Pasteur d'Algérie. p76.

- Doran T.I. 1999. The role of *Citrobacter* in clinical disease of children. *Clinical Infectious Diseases*.28(2) : 384-394.

-Drancourt M. 2007.*Klebsiella pneumoniae*. In **Freney J., Renaud F., Leclercq R., Riegel P.** Précis de bactériologie clinique. Edition ESKA. p1111-1114.

-Dufour J.P. 2005. Les diarrhées du macaque cynomolgus (*Macaca fascicularis*) : essai de prophylaxie dans un élevage de l'île Maurice.L'université Paul-Sabatier De Toulouse. Thèse de doctorat vétérinaire.

-Dunne W. M.1995 Laboratory diagnosis of ITU in children. *Clinical Microbiology Newsletter*. 17 (10), 73-80.

-Duval, V., Maiga, I., Maiga, A., Guillard, T., Brasme, L., Forte, D and al .2009. High prevalence of CTX-M-type beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae in Bamako, Mali. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 53(11) : 4957-4958.

E

-Elazhari M. Zerouali K. Elhabchi D. Cohen N. El malki A. Dersi N. and al.2010.Antibiotic susceptibility of *staphylococcus aureus* strains in the community of Casablanca (morocco).*Revue Tunisienne d'Infectiologie* : 4(4) : 134 – 140.

-El Bakkouri J., Belabbes H., Zerouali K., Belaiche A., Messaouidi D., Gros Claude J. D. P. et al. 2009. Résistance aux Antibiotiques d'Escherichia coli Uropathogène Communautaire et Consommation d'Antibiotiques à Casablanca .Maroc. *European Journal of Scientific Research ISSN 1450-216X* ; 36(1) : 49-5.

-Elhamzaoui A., Benouda F., Allali R ., Abouqual Mand Elouennass.2009.Sensibilité aux antibiotiques des souches de *staphylococcus aureus* isolées dans deux hopitaux universitaires à Rabat, Moroc. *Médecine et maldies infectieuses* : 39 891-895.

-Elhani D.2012.The widening challenge of extended spectrum β –lactamases. *Annales de biologie clinique*.70 (2) : 117-40.

-Elhani D., Bakir L and Aouni M. 2011.Changement de l'épidémiologie de *Klebsiella*

Pneumoniae productrice de β -lactamases à spectre élargi. *Annales de biologie clinique (Paris)* .69 : 523-9.

-**Elouennass M., Sahnoun I., Zrara A., Bajjou T and Elhamzaoui S.** 2008. Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002–2005). *Médecine et maladies infectieuses*. 38 : 18-24.

-**Eveillard M.**2007. Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat en biologie cellulaire. Université d'Angers. France.

-**Euzéby J.P.** 2003. Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. SERRATIA. Sur le liens : <http://www.bacterio.cict.fr/bacdict/>.

F

-**Fanny V., Maher S and Prévost G.**2008.Les facteurs de virulence de *S.aureus* Institut de bactériologie. *Revue francophone des laboratoires*.407 : 61-69.

-**Farah A., Boutefnouchet N., Dekhil M and Bouzerna N.** 2007.*Klebsiella pneumoniae* productrices de β -lactamases a spectre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville de Annaba, Algérie. *Scientific Study & Research*. VIII (2) (1582- 540X) : 199-214.

-**Fauchère J. L and Avril J. L.** 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. Paris. p368.

- **Fauchère J.L and Avril J.L.** 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. 15 : 252-253. 10: 151-176.

-**Feizabadi M.M., Mahamadi-Yeganeh S. Mirsalehian A., Mirafshar S.M., Mahboobi M.**

Nili F and al. 2010. Genetic characterization of ESBL producing strains of *Klebsiella pneumoniae* from Tehran hospitals. *Journal of Infection in Developing Countries*. 4: 609-615

-**Ferech M., Coenen S.** 2006. "European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC) : outpatient antibiotic use in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 58(2) : 401-407.

-**Flandris J.P.**1997.Bactériologie médicale .Presse Universitaire De Lyon.p108-109.

-**Flandrois J.C., Courco L., Lemeland J.F., Ramuc M and Souny C.J.**1997.Bacteriologie médicale. *Presses Universitaire de Lyon.*

-**Fleming A.** On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenzae. 1929. Bull World Health Organ 2001. 79: 780-90.

-**Foster T.J and McDevitt D.**1994. Surface-associated proteins of *S.aureus* : their possible roles in virulence. *Journal. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters.* 118 :199-205.

-**Françoise G.,** 2012. Guide de prélèvement en microbiologie : Laboratoire du chic de Cornouaille.Centre hospitalier de cornouaille.p14.

-**Fraser S. L., Arnett M and Sinave C.P.** 2010. *Enterobacter* Infections. Medicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Contributor Information and Disclosures.

-**Freney J and Croze M.**2007. Entérobactériaceae-généralités. In Freney J., Renaud F., Leclerecq R and Riegel P .Précis de bactériologie clinique, Edition ESKA .p979-798.

G

-**Gangoue Pieboji J.**2007.Caractérisation des béta-lactamase et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales, Thèse de doctorat en biochimie. Université de Liège. p12, p74.

-**Garrity G.M., Bell J.A and Lilburn T.G.**2004.Taxonomie Outline of Prokaryote Release 5.0 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd Edition. p114.

-**Garrity G.M., Lilburn T.G., Cole J.R., Harrison S.H., Euzéby J and Tindall B.J.**2007.Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release7.Part 9-the Bacteria : Phylum « Firmicutes » : Classe « Bacilli ».

-**Ghalmi M and Touchene M.** 2015. Isolement, identification et antibiorésistance des souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases isolées à partir des urines. Thèse de master en biologie.Université Saad Dahleb .Blida.p76.

-**Gille B.**2004.La résistance aux antibiotiques. Institut de Veille Sanitaire.

-**Giraud-Morin C and Fosse T.** 2008. Évolution récente et caractérisation des entérobactéries productrices de BLSE au CHU de Nice (2005–2007). *Pathologie Biologie.* 56 :417-42.

-**Gogny M.,Puyt J.D and Pellerin J.L.**2001.Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire. *Édition le point vétérinaire.* p165-168.

-**Gordon R.J and Lowy F.D.** 2008.Pathogenesis of Meticillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection. Clinical Infectious Diseases.* 46 :S350-9.

- **Goubau P.** et Pellegrims E. 2000. Repères en microbiologie. Garant, Édition3. p 116-117.

-**Gniadkowski, M.** 2001. Evolution and epidemiology of extended spectrum beta-lactamases and ESBL producing micro-organisms. *Clinical Microbiology and Infection.* 7: 557 -608.

- **Gravet A., Couppié., Meunier O., Clyti E., Moreau B., Pradinaud R et al .**2001. *Staphylococcus aureus* isolated from impetigo produces both epidermolysins A or Band LukE+LukD in 78% of 131 retrospective and prospective cases. *Journal of Clinical Microbiology.* 39 :49-56.

- **Guessennd N., Kacou-N'douba A., Gbonon V., Yapi D., Ekaza E., Dosso M et al.**2008.prévalence et profil de résistance des entérobactéries productrices de beta lactamases a spectre élargi (BLSE) à Abidjan côte d'ivoire de 2005 à 2006. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences.*9 (1) :63-70.

- **Gueye O.** 2007. Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles a Gram négatif. Thèse doctorat. Université cheikh Anta Diop de Daka. p120.

-**Guinoiseau E.**2010. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action, Thèse de doctorat en Biologie moléculaire. Université de Corse-Pasquale paoli. p5.

- **Guiraud J.P and Rosec J.P.**2004. Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR .Paris. p168-178.

H

- **Haeggman S., Löfdahl S., Paauw A., Verhoef J., and Briss S.** 2004. Diversity and evolution of the class A chromosomal bêta-lactamase gene in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 48: 2400-2408.

-**Hakenbeck R and Coyette J.**1998.Resistant penicillin-binding proteins. *Cell. Mol. Life Sci.* 54 :332-340.

-**Hamrouni R.**2013.Etude des phénotypes de résistance aux β -lactamines des entérobactéries isolés d'urines des patients souffrant d'infection urinaires. Thèse de master en biologie. Université Saad Dahleb .Blida.p91.

-**Hardman J.G., and Limbird L.E.** 1998. Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments, 9th edition. Nieuwegein, Pays-Bas, Mc Graw-Hill. 1069-1098.

-**Hiron A.**2007.Les transporteurs de peptides de *Staphylococcus aureus*, Thèse de doctorat en Microbiologie.Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech).Paris.

-**Hirsh D.C., Nigel J.M., Richard L and Walker.** 2004. Veterinary microbiology.2^{ème} édition. Blackwell-science.California.p536.

-**Ho P.L., Tsang D.N.C., Que T.L., Ho M and Yuen K.Y.** 2000. Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum β -lactamases and their prevalence among *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. In Hong Kong. *Acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica.*, 108: 237-240.

- **Holmes B and Aucken H.M.** 1998. *Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Serratia* and other members of the Enterobacteriaceae. Microbiology and Microbial infections : Systematic Bacteriology. London Arnold. 9th edition .p 999-1033.

I

-**Islam M.A., Alam M.M., Choudhury M.E., Kobayashi N and Ahmed MU.**2008. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of Cloxacillin for selected isolates of *Staphylococcus aureus* with their antibiogram .*Bangladesh Journal of Veterinary Medicine.* 6:121-6.

J

-**Jacobson K.L., Cohen S.H., Inciardi J.F., King J.H., Lippert W.E., Iglesias et al.** 1995. The relationship between antecedent antibiotic use and resistance to extended-spectrum cephalosporins in group I β -lactamase-producing organisms. *Clinical Infectious Diseases.*21(5) : 1107-1113.

- **Jacoby G.A and Medeiros A.A.** 1991. More extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 35: 1697-1704.
 - Jacoby GA and Munoz-Price LS.**2005. The new β -lactamases. *New England Journal of Medicine*. 352:380-391.
 - Jarlier V.** 1995. Antibiorésistance des bacilles à Gram negative en reanimation. In l'infection acquise en réanimation. Edition Arnette Blackwell. p 93-116.

 - Jarlier V., Nordmann P.** 2000. Entérobactéries et bêta-lactamines. In Freney J., Renaud F., Hansen W and Botler C. Précis de bactériologie clinique. Edition ESKA. Paris. p649-665.
 - **Jaureguy F.** 2009. Host and bacterial determinants of *Escherichia coli* extra intestinal infections. *Medical Sciences, Paris*. 25(3) : 221-223.

 - Jehl F., Chomar M., Ray M and Gerard A.**2003.De l'antibiogramme à la prescription.2^{ème}édition, biomérieux.Strasbourg.p134.

 - Jin T., Bokarewa M., McIntyre L., Tarkowski A., Corey G.R., Reller L.B and Fowler V.G.**2003.Fatal outcome of bacteraemic patients caused by infection with staphylokinase-deficient *S.aureus* strains. *Journal of Medical Microbiology*.52 : 919-923.

 - Joly B. et Reynaud A.** 2002. Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. Ed TEC & DOC et Ed médicales Inter Nationales. Paris. p356.
- K**
- Karthik S.**2007.Role of MSA in the regulation of virulence and biofilm formation. The University of Southern Mississippi. Microform USA. p20-24.
 - Kass E.H.**1957. Bacteriuria and diagnosis of infection of the urinary tract. *Archives of Internal Medicine*. 100:709-715.

 - **Kassis-Chikhani N., Vimont S., Asselat K., Trivalle C., Minassian B., Sengelin C et al.** 2004. CTX-M β -lactamase-producing *Escherichia coli* in longterm care facilities. *Emerging Infectious Disease*. France. 10: 1697–1698.

 - Kattan J.N., Villegas M.V and Quinn J.P.** 2008.New developments in carbapenems. *Clinical Microbiology and Infection*. 14: 1102-11.
 - Kernbaum S.** 1990.Elément de pathologie infectieuse.édition : Simep/Specia.p79, 606.

-Knirel Y.A., Kocharova N.A., Bystrova O.V., Katzenellenbogen E., and Gamian A.

2002. Structures and serology of the O-specific polysaccharides of bacteria of the genus *Citrobacter*. *Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis*. 50: 379-391.

-Korta L.P and Mobashery S.1998.β-lactam antibiotic, β-lactamases and bacterial resistance. *Bull.inst. Pasteur, Paris*.96 :139-150.

-Kunin C.M., Johansen K.S., Worning A.M and Daschner F.D.1990.Report of a symposium on use and abuse of antibiotics worldwide. *Infectious Diseases*.12 :12-19.

L

- **Lagha N.** 2015.Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de doctorat en sciences. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen.p10.p37.

- **Lahlou A. I., Chegri M and L’Kassmi H.** 2009. Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d’infections urinaires à l’hôpital militaire Moulay-Ismail de Meknès. *Antibiotiques*. 11 : 90-96.

-Lamnaouer D. 2002. Détermination des propriétés biologiques (activités pharmacologiques et toxicologiques) des plantes médicinales et aromatiques du PNT. Programme de l’UICN en Afrique du Nord : Phase III. Etat d’avancement. p 3-7.

- **Larabi K., Masmoudi A and Fendri C.**2003. Etude bactériologique et phénotypes de résistances des germes responsable d’infection urinaire dans un CHU de Tunis : à propos de 1930 cas. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2003. 33 :348-52

-Larpent J.P. 2000. Introduction à la nouvelle classification bactérienne. Les principaux groupes bactériens. Ed. TEC & DOC. Paris. p 280.

- **Laupland K.B., Church D.L., Vidakovich J., Mucenski M and Pitout J.** 2008. Community-onset extended-spectrum bêta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* : importance of international travel. *Journal of Infection*. 5: 20-26.

- **Lautenbach E., Patel J.B., Bilker W.B., Edelstein P.H and Fishman N.O.** 2001. Extendedspectrum, β-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* : risk

factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clinical Infectious*. 32: 1162–1171.

-**Lavigne J.P.** 2007. Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. B6 – Antibiotiques et résistance (Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes).p1.

-**Lazoul Kh and Rabhi I.** 2014. Etudes des mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques dans la région de Touggourt. Thèse de master académique en Microbiologie appliquée. Université kasdi merbah, ouargla.p56.

- **Leclercq M.** 2006. *Enterobacter sakazakii*. Agence française de sécurité sanitaire des aliments AFSSA. p 1-6.

-**Le Loire Y., Baron F and Gautier M.** 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*. 2 :63-76.

-**Le Minor L and Veron N.** 1989. Bactériologie médicale. Edition flam med. science, Paris, p. 333-318; p.773-823

-**Leotard S and Negrin N.** 2010. Epidémiologie des entérobactéries sécrétrices de β lactamases à spectre étendu (E-BLSE) au centre hospitalier de Grasse (2005–2008). *Pathologie Biologie*. 58 : 35-38.

-**Lewis K.** 2010. Persister cells. *Annual Review of Microbiology*. 64:357-72.

-**Liassine N.** 2000. Problème des pathogènes à Gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Schweizerische medizinische Wochenschrift* .130: 1930-1936.

-**Liazi A.** 2012. Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Thèse de Magister en biologie. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.p35

-**Limbirt 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. *Antimicrobial agents chemotherapy*. 35(1) : 14-19.

-**Livermore D.M** .1995. Bêta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology*. 8 :557-84.

- **Livermore D.M., Canton R., Gniadkowski M., Nordmann P., Rossolini G.M., Arlet G et al** .2007. CTX-M : changing the face of ESBLs in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 59(2) : 165-174.

-**Livrelli V., Boonet R., Joly B and Darfeuille-Michaud A.**2007.*Escherichia coli* et autre *Escherichia, Shigella*. In **Freney J., Renaud F., Leclercq R and Riegel P.** Précis de bactériologie clinique. Edition ESKA. p989-1004.

- **Lozniewsk A., Rabaud C.** 2010.Resistance bactérienne aux antibiotiques. CCLIN.

-**Lucet J.C and Birgand G.**2011. Les bacilles à Gram négatif multi-résistants : où va-t-on *Journal des Anti-infectieux*. 13 (2) : 122-132.

-**Luvansharav U.O., Hirai I., Niki M., Nakata A., Yoshinaga A., Moriyama T and al.** 2011. Prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamas eproducing Enterobacteriaceae among healthy adult people in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy* .17 (5): 722–725.

M

- **Mahrouki S., Ben–Achour N., Chouchani C., Ben–Moussa M and Belhadj O.** 2009. Identification of plasmid-encoded extended spectrum β -lactamases produced by a clinical strain of *Proteus mirabilis*. *Pathologie Biologie*. 57: 55- 59.

- **Makris G., Wright D.J., Ingham E and Holland T.K.** 2005.The hyaluronate lyase of *Staphylococcus aureus*- a virulence factor. *Microbiology*.150 :2013.

-**Maltezou H. C., Papacharalambous E., Tryfinopoulou K., Ftika L., Maragos A., Kyriakeli G et al.** 2013. Outbreak of pan-susceptible *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit. *Scandinavian journal of infectious diseases* . 45:872-877.

-**Marchal N.,Bourdon J.L and Richard C.L.**2005.Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bacteries. Edition Dion.Paris.p.326 ; p 329

-**Masuda N., Sakagawa E., Ohya S., et al.**2000. Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCDOprJ, and MexXY-oprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* .44: 7-3322.

- **Matagne A., Lamotte-Brasseur J and Frere J.M.** 1998. Catalytic properties of class A betalactamases : efficiency and diversity. *Biochemical Journal*.330(2) : 581-598.

- Mayer K., Opal S and Medeiros A.**2000. Mechanisms of antibiotic resistance. In : Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Vol 2. 5th edition, Churchill Livingstone. p236-253.
- **Mc Murry L., Petrucci RE and Levy SB.** 1980. Active efflux of tetracycline encoded by four genetically different tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 77: 7-3974.
- **Medboua C .**2011.Caractérisation des phénotypes de résistance aux β -lactamines à large spectre des bacilles à Gram négatif isolés au niveau du laboratoire central mère et enfants du CHU Beni-Messous d'Alger, Thèse de magister en Microbiologie Appliquée aux Substances Antimicrobiennes. Université Abderrahmane MIRA – Béjaïa. P.
- Medeiros A and Crellin J.**2000. Evaluation of the Sirscan automated zone reader in a clinical Microbiologie laboratoire. *Journal of Clinical Microbiology.* 38 :93-1688.
- Merensa A and Servonneta A.** 2010. Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones.
- Messai Y., Iabadene H., Benhassine T., Alouache S., Tazir M., Gautier V., et al.** 2008. Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie .Paris.* 56 : 319-25.
- Mevius D.J., Rutter J.M., Hart C.A., Imberechts H., Kempf G., Lafont J.P et al.** 1999. Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines in Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medical products. Édition le point vétérinaire. p1-57.
- **Mirabaud M.I** 2003. Enterobacteries a bêta-lactamases à spectre élargie en pédiatrie en 1996. Thèse de doctorat en médecine. Université de Genève. Genève. P6.
- Mkaouar D., Mahjoubi F., Mezghani S., Znazen A., Ktari S.and Hammami A.** 2008. Étude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie (1999–2005). *Médecine et maladies infectieuses.* 38 : 293-298.
- **Morice V.** 2003. Chapitre 7 - Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non exigeants. Sur le lien :<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.html>.

-**Motamedi H.** 2010. *Staphylococcus aureus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*.p734-737.

- **Muller M. P.** 2004.Résistance des bactéries Gram négatif due aux bêta-lactamases. *Toronto Medical Laboratories and Mount Sinai Hospital* .3 :1-6.

N

-**Nadmia H., Elotmani F., Talmi M., Zerouali K., Perrier-Gros-Claude J.D., and Timinouni M.** 2010. Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes communautaires à El Jadida (Maroc). *Médecine et maladies infectieuses*. 40: 303-305

-**Nagase N., Sasaki A., Yamashita K., Shimizu A., Wakita Y., Kitai S et al.**2001.Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin.*Journal of Veterinary Medical Science*.64 :245-250.

-**Nauciel C.** 2000. Bactériologie médicale : connaissance et pratique. Edition Masson. Paris. p 125-146.

-**Nauciel C and Vildé J.L.** 2005. Bactériologie médicale, connaissance et pratique. 2^{ème} édition Masson. p133-139.

-**Nehal M., Zuel-Fakkar M.D., MONA H and El-Shokry M.D** .2010. Study of Erythroderma and Psoriasis Exacerbation by Staphylococcal superantigen. *Journal of The Egyptian Women's Dermatologic Society*.7 :113-117.

-**Niang O.** 2003.Validation d'une microméthode d'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires. Thèse de doctorat en Pharmacie. *Dakar*. N° 60.

-**Normanno G., Corrente M., Dambrosio A., Quaglia N.C., Parisi A and al.**2007.Methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy.*International Journal of food Microbiology*.117:219-222.

-**Nsofor C.A., Nwokenkwo V.N and Ohale C.U.**2016.Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of staphylococcus aureus isolated from various clinical specimens in south East Nigeria. *Journal of Cell Science and Report* : 3(2) : 00054.

O

- **O'Hara, C.M., Brenner, F.W and Miller, M.,** 2000. Classification and identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews* .13: 534-546.

-**Oxoby M.** 2002. Etude sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucylinones. Thèse de doctorat en chimie organique. Université Bordeaux I. p3-12.

P

-**Paterson D.L and Bonomo R.A.** 2005. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*. 18: 657-86

-**Paterson D. L.** 2006. Resistance in Gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. Pittsburgh, Pennsylvania. 34:5: S20-S28.

-**Patrick E.A., Shivnarine K., William H.S and Michele M.** 2006. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Trinidad and Tobago. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 5:16.

-**Pau., Oloron and Orthez.** 2015. Modalités de prélèvement des urines en microbiologie. Laboratoire de biologie médicale. p1.

-**Péan Y., Goldstein F.W and De Bels F.** 2001. Évolution de la sensibilité et épidémiologie de la résistance des entérobactéries de ville au cours des enquêtes Vigil'Roc. *Médecine et maladies infectieuses*. 31: 609-21.

-**Pechere JC and Kohler T.** 1999. Patterns and modes of bêta-lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Microbiology and Infection*. 5 Suppl 1 : S15-S18.

-**Pelmont J.** 2005. Biodégradations et métabolismes : les bactéries pour les technologies de l'environnement. *Collection Grenoble sciences*. L'Editeur : EDP Sciences. p 124-125.

-**Pesavento G., Ducci B., Comodo N and Nostro L.** 2007. A antimicrobial resistance profile of *staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *staphylococcus aureus* (SARM). *Journal of Food Control*. 18 : 196-200.

- **Philippon A., Arlet G and Jacoby G.A.** 2002. Plasmid-determined AmpC-type β -lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 46 :1-11.

- **Philippon A and Arlet G.** 2006. β -lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! *Annale de biologie médicale*. 64(1) : 37-51.

-**Pitout J.D., Hanson N.D., Church D.L and Laupland K.B.** 2005. Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended-spectrum β -lactamases :

importance of community isolats with blaCTX-M Genes. *Clinical Infectious Diseases* 38 :1736-1741.

- **Plesiat P and Zhha-Zarifi I.**1996. Résistance par imperméabilité et par efflux chez les bacilles à Gram négatif. *La lettre de l'infetiologue* 16 : 495-507.

-**Ploy M and Denis F.**2007. Analyse cyto bactériologique des pus. In : **Denis F., Ploy M., Martin C., Bingen E and Quentin R.** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Edition Elsevier Masson. Paris. p 165-169.

- **Poole K.**2004. Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*. 10: 12-26.

-**Popoff M.Y.** 2001. Antigenic formulas of the Salmonella serovars, 8th ed. WHO Collaborating center for reference and research on *Salmonella*, Institut Pasteur. Paris. France.

-**Prescott L.M., Harley J.P and Klein D.** 2010.Microbiologie. 2^{ème} Edition Française. De Boeck Université.

-**Prévost G.**2004.Toxins in *Staphylococcus aureus* pathogenesis. In : Microbial toxins : molecular and cellular biology, Horizon Bioscience.p243-284.

Q

-**Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., Hartigan P., Fanning S and FitzPatrick E.S.**2011.Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Edition Blackwall-science. USA.p 893.

R

-**Rainard P., Corrales J.C., Barrio M.B., Cochard T and Poutrel B.**2003.Leucotoxic activities of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows, ewes and goat with mastiti : Importance of LukM/LukF-PV leukotoxin. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*.10 :272-277.

-**Ramoul A.**2014.Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses. Thèse de doctorat en microbiologie. Université badji mokhtar .Annaba.p20.p87.

-**Rebiahi A.S., Abdelouahid D.E.,Rahmoun M., Abdelali S and Azzaoui H .**2011. Emergence of vancomycin-resistant *staphylococcus aureus*identified in the Tlemcen university hospital (North-West Algeria).*Médecine et maladies infectieuses*: 41:646-665.

-**Rebiahi A.S.**2012.Caractérisation de souches *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibioresistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat en biologie. Université de Tlemcen.p76.

-**Reinert R.R., Low D.E., Rossi F., Zhang X., Wattal C., Dowzicky M.J.**2007.

Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of TEST and the in vitro activity of tigecycline. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 60 :29-1018.

- **Robert D .**2013.*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Angers Cedex. p35.

-**Robin F., Gibold L and Bonnet, R.** 2012. Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne. *Revue Francophone des laboratoires*. 445 : 47-58.

-**Rodriguez-Martinez J.M., Poirel L., Nordmann P.** 2009.Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 53: 8-4783.

- **Rolinson G. N.** 1998. Forty years of β -lactam research. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* .41:589-603.

-**Rubin M.A and Samore M.H.** 2002. Antimicrobial Use and Resistance. *Current Infectious Disease Reports*. 4: 491-497.

- **Ryan K.J.** 2004. Enterobacteriaceae. Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious diseases. USA : McGraw-Hill. 4th édition .p343-371.

S

-**Saighi D., Peyromaure M and Debré D.** 2004. Urologie. Edition Masson. Belgique.p191.

- **Sanschagrín F., Bejaoui N and Levesque RC.** 1998. Structure of CARB-4 and AER-1 carbenicillinhydrolyzing β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.42 : 72-1966.

- **Saulnier P and Andremont A.1997.** Les marqueurs moléculaires chez *Staphylococcus aureus* résistant à laméthicilline. Analyse critique. *Médecine et Maladies Infectieuses*. Tome 27, n° special Mars.
- Schaechter M and Medoff G .1999.** Eisenstein Barry I. Microbiologie et pathologie infectieuse. Université De Boeck, Paris .Bruxelles . p188-189.
- Scheftel J.M.2008.** Entérobactéries. Sur le lien : [irespsdgs .free.fr/.../Escherichia %20 coli %20 cours%20%202008.ppt](http://irespsdgs.free.fr/.../Escherichia%20coli%20cours%20%202008.ppt).
- Schlievert P.M., Kristi L.S., Ying-Chi L., Marine L., Pharm D., Donald Yet al. 2010.** Secreted virulence factor comparison between methicillin resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* and its relevance to atopic dermatitis.*Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 125 :9-49.
- **Schmieder R., and Edwards R. 2012.** Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches. *Future Microbiology*.7 :73-89.
- **Schwaber M.J and Carmeli Y. 2007.** Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum bêta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia : a systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* .60: 913-920.

- Seeger W., Bauer M and Bhakdi S.1990.** Staphylococcal alpha-toxin induced vascular leakage in isolated perfused rabbit lungs. *Local Area Network Investigations* .63 :341-349.
- Sekhri-Arafa N.2011.**Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *klebsiellapneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du chu benbadis de constantine. Thèse de doctorat en sciences. Université mentouri .Constantine. p69

- Sekhsokh Y., Arsalane L., El Ouenass M., Doublali T., Bajjou T. et Lahlou Amine I. 2007.** Bactériémie à *Serratia rubidaea*. *Médecine et maladies infectieuses*.37 : 287-289.

- Sekhsokh Y., Chadli M. and El Hamzaoui S.A. 2008.** Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Médecines et maladies infectieuses*. 38 :324-327.

- Shimeld L.A and Rodgers A.T.1999.**Essentials of diagnostic microbiology. Edition Delmar, New York.p106.

-**Sirof J.** 1989. Prospective survey of colonization and infection caused by expanded-spectrum- β -lactamase-producing members of the family Enterobacteriaceae in an intensive care unit. *Journal of Clinical Microbiology*. 27(12) : 2887-2890.

-**Soilleux M.**2007.Antibiotiques. DCEM1.p1.

-**Souna D.**2011.Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du c.h.u de sidi bel abbes. Thèse de magister en biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.p37.

-**Spicer W.J.**2003. Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie. Flammarion Médecine-Sciences. Paris. p 28-29.

-**Stephen H., Gillespie and Hawkey P.M** .2006. Principales and Practice of Clinical Bactériology 2^{ème} edition.

-**Stratton C.W.** 2000. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 48:186-198.

-**Strobel M and Martinez -Aussel B.**2003. Infection et Sepsis à Staphylocoque.pdf.

- **Sylvie-Carle** .2009. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*. 42: 6-21.

T

-**Tally P.F.**1999. Les staphylocoques, abcès et autres maladies. In : Microbiologie et pathologie infectieuse, 2ème édition. De Boeck. p 192-193.

-**Terkja derdra N.**2013.Etude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen. Thèse de master en biologie. Université Aboubekr Belkaid .Tlemcen.p30-36.

- **Tindall B.J., Grimont P.A.D., Garrity G.M., Euzéby J.** 2005. Nomenclature and

taxonomy of the genus *Salmonella*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 55: 521-524.

-**Todar K.**2009.Staphylococcus aureus. Editor. Todar's online textybook of bacteriology : <http://www.textybookofbacteriology.net>.

- **Tollentino F.M., Polotto M., Nogueira M.L., Lincopan N., Neves P., Mamizuka E.etal.** 2011. High prevalence of *bla*(CTX-M) extended spectrumbêta-lactamase genes in *Klebsiella pneumoniae* isolates from atertiary care hospital : first report of *bla* (SHV-12), *bla*(SHV-31), *bla*(SHV-38), and *bla*(CTX-M-15) in Brazil. *Microbial Drug Resistance*.17 :7-16.

-**Touarigt M.** 2011. Isolement et identification des bactéries présentes les différents prélèvements de pus au niveau du HUMC Salim Zemirli «El Harrach». Thèse de master en biologie.

-**Touati A.** 2006. Caractérisation des phénotypes de résistances des entérobactéries aux β -lactamines isolées en milieu hospitalier : cas de deux hôpitaux de la wilaya de Bejaia. Thèse de doctorat. Université A/Mira de Bejaia. p91.p3.

- **Touati M .**2013.Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba, Thèse de doctorat en microbiologie appliquée .Université de Badji Mokhtar-Annaba. p11.

-**Touati A., Medboua C., Touati D., Denine R., Brasme L and de Champs C.** 2012. CTXM-15- Producing Enterobacteriaceae isolates causing bloodstream infections at the Beni-Messous hospital in Algeirs (Algeria). *International Reseach Journal of Microbiology*. 3: 181-185.

-**Tribe G.W and Rood M.J.**2002. *Providencia alcalifaciens* in diarrhoeic dogs and cats. *The Veterinary Recor*. 150: 386-387.

-**Trotot-Voilliot C.**2012.Aspect clinique des infections cutanees a staphylocoques aureus secreteurs de leucocidine de panton valentine à propos de 15 cas. Thèse de doctorat en médecine.Université de lorraine.p44

V

-**Vandenesch F.**1997.Regulation de l'expression des exoprotéines de *S. taphylococcus aureus*. *Médecine et Maladies Infectieuses*. Tome 27, n° special, Mars.

-**Vander-Stichele R.H., Elseviers M.M., Ferech M., Blot S., Goossens H and European Surveillance of Antibiotic Consumption (ESAC) Project Group.** 2006. "Hospital consumption of antibiotics in 15 European countries : results of the ESAC Retrospective Data Collection (1997-2002). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.58(1) : 159-167.

- **Van Hoof P.A.M.**2001.Molecular modelling studies with regard to the observed resistance profile of *Streptococcus pneumoniae* PBP2X resulting from some naturally occurring active site mutation, Thèse de doctorat en pharmacie. . Université Heinrich-Hein Dusseldorf. Germany. p238.

-**Von Eiff C., Becker K., Machka K., Stammer H and Peters G.**2001. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *New England Journal of Medicine*. 344:11–6.

-**Vora S and Auckenthaler R.**2009. What is the significance of extended spectrum betalactamases in clinical practice ? *Revue Médicale Suisse*. 5:4- 1991.

W

- **Wang H., Guo P., Sun H., Yang Q., Chen M., Xu Y et al .**2007. Molecular Epidemiology of Clinical Isolates of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese Hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 4022-4028.

- **Weill F.X.** 2009. *Salmonella* : épidémiologie, typage et résistance aux antibiotiques. Centre national de référence des *Salmonella* Laboratoire des bactéries pathogènes émergentes. Institut Pasteur Elsevier Masson SAS. *Revue Francophone Des Laboratoires*. N°409 : 25.

- **Wiener J., Quinn J.P., Bradford P.A., Goering R.V., Nathan C., Bush K et al.** 1999. Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. *Journal of the American Medical Association*. 281(6) : 517–523.

-**Wilke M.S., Lovering A.L and Strynadka N.C.** 2005. Bêta-lactam antibiotic resistance : a current structural perspective. *Current Opinion in Microbiology*. 8: 525-533.

-**William J.G.**2009.Assessing pediatric nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and MRSA. The university of school of public health.epidemiology and disease control texas .p40.

-**Wise R.**1990. The pharmacokinetics of the oral cephalosporins - A review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.26(SupplE) :13-20.

-**Witte W.**1997.Impact of antibiotic use in animal feeding on resistance of bacterial pathogens in humans.In **Chadwick D.J and Goode J.**Antibiotic resistance : Origine, Evolution, Selection and Spread. *Ciba Foundation Symposium*.207 :61-75.

-**Wylie J.L., Deborah L and Nowicki L.**2005.Molecular epidemiology of communiy-and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Manitoba, Canada. *Journal of Clinical Microbiology*.43 :2830-2836.

X

-**Xia G., Kohler T., Peschel A.**2010. The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*. 300:148–154.

Y

-**Yala D., Merad A.S., Mohamed D and Ouar Korich M.N** .2001. Classification et mode d'actiondes antibiotiques. *Medecine de Marghreb*. N°91 : 91 : 13-14.

-Yamashita S.K., Louie M., Simor A.E and Rachlis A.2000.Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit. *Canadian Journal of Infectious Diseases*.11 :107-111.

-Yumuz Z, Afacan G, Nicolas-Chanoine M.H, Sotto A and Lavigne J.P.2008. Turkey: a further country concerned by community-acquired Escherichia coli clone O25-ST131 producing CTX-M-15. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 62(2):284-8.

Z

-Zeba B. 2005. Overview of β -lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African journal of biotechnology*.4(13) : 1559-1562.

- Zhanel G.G., Johanson C., Embil J.M., et al. 2005. Ertapenem : review of a new carbapenem. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 3: 23-39.

-Zogheib E and Dupont H. 2005. Entérobactéries multirésistantes. Elsevier SAS.P : 153-165. Sur le lien : http://www.sfar.org/sfar_actu/ca05/html/ca05_13/ca05_13.htm#94992.

Annexe I : Matériel non biologique**1-Composition des milieux de culture (Le Minor et Richard, 1993)****Bouillon glucosé tamponné (BGT)**

Peptone20 g
 Extrait de viande2 g
 Chlorure de sodium2,5 g
 Phosphate monopotassique.... 0,7 g
 Phosphate di-sodique8,3 g
 Glucose4 g
 pH 7,7

Gélose Hektoen

Protéose peptone..... 12 g
 Extrait de levure..... 3 g
 Chlorure de sodium5 g
 Thiosulfate de sodium5 g
 Sels biliaires..... 9 g
 Citrate de fer ammoniacal.... 1.5 g
 Salicine..... 2 g
 Lactose12 g
 Saccharose..... 12 g
 Fuchsine acide0.04 g
 Bleu de bromothymol0.065 g
 Agar 14 g
 pH 7.5

Gélose Mueller Hinton

Infusion de viande de bœuf....300 g
 Hydrolysate de caséine17,5 g
 Amidon..... 1,5 g
 Agar17 g
 pH 7.4

Gélose nutritive

Peptone10 g
 Extrait de viande4 g
 Chlorure de sodium5 g
 Agar.....13g
 pH 7.2

Gélose Chapman

Peptone11g
 Extrait de viande1 g
 Chlorure de sodium75 g
 Mannitol.....10g
 Agar.....15g
 Rouge de phénol.....20ml
 pH 7.6

Gélose au sang

Mélange spéciale de peptones.....23g
 Amidon.....1g
 Chlorure de sodium5g
 Agar..... 0.7g
 Sang50ml
 pH 7.3

Gélose TSI

Extrait de viande de boeuf3 g
 Extrait de levure..... 3 g
 Peptone tryptique20 g
 Chlorure de sodium5 g
 Citrate ferrique..... 0.3 g
 Thiosulfate de sodium..... 0.3 g
 Lactose10 g
 Glucose..... 1 g
 Saccharose..... 10 g
 Rouge de phénol0.05 g
 Agar..... 12 g
 pH 7,4

Milieu Clark-Lubs

Peptone tryptique de viande5 g
 Phosphate bipotassique5 g
 Glucose..... 6 g
 pH 7

Milieu Urée-Indole

L-tryptophane	3 g
Phosphate monopotassique	1 g
Phosphate bipotassique	1 g
Chlorure de sodium	5 g
Urée.....	20 g
Alcool à 90°	10 ml
Rouge de phénol	0.025 g
pH 7	

Milieu de Citrate de Simmons

Citrate de sodium	2 g
Chlorure de sodium	5 g
Sulfate de magnésium.....	0.2 g
Phosphate monoammoniaque.....	1 g
Phosphate bipotassique	1 g
Bleu de bromothymol.....	0.08 g
Agar.....	15 g
pH 7.0-7.2	


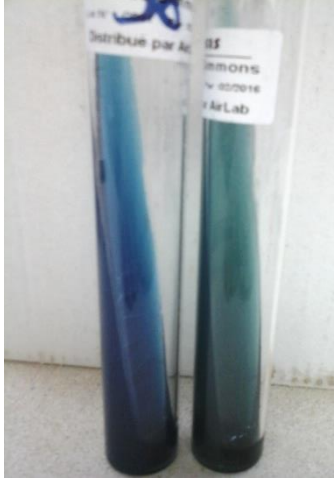

2-Réactifs et solutions :

- Eau physiologie stérile
- Eau oxygénée à 10 volumes
- Violet de gentiane
- Lugol
- Alcool 90 C°
- Fuschine
- Huile à immersion
- Huile de vaseline
- Réactifs de kovacs
- Bleu de méthylène
- Réactif de voges-proskaner (VPI et VP II)
- Disques d'ONPG
- Disque imprégnés du réactif oxydase
- Disque imprégnés d'antibiotiques
- Galerie API 20E
- Réactif de Tryptophane désamine (TDA)

3- Appareillage et verrerie :

- Boites de Pétri
- Lames et lamelles
- Pipettes Pasteur
- Micropipette
- Cellules de Malassez
- Tubes à essai stériles
- Tube sec
- Pince métallique
- Pied de coulisse
- Ecouvillon stérile
- Embouts en plastique
- Réfrigérateur à 4 C°
- Etuve r à séchage (37C°)
- Microscope optique
- Bec bunsen
- Congélateur à -80°C
- Bain-marie
- Jarre CO₂
- Distributeur des disques d'antibiotiques.

Annexe II : Milieux et tests d'identification de la galerie biochimique classique

Milieu	Identification	Utilisation
<p><u>T.S.I (Triple -Sugar- Iron)</u></p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Culot jaune : fermentation de glucose - Pente jaune : fermentation de lactose et saccharose. - Noircissement de du milieu : production de H₂S. - Présence de bulles de gaz ou d'écoulement de la gélose : production de gaz. 	<ul style="list-style-type: none"> - Recherche de trois sucres (Glucose, Lactose, Saccharose). - Apprécier la production de H₂S. - La production de gaz
<p><u>Citrate de Simmons</u></p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Réaction positive : Virage de couleur de vert au bleu. - Réaction négative : Le milieu reste vert 	<p>Recherche de l'utilisation de citrate comme seule source de carbone</p>
<p><u>Clark et Lubs</u></p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Test RM : Ajouter le réactif RM, si la couleur devient rouge signifie que le test RM+, si la couleur reste jaune RM-. - Test VP : Ajouter quelques gouttes de Réactions VPI et VPII : s'il y a apparition couleur brun rouge, la réaction est VP+. 	<p>La désamination de la voie fermentaire</p>

<p><u>Urée –Indol</u></p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Test uréase : virage de couleur au rose, Uréase(+).si la couleur reste jaune Uréase(-). -Test Indole : Formation d’anneau rouge après l’addition de Kovacs : Indole (+). -Test TDA : après l’addition de réactif TDA, virage de couleur au rouge-brun TDA(+). 	<p>Recherche de :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Uréase. -Indole- -TDA.
<p><u>Métabolisme des acides aminés</u></p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Le témoin devient jaune et le tube d’acide aminé violet : réaction positive. -Le témoin devient jaune et le tube d’acide aminé jaune : réaction négative. -Si le témoin reste violet : test à refaire. 	<p>Recherche de :</p> <p>ADH, ODC, LDC</p>
<p><u>Test d’ONPG</u></p> 	<ul style="list-style-type: none"> - ONPG (+) : Couleur jaune. - ONPG (-) : Pas de coloration 	<p>Recherche de</p> <p>β-Galactosidase</p>

Annexe III :

Tableau 5 : Identification biochimique de quelques espèces d'entérobactéries.

Souches	RM	VP	Citrate	H ₂ S	Urée	Indole	LDH	ADH	ODC	Gaz	Lac	ONPG
<i>C. freundii</i>	+	-	+	+	+	-	-	d	-	+	d	+
<i>E. cloacae</i>	+	-	+	+	+	-	-	d	-	+	d	+
<i>E. coli</i>	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>K. oxytoca</i>	+	-	-	-	-	+	+	-	d	+	+	+
<i>K. pneumoniae</i>	d	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+
<i>M. morgani</i>	d	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+
<i>P. mirabilis</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>P. vulgaris</i>	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Salmonella spp</i>	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>S. marcescens</i>	-	+	+	-	-	-	+	-	+	d	-	+
<i>Ser. liquifaciens</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+
<i>Sh. dysenteri</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sh. sonnei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-

+ : test positive

- : test négative

d : divers selon la souche.

Tableau 6 : Lecture de la galerie Api 20E.

Tests	Réactions/enzymes	Résultats positifs
ONPG	β -galactosidase	Jaune
ADH	Arginine dihydrolase	Rouge/orange
LDC	Lysine decarboxylase	Rouge/orange
ODC	Ornithine decarboxylase	Rouge/orange
CIT	Citrate utilisation	Bleu-vert/bleu
H ₂ S	H ₂ S production	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urease	Rouge/orange
TDA	Tryptophane desaminase	Marron-rougeâtre
IND	Indole production	Rose
VP	Acetoin production	Rose/rouge
GEL	Gelatinase	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose fermentation/oxidation	Jaune/ jaune gris
MAN	Mannitol fermentation/oxidation	Jaune
INO	Inositol fermentation/oxidation	
SOR	Sorbitol fermentation/oxidation	
RHA	Rhamnose fermentation/oxidation	
SAC	Sucrose fermentation/oxidation	
MEL	Melibiose fermentation/oxidation	
AMY	Amygdalin fermentation/oxidation	
ARA	Arabinose fermentation/oxidation	

Annexe IV

Tableau 7 : Valeurs critiques des diamètres d'inhibition pour les entérobactéries (CA-SFM, 2015).

Antibiotiques		Sigle	Charge du disque (µg)	Diamètre critique (mm)	
				sensible	résistante
β-lactamines	Amoxicilline	AMX	25µg	≥ 21	< 16
	Céfazoline	CZ	30 µg		
	Amoxicilline/ Acide clavulanique	AMC	20/10 µg	≥ 21	< 16
	Imipénème	IMP	10 µg	≥ 22	< 16
	Aztréonam	ATM	30 µg	≥ 24	< 21
	Céfoxitine	FOX	30 µg	≥ 19	< 19
	Céfotaxime	CTX	30 µg	≥ 26	< 23
	Céftazidime	CAZ	30 µg	≥ 26	< 21
Aminoside	Ticarcilline	TIC	75 µg	≥ 23	< 23
	Gentamicine	GN	15 µg	≥ 18	< 16
Quinolone	Amikacine	AK	30 µg	≥ 17	< 15
	Acide Nalidixique	NA	30 µg	≥ 19	< 14
	Ciprofloxacine	CIP	5 µg	≥ 22	< 19

Tableau 8 : Valeurs critiques des diamètres d'inhibition pour *S. aureus* (CA-SFM, 2015).

Antibiotiques		Sigle	Charge du disque (µg)	Diamètre critique (mm)	
				sensible	résistante
β-lactamines	Pénicilline G	P	6µg (10UI)		
	Oxacilline	OX	5µg		
	Céfoxitine	FOX	30 µg	25	22
Aminoside	Gentamicine	GN	10 µg	18	18
	Amikacine	AK	30 µg	18	16
	Kanamycine	K	30 UI		
Macrolides	Erythromycine	E	15UI	21	18
	Clindamycine	CM	2µg	22	19
Quinolone	Ofloxacine	OFX	5 µg	20	20
Glycopeptides	Vancomycine	VA	30 µg		
Autres	Acide fusidique	FA	10 µg	24	24
	Rifampicine	RA	5 µg	26	23
	Chloramphénicol	C	30 µg	18	18

Annexe V : Tableaux des résultats

Tableau 9 : Répartition des cas positifs selon sexe.

Le sexe	Urine		Pus	
	Femme	Homme	Femme	Homme
Nombre	78	39	16	22
Pourcentage (%)	67%	33%	42%	58%
Totale	117		38	

Tableau 10 : Résultats de la coloration de Gram

	Bacilles à Gram négatif	Cocci à Gram positif	Totale
Pourcentage (%)	79,89%	20,11%	100%
Nombre	143	36	179

Tableau 11 : Fréquence globale des germes isolés.

Germes isolés	Nombre	Pourcentage (%)
<i>Enterobacteriaceae</i>	131	73.18
<i>Pseudomonas</i>	12	6.7
<i>Staphylococcus</i>	24	13.41
<i>Streptococcus</i>	9	5.03
<i>Enterococcus</i>	3	1.68
Totale	179	100

Tableau 12 : Distribution des germes isolés selon la nature de prélèvement.

	Urine		Pus	
	Nombre	Pourcentage (%)	Nombre	Pourcentage (%)
<i>Enterobacteriaceae</i>	101	86.32	30	48.39
<i>Pseudomonas</i>	3	2.56	9	14.52
<i>Staphylococcus</i>	7	5.99	17	27.42
<i>Streptococcus</i>	4	3.42	5	8.06
<i>Enterococcus</i>	2	1.71	1	1.61
Totale	117	100	62	100

Tableau 13 : Répartition de 131 souches d'entérobactéries en fonction de l'espèce.

Espèce	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus rettgeri</i>	Autres	Totale
Effectif	67	21	13	8	1	5	16	131
Fréquence	51,15%	16,03%	9,92%	6,11%	0,76%	3,82%	12,21%	100%

Tableau 14 : Répartition des BLSE selon la provenance

	Nombre	Pourcentage (%)
Hospitalières	12	40%
Communautaires	18	60%
Totale	30	100

Tableau 15 : Fréquence des *S.aureus* productrices de β -lactamase selon leur origine

	Nombre	Pourcentage (%)
Hospitalières	11	52,38%
Communautaires	10	47,62%
Totale	21	100%

Tableau 16 : Répartition des *S.aureus* productrices de β -lactamase selon la nature de prélèvement

Nature de prélèvement	Urine		Pus	
	Positive	Négative	Positive	Négative
Nombre	7	0	14	3
Pourcentage (%)	100%	0%	82.35%	17.65%
Totale	7		17	

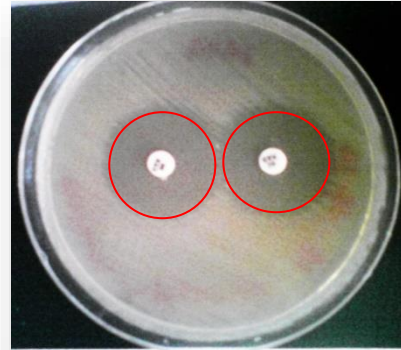
Annexe VI

<p><u>Prélèvement urinaire</u></p> 	<p><u>Ecouvillon</u></p> 	<p><u>Cellule de Malassez</u></p> 	<p><u>Boite de pétri</u></p> 
<p><u>Galrie Api20E</u></p> 	<p><u>Disques d'antibiotiques</u></p> 	<p><u>Rouge de Méthyle</u></p> 	<p><u>Pied à coulisse</u></p> 
<p><u>Micropipette</u></p> 	<p><u>Microscope optique</u></p> 	<p><u>Etuve</u></p> 	<p><u>Bec bunsen</u></p> 
<p><u>Bain marie</u></p> 	<p><u>Coloration de Gram</u></p> 		

Test de double disque (+) : BLSE(+)



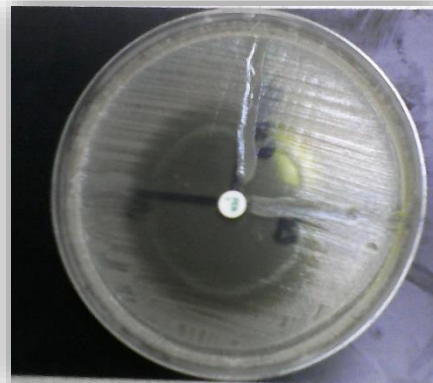
Test de double disque (-) : BLSE(-)



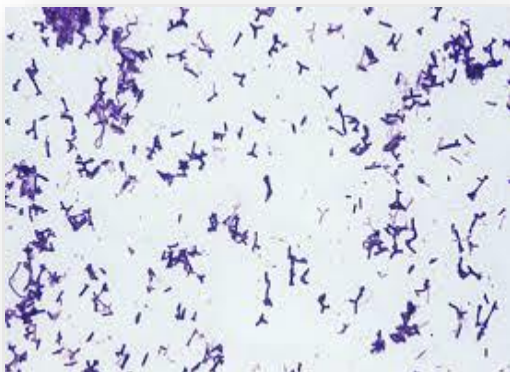
Test de synergie (+) : BLSE (+)



Test de Trèfle (+) : Pénicillinase (+)



Bactérie à Gram positive



Bactérie à Gram négative



