

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université Blida I

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département de biologie et physiologie cellulaire

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master en biologie

Option : Microbiologie-bactériologie

Thème:

**Isolement, identification et antibiorésistance des
souches d'entérobactéries productrices de
 β -lactamases isolées à partir des urines**

Présenté par :

M^{elle} TOUCHENE Meriem

M^{elle} GHALMI Meriem

Soutenu le : 20/09/2015

Devant le jury composé de :

Président : Mme MEKLAT A.

Maitre assistant A à l'université de Blida 1

Examinatrice : Mme MATMOURA A.

Maitre assistant A à l'université de Blida 1

Promotrice : Mme DEBIB A.

Maitre de conférences B à l'université de Blida 1

Année universitaire : 2014/2015

Remerciements



Merci

A

DIEU

Le Tout puissant

qui nous a doté

de courage, de volonté

de persévérance, de patience

et de foi en nous même ainsi que le souffle de vie

qu'il renouvelle en nous

afin que la réalisation de ce travail soit possible.



Ce mémoire n'aurait jamais vu le jour sans la contribution de nombreuses personnes que nous tenons à remercier et auxquelles nous rendons hommage par ces quelques lignes ci-dessous.

Nos plus vifs remerciements s'adresseront tout d'abord à notre encadreur Madame **DEBIB A.** maître de conférences à l'université de Blida 1, pour l'honneur qu'elle nous a fait en proposant et en dirigeant ce travail, pour sa gentillesse, son aide et ses valeureux conseils ainsi que pour son enseignement enrichissant durant cette dernière année d'études.

En deuxième lieu, nous tenons à remercier infiniment notre co-promotrice le Docteur **MECHRARA M.** médecin au sein de l'hôpital Fares Yahia de Kolea, pour sa patience, sa gentillesse, ses précieux conseils et ses encouragements motivants tout au long de notre stage pratique.

Nous remercions très vivement, Madame **MEKLAT A.** Maître assistant à l'université de Blida 1, vous nous faites le grand honneur de présider ce jury. Nous vous prions de bien vouloir recevoir le témoignage de notre profond respect.

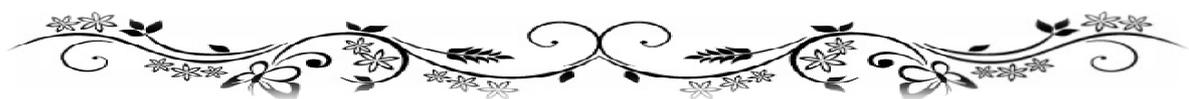
Nous dressons nos sincères remerciements à Madame **MATMOURA A.** Maître assistant à l'université de Blida 1. Nous vous remercions de nous honorer par votre présence en tant qu'examinatrice et pour avoir accepté d'évaluer ce mémoire.

Nous tenons particulièrement à remercier Monsieur **CHOUCHANE K.** de l'institut Pasteur de virologie de Sidi Fredj, pour l'aide qu'il nous a apporté, sa générosité, sa gentillesse et pour tout ce qu'il a fait à notre égard.

Nous remercions également le Chef de service Monsieur **AOUNI** ainsi que le personnel administratif et médical de l'hôpital Fares Yahia de Kolea, pour avoir bien voulu nous accepter au sein du laboratoire central de bactériologie, pour leur patience, leur soutien et leur bienveillance.

Nous remercions spécialement le docteur **LALAOUI.** Pharmacienne microbiologiste à l'hôpital Fares Yahia de Kolea, pour ses valeureux et précieux conseils ainsi que ses encouragements durant notre stage pratique.

Merci à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce travail, et que je ne peux citer individuellement.





Dédicaces

Tout d'abord, je dédie ce modeste travail à mes adorables parents, sans eux, je n'en serais jamais arrivé là,

A mon cher **père**, mon model, pour moi tu es le plus merveilleux des papas. Merci pour ta patience et ton éducation, tes précieux conseils, tes encouragements, tes sages paroles, ta confiance, ta rigueur pour le travail bien fait, ton affection, ton amour tout au long de mon existence et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, je t'en suis reconnaissante pour tout et que Dieu te garde à nos côtés aussi longtemps que possible. Ce travail est aussi le tien. Je t'aime mon papa chéri !

A ma magnifique **mère**, pour son éducation, son grand cœur, sa compréhension, sa générosité, son sens de l'humour, son énergie, sa gaité, sa joie de vivre et pour tout ce qu'elle est. Quoi que je fasse je ne pourrai jamais te rendre tout ce que t'as fait pour moi. Que Dieu te préserve et te garde à nos côtés aussi longtemps que possible car tu es notre soleil de tous les jours. Je t'aime ma maman chérie !

A mon unique **frère** que j'adore. Que Dieu te protège et te garde, toi et ta femme.

A mes trois sœurs, **Faiza, Sabrina et Amel** que j'adore toutes autant, je vous remercie pour votre patience, votre affection, votre bienveillance. Nous avons passé des moments inoubliables ensemble et j'espère qu'il y'en aura encore pleins à l'avenir.

A mon adorable amie d'enfance, **Yasmine** pour sa générosité et son amour. Que notre amitié reste éternelle.

A **Hichem**, mon meilleur ami que j'adore. Tu as toujours été là pour moi, tu m'as soutenu, cru en moi jusqu'au bout et aidé à dépasser les obstacles de la vie. Merci pour tout et que Dieu te protège et te garde pour toujours.

A mes **grands parents**, plus particulièrement à ma défunte grand-mère paternelle pour sa douceur, sa tendresse et sa pureté. Paix à son âme.

A ma grand-mère maternelle pour son amour, son affection, son attention et ses efforts pour rendre tout le monde heureux. Que Dieu te garde en bonne santé.

A tous mes **cousins** et plus spécialement **Rayan et Mohamed** que j'adore, j'espère qu'ils auront un avenir radieux et plein de succès.

A mes **amis** et mes **collègues** sans qui mes souvenirs de fac auraient été ennuyeux.

Et enfin, à mon **binôme**, on s'est serré les coudes ; ce n'était pas facile dès le début mais nous y sommes arrivées.

T. Meriem





Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

À

*Mes très chers parents, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long
de mes études.*

Mes adorables frères.

Toute ma famille paternelle et maternelle.

Tous mes collègues et amis(es).

G. Meriem



Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 01

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre I : anatomie et physiopathologie de l'appareil urinaire

I- Anatomie de l'appareil urinaire 03

1- Définition de l'appareil urinaire 03

2- Les différentes parties composant l'arbre urinaire 04

2.1 L'appareil urinaire supérieur 04

2.1.1 Les reins 04

2.2.2 Les uretères 05

2.2 L'appareil urinaire inférieur 05

2.2.1 La vessie 05

2.2.2 L'urètre 06

II- L'infection urinaire 06

1- Définition de l'urine 06

2- Définition de l'infection urinaire 07

3- Les différents types d'infections urinaires 08

3.1 Les infections urinaires basses 08

3.1.1 La cystite 08

3.1.2 L'urétrite 08

3.1.3 La prostatite 08

3.2 Les infections urinaires hautes 08

3.2.1 La pyélonéphrite 08

4- Les infections urinaires nosocomiales 09

5- La fréquence des infections urinaires 09

6- L'épidémiologie des infections urinaires 09

7- La Physiopathologie de l'infection urinaire 10

7.1 Le mode de pénétration du germe 10

7.1.1 La voie ascendante 10

7.1.2- La voie hématogène	10
Chapitre II : Antibiorésistance des entérobactéries	
I- Les entérobactéries	11
1- Définition	11
2- Taxonomie	11
2.1 Historique	11
2.2 Classification	12
3- Habitat et rôle écologique	12
4- Caractères bactériologiques	12
4.1 La morphologie	12
4.2 Les caractères cultureux	13
5- Caractères biochimiques	13
6- Caractères antigéniques	13
II- Antibiorésistance	15
1- Généralités	15
1.1 Les antibiotiques	15
1.2 Résistance aux antibiotiques	16
2- Les β -lactamines	18
2.1 Définition	18
2.2 Classification	18
2.3 Mode d'action des β -lactamines	20
2.3.1 Pénétration des β -lactamines dans les bactéries	20
2.3.2 Cible des β -lactamines : protéines liant la pénicilline	21
2.4 Mécanismes de résistance aux β -lactamines	21
3- Les β -lactamases à spectre élargi (BLSE)	22
3.1 Définition	22
3.2 Classification	22
Partie expérimentale	
Chapitre I : Matériel et méthodes	
1- Matériel	24
2- Méthode.....	24
2.1 Prélèvement.....	24
2.2 Transport et conservation de l'échantillon	26
2.3 Renseignements accompagnant le prélèvement	26
2.4 Examen cytobactériologique des urines (ECBU).....	27

2.4.1 Examen macroscopique	27
2.4.2 Examen microscopique (cytologie).....	29
2.4.3 Bandelette urinaire	31
2.4.4 Examen bactériologique (uroculture).....	32
2.4.5 Interprétation des résultats de l'ECBU (cytologique et bactériologique).....	33
2.4.6 Identification des germes	34
2.4.6.1 Coloration de Gram	34
2.4.6.2 Identification biochimique	35
2.4.6.3 Antibiogramme	40
2.4.7 Recherche de la β -lactamase à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries	42
2.4.7.1 Quand rechercher une BLSE	42
2.4.7.2 Méthodes de détection de BLSE.....	42
Chapitre II: Résultats et discussion	
I- Résultats	44
1- Population étudiée	44
2- Fréquence de l'infection urinaire	45
3- Répartition des infections urinaires selon le sexe	46
4- Résultats de l'analyse bactériologique	46
4.1 Coloration de Gram	46
4.2 Répartition des différents germes isolés	48
4.3 Identification	48
5- Répartition des espèces d'entérobactéries	49
6- Antibiogramme	50
6.1 Résultats des deux testes de détection des BLSE.....	50
6.2 Résistance des entérobactéries aux antibiotiques	52
6.3 Distribution des souches productrices de BLSE	52
6.4 Résistance des souches à BLSE	53
6.4.1 Résistance d' <i>Escherichia coli</i>	54
6.4.2 Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	55
6.4.3 Résistance de <i>Klebsiella oxytoca</i>	56
7- Répartition des BLSE selon leur provenance	57
II- Discussion générale	58
Conclusion	65
Références bibliographiques	67
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau I : les couleurs de l'urine à l'état normal et pathologique.....	28
Tableau II: Interprétation des principales situations basées sur le contexte épidémiologique, la présence de signes cliniques, d'une leucocyturie et d'une bactériurie	34
Tableau III : Fréquences des espèces d'entérobactéries isolées	49
Tableau IV: Résultats des deux tests (synergie et double disque) (Photos originales)	51
Tableau V : Tableau comparatif entre la fréquence d'isolement dans notre étude et d'autres études sur les infections urinaires	61
Tableau VI : Dénombrement des hématies et leucocytes par ml d'urines et sur BU.....	Annexe 3
Tableau VII : Lecture de la galerie miniaturisée API 20E	Annexe 4
Tableau VIII : Résultats de l'antibiogramme des souches d'entérobactéries productrices de BLSE	Annexe 5
Tableau IX : Caractères biochimiques de quelques espèces d'entérobactéries.	Annexe 6

Liste des figures

Figure 01 : Anatomie de l'appareil urinaire.....	03
Figure 02 : Coupe interne du rein, face frontale.....	04
Figure 03 : Différents modes d'action des antibiotiques.....	15
Figure 04 : Représentation des mécanismes de résistance aux antibiotiques	17
Figure 05 : Cycle du β -lactame.....	18
Figure 06 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame.....	21
Figure 07 : Répartition des patients en fonction du sexe et de la provenance.....	44
Figure 08 : Répartition des cas positifs et négatifs ainsi que les prélèvements à refaire....	45
Figure 09 : Répartition des cas positifs d'infection urinaire selon le sexe.....	46
Figure 10 : Répartition des groupes bactériens isolés.....	47
Figure 11 : Résultat de la coloration de Gram de <i>E.coli</i> (Gx100).....	47
Figure 12 : Répartition de l'ensemble des bactéries identifiées.....	48
Figure 13 : Photo de <i>E.coli</i> identifié par la galerie API 20 E (photo originale)	49
Figure 14 : Photo de <i>Klebsiella spp</i> identifié par la galerie API 20 E (photo originale) ...	49
Figure 15 : Répartition de l'ensemble des espèces d'entérobactéries.....	50
Figure 16 : Répartition des entérobactéries selon leur résistance aux β -lactamines.....	52
Figure 17 : Répartition des souches BLSE identifiées	53
Figure 18 : Pourcentage global de <i>E.coli</i> résistant aux antibiotiques testés.....	54
Figure 19 : Pourcentage global de <i>Klebsiella pneumoniae</i> résistant aux antibiotiques testés	55
Figure 20 : Pourcentage global de <i>Klebsiella oxytoca</i> résistant aux antibiotiques testés...	56
Figure 21 : Répartition des BLSE par rapport à leur provenance	57

Liste des abréviations

ECBU : examen cyto bactériologique des urines

ECA : Enterobacterial common antigen

GB : globules blancs

EDTA : acide éthylène diamine tétraacétique.

PSP : ponction vésicale sus-pubienne

IST : infection sexuellement transmissible

BU : bandelette urinaire

VPP : Valeur prédictive positive

VPN : valeur prédictive négative

BGN : bacille Gram négatif

CGP : cocci Gram positif

C3G : céphalosporines de 3ème génération

FBP : flore bactérienne polymorphe

Sy : synergie

CHU : centre hospitalier universitaire

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme-Société Française de Microbiologie

ITU : infection du tractus urinaire

Subsp : sous-espèce

(B-lactamases)

(Entérobacteries)

144

1327

, 74% . 122 (96%)

10

19 , (CA-SFM)

7: : الاموكسيسيلين/حامض الكلافلانيك (AMC), الامبيسيلين (AMP), سيفازولين (CZ), تيكاغسيلين

(TIC), سيفوتاكسيم (CTX), الامبيينام (IMP) والسيفوكسيتين (FOX) ; 1 (GM) ; 1 (SXT)

E. coli

(FOS) 1

79% *Klebsiella pneumoniae* و *Klebsiella oxytoca* نسبة كل منهما 10,5% .

المضادات الحيوية الأكثر فعالية على هذه السلالات هي: IMP و FOX بنسبة حساسية 100% على عكس AMP,

AMC, CZ و TIC أين كانت نسبة المقاومة 100% و أخيرا, 95.56% ل CTX .

انتشار العصيات المعوية المقاومة في الوسط الصحي بنسبة عزل 50% أكثر من الوسط الخارجي (نسبة عزل 11%)

راجع إلى عدة عوامل من بينها تناول المضادات الحيوية واسعة الطيف.

أخيرا؛ الرصد المنتظم لآليات المقاومة أمر ضروري لتحديد استراتيجيات وقائية و الاستخدام الرشيد للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية : بكتيريا معوية، عينات البول، مضادات حيوية، بيتالاكتاماز، المقاومة للمضادات الحيوية.

Résumé :

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques connaît une évolution mondiale préoccupante avec un impact croissant des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) qui diffusent notamment dans le secteur communautaire.

Notre étude a porté sur les souches d'entérobactéries sécrétrices de BLSE isolées au laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Fares Yahia de Koléa durant une période allant de la fin janvier au début avril 2015. Ces souches ont été isolées à partir de prélèvements urinaires provenant de patients hospitalisés et consultants.

Sur les 1327 prélèvements parvenus au laboratoire durant les 3 mois, 141 ECBU se sont révélés positifs avec une prédominance féminine évidente (74%). 122 entérobactéries ont été isolées soit un taux de 96%, ce qui fait d'eux les principaux agents impliqués dans les infections urinaires.

La détection des entérobactéries productrices de BLSE a été effectuée dans les conditions standards de l'antibiogramme selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). 19 souches ont été isolées, identifiées et testées leur résistance vis-à-vis de 10 antibiotiques : **7** β -lactamines dont l'ampicilline (AMP), l'amoxicilline/acide clavulanique (AMC), la ticarcilline (TIC), la céfazoline (CZ), la céfoxitine (FOX), la céfotaxime (CTX) et l'imipénème (IMP) ; **1** aminoside (GM), **1** sulfamide (SXT) et **1** fosfomycine (FOS), afin de dresser leurs profils de résistance. Parmi les isolats, les espèces productrices de BLSE étaient : *Escherichia coli* en tête de liste avec 15 souches (79%), suivie de *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* avec 2 souches (10,5%) chacune.

Les antibiotiques les plus efficaces sur ces souches ont été : l'IMP et FOX envers lesquels elles étaient sensibles à 100%. Toutes les souches étaient résistantes à la majorité des β -lactamines avec des taux de 100% pour l'AMP, l'AMC, CZ et TIC, et de 95,56% pour CTX.

La prévalence des entérobactéries productrices de BLSE a été plus élevée en milieu hospitalier avec un taux de 50% comparé à seulement 11% en ville.

Pour finir, la surveillance régulière des mécanismes de résistance est indispensable pour définir des stratégies préventives et l'usage rationnel des antibiotiques.

Mots clés : entérobactéries, urines, antibiotiques, BLSE, profils de résistance.

Abstract :

The resistance of enterobacteria to antibiotics knows a worrying world evolution with a growing impact of extended-spectrum beta lactamase (ESBL) that broadcasts even in the communal sector.

Our work is based on the strains of ESBL-secreting enterobacteria isolated in the bacteriological laboratory of the hospital Fares Yahia of Kolea during a period from January to April 2015. Those strains were isolated from urine samples of hospitalized and consultant patients.

From about 1327 samples received at the laboratory, 141 urine cultures were positive with an obvious female ascendancy (74%). 122 enterobacteria were isolated representing a rate of 96% and so the most implicated agents in urine infections.

The detection of ESBL-producing enterobacteria was performed under standard conditions of antibiogram according to the recommendations of the antibiogram committee of French microbiology society (AC-FMS). 19 strains were isolated, identified and tested their resistance to 10 antibiotics: 7 β -lactams: ampicillin (AMP), amoxicillin/clavulanic acid (AMC), ticarcillin (TIC), cefazolin (CZ), ceftiofuran (FOX), cefotaxim (CTX) and imipenem (IMP); 1 aminoglycoside, 1 sulfamide and 1 fosfomycin, in the aim to know their resistance patterns. Among isolates, the ESBL-producing species were: *Escherichia coli* at the top with 15 strains, followed by *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* with 2 strains each. The most effective antibiotics against all the strains were IMP and FOX with a sensibility of 100%. All the strains were resistant to the majority of β -lactams with a rate of 100% for AMP, AMC, CZ and TIC; 95,56% for Cefotaxim.

The prevalence of ESBL-secreting enterobacteria was more elevated in hospital with a rate of 50% compared to only 11% in town. This may be related to several contributing factors like taking broad-spectrum antibiotics.

Finally, regular monitoring of resistance mechanisms is essential to define preventive strategies and the rational use of antibiotics.

Keywords: enterobacteria, urine, antibiotics, ESBL, resistance patterns.

Introduction

Introduction

La découverte de la pénicilline suivie par celle des autres antibactériens au cours du siècle dernier a permis d'accroître l'espérance de vie de plus de dix ans. Cependant, ce progrès essentiel de la médecine moderne comporte des inconvénients, c'est pourquoi que l'on parle de « paradoxe des antibiotiques ». Ce paradoxe est la conséquence du développement des résistances liées à une large utilisation (et parfois abusive) des antibiotiques, conjuguée à la pénurie de nouvelles molécules, limitant l'arsenal thérapeutique contre les infections à bactéries résistantes.

La multirésistance aux antibiotiques concerne principalement les bactéries à Gram négatif (**Frasca et al., 2008**). L'apparition de ces bactéries et leur propagation à l'hôpital comme en ville sont devenues une préoccupation sanitaire majeure depuis les années 1980 (**Stahl, 2005**). Malheureusement, nous sommes confrontés à la montée croissante de cette résistance, atteignant à l'heure actuelle des niveaux alarmants (**Van Bambeke et al., 2002**).

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries à Gram négatif, qui sont à l'origine de maladies de gravité très variables (**Mirabaud, 2003**) et qui interviennent dans la majorité des pathologies infectieuses humaines, entre autre, les infections urinaires. Les espèces de cette famille ont été depuis une vingtaine d'années largement exposées à une utilisation extensive des antibiotiques. Revers de la médaille, elles n'ont pas été épargnées par la résistance croissante aux molécules les plus fréquemment utilisées (**Péan et al., 2001**).

Les β -lactamases constituent le principal mécanisme de résistance aux β -lactamines des bactéries Gram négatif (**Jacoby et Price, 2005**). En parallèle à l'utilisation massive de ces antibiotiques, les β -lactamases ont évolué vers la diversification, l'élargissement de leur spectre d'activité et leur diffusion parmi de nombreuses espèces d'entérobactéries (**Rodriguez-Villalobos et al., 2006**). Ceci est survenu lors de l'introduction des céphalosporines de 3ème génération en pratique clinique au début des années 80, permettant de lutter contre les infections à germes producteurs de pénicillinases et a été suivi, dès 1983 de la description de la première β -lactamase à spectre élargi (BLSE) chez *Klebsiella pneumoniae* en Allemagne. Plus de 200 BLSE ont maintenant été décrites et leur diffusion à travers le monde pose un véritable problème de santé public (**Grall et al., 2011 ; Abhijit et al., 2013 ; Sibhghatulla et al., 2015**).

La première partie de ce document présentera une synthèse bibliographique en deux chapitres traitant dans un premier temps, d'un rappel sur l'anatomie et la physiopathologie urinaire ainsi que l'antibiorésistance des souches d'entérobactéries productrices de BLSE isolées des urines.

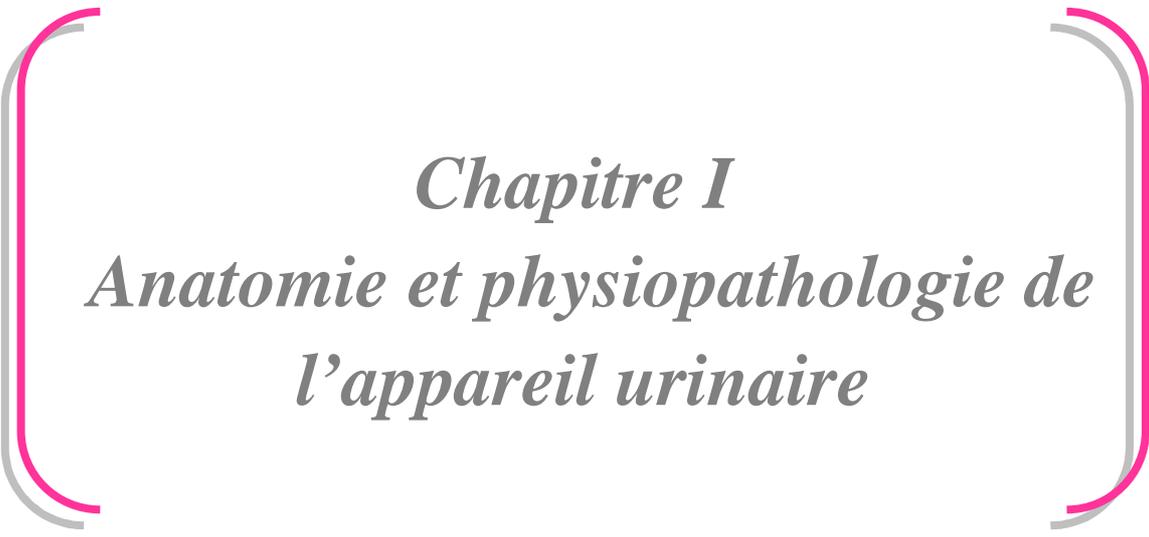
Puis, dans une seconde partie, nous détaillerons les outils méthodologiques utilisés avant d'exposer les résultats de notre travail et d'en discuter les aspects, et enfin, donner des recommandations concernant l'usage des antibiotiques.

L'objectif principal de notre travail est d'étudier la prévalence des entérobactéries productrices de BLSE isolées des urines. Les objectifs spécifiques sont les suivants :

- Etude de la fréquence des infections urinaires aussi bien en milieu hospitalier qu'extrahospitalier,
- Identifier les agents bactériens responsables de ces infections,
- Déterminer la sensibilité des principales souches aux antibiotiques testés,
- Etablir les profils de résistance des souches productrices de BLSE.

Ces différents points vont nous permettre d'évaluer le niveau de résistance de ces souches, afin de prendre les mesures nécessaires pour éviter la progression de ce phénomène qui est en perpétuelle évolution et qui pourrait conduire à l'impasse thérapeutique.

Partie I
Etude bibliographique



Chapitre I
Anatomie et physiopathologie de
l'appareil urinaire

I- Anatomie de l'appareil urinaire

1- Définition de l'appareil urinaire

C'est un ensemble d'organes qui assurent l'épuration du sang et la production de l'urine, un liquide contenant les déchets produits par l'organisme, ainsi que son élimination vers l'extérieur (Encarta, 2009).

Outre les deux reins qui produisent l'urine, l'appareil urinaire comprend : deux uretères qui transportent l'urine, la vessie qui se comporte comme un réservoir temporaire d'urine et l'urètre qui assure l'évacuation de l'urine en dehors du corps lors de la miction. (Christine Brooker, 2001)

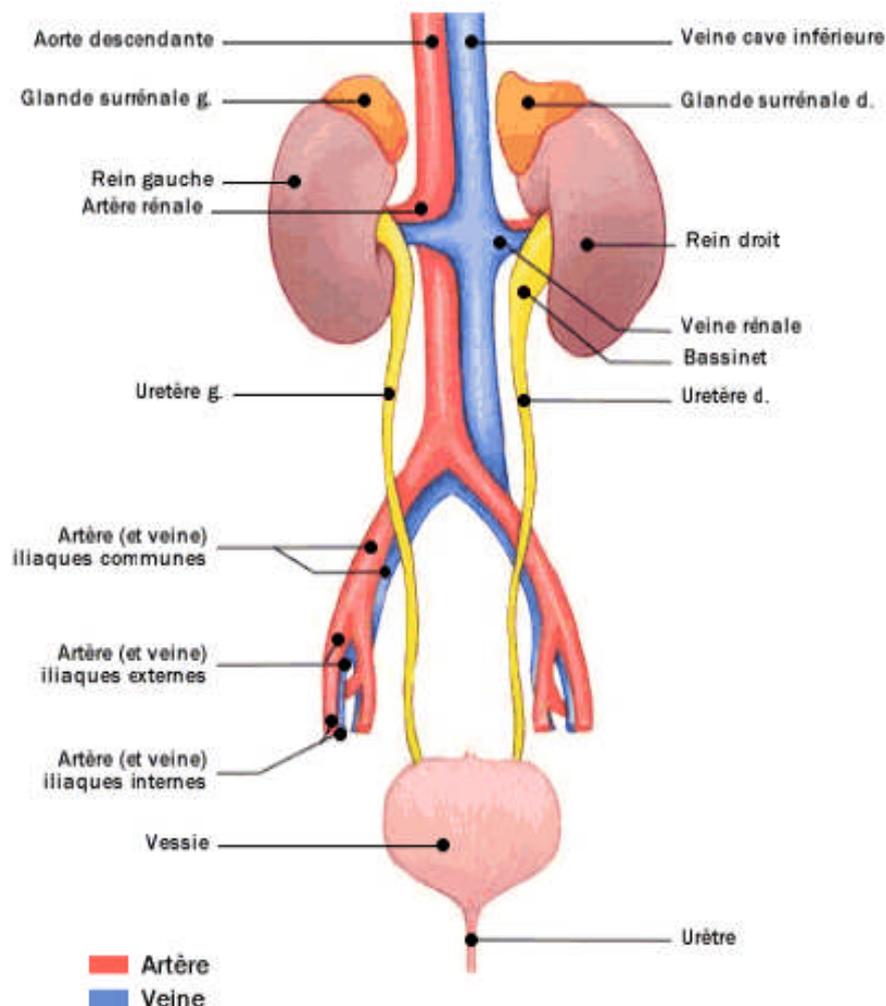


Figure 01 : Anatomie de l'appareil urinaire (Pilly, 2008)

Les voies excréto-urinaires comprennent : les calices, le bassinet (ou pelvis rénal), les uretères, la vessie et l'urètre responsables de la collecte, du transport, du stockage et de l'évacuation de l'urine (Stevens et al., 1997).

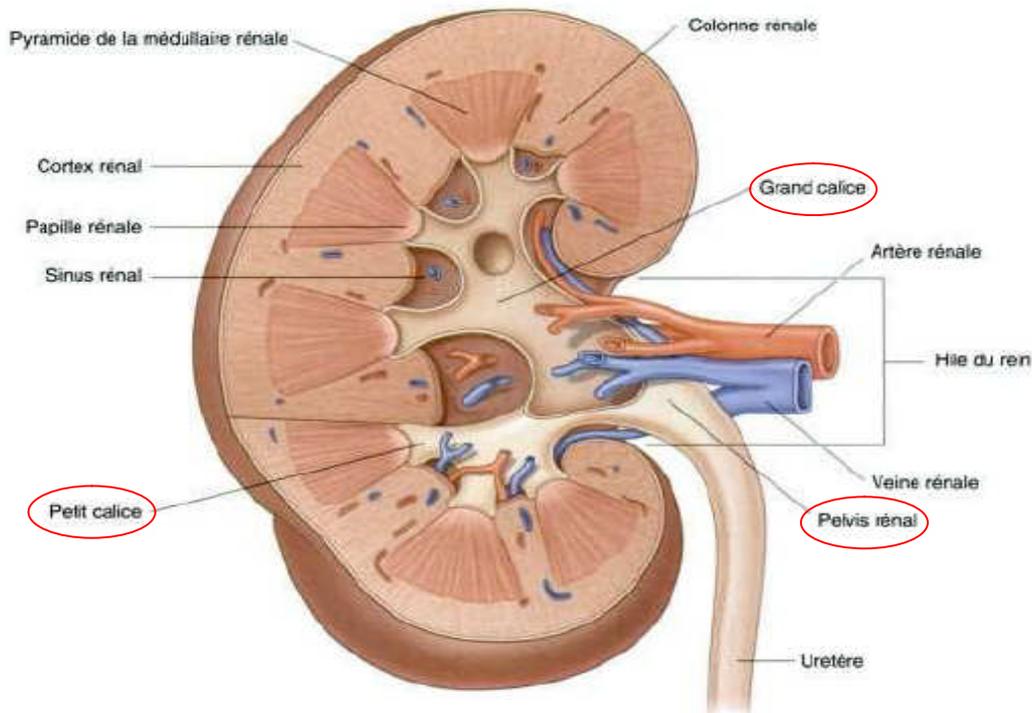


Figure 02 : Coupe interne du rein, face frontale. (Delmas, 2008)

2- Les différentes parties composant l'arbre urinaire

L'appareil urinaire se divise en appareil urinaire supérieur et appareil urinaire inférieur (Stevens et al., 1997).

2-1 L'appareil urinaire supérieur

Il est rétro-péritonéal et se compose des reins et des cavités urétéro-pyélo-calicielles (voies excrétrices).

2-1-1 Les reins

Les reins sont des organes sécrétant l'urine. Ils sont au nombre de deux, un dans chaque fosse lombale.

Ils ont une forme d'un haricot rougeâtre à hile interne d'où cheminent les vaisseaux rénaux (artère et veine). Ils mesurent chacun 12 cm de haut, 6 cm de large et 3 cm d'épaisseur (**Delmas, 2008**).

Ils présentent deux faces convexes, deux pôles (supérieur et inférieur), un bord externe et un bord interne (**Chartier, 2002**). Chaque rein est constitué d'un cortex rénal périphérique et d'une médullaire rénale interne (**Richard et al., 2006**).

Le rein droit est situé un peu plus bas que le rein gauche car abaissé par le foie (**Delmas, 2008**).

Les reins sont responsables de l'ultrafiltration du sang (élimination des produits métaboliques toxiques comme l'urée et la créatinine) et du maintien de l'homéostasie de l'eau et des électrolytes. (**Stevens et al., 1997**)

Ils interviennent aussi dans la sécrétion d'érythropoïétine et de rénine et transforment la vitamine D en une forme plus active. Ils jouent également un rôle dans la régulation du pH en association avec les poumons et les systèmes tampons (**Christine Brooker, 2001**)

2-1-2 Les uretères

Se sont de fins conduits musculaires mesurant de 25 à 30 cm de long ; ils acheminent l'urine du pelvis rénal à la vessie. Ils présentent trois portions : lombo-iliaque, pelvienne et intramuraie (dans la paroi de la vessie) (**Delmas, 2008**).

Ils sont au nombre de deux, un à droite et un à gauche, situés dans l'espace rétropéritonéal de la cavité abdominale (portion lombaire) puis du pelvis. Ils mesurent 25 cm de long et ont un diamètre de 3 à 5 mm (**Chartier, 2002**).

2.2 L'appareil urinaire inférieur

Il est sous-péritonéal et se compose de la vessie et de l'urètre.

2.2.1 La vessie

La vessie est un organe musculaire creux, lisse et rétractile qui stock l'urine entre chaque miction (**Chartier, 2002**).

Elle est constituée de trois couches : une membrane muqueuse appelée épithélium, une tunique intermédiaire de muscles lisses et une couche externe de tissu conjonctif. **(Encarta, 2009)**.

Elle occupe une position rétropéritonéale. Chez l'homme, la vessie se situe devant le rectum ; la prostate (appartenant à l'appareil génital) entoure le col de la vessie, au point de jonction avec l'urètre.

Chez la femme, la vessie est située devant le vagin et l'utérus **(Elaine et Marieb, 1999)**.

Lorsqu'elle est vide, la vessie a une forme pyramidale avec une face supérieure mobile (dôme ou calotte), une face antérieure et inférieure, une face postérieure fixe (base) et un apex **(Delmas, 2008)**. Lorsqu'elle est pleine, la vessie a une capacité de 300 à 400 ml. Au delà de ce volume, le besoin d'uriner se ressent.

2.2.2 L'urètre

C'est un conduit musculaire aux parois minces qui s'abouche au plancher de la vessie et qui permet l'évacuation de l'urine vésicale vers l'extérieur.

La longueur et les fonctions de l'urètre ne sont pas les mêmes chez l'homme et chez la femme. **(Elaine et Marieb, 1999)**

Chez l'homme, l'urètre a deux fonctions, urinaire et génitale : évacuation de l'urine vésicale et du sperme. Il fait suite au col de la vessie et sa longueur est d'environ 12cm. Il se divise en trois parties : la partie prostatique, la partie membranacée et la partie spongieuse de l'urètre.

Chez la femme, l'urètre est uniquement urinaire. Il mesure en moyenne 3cm de long. Il présente un trajet périnéal et repose sur la face antérieure du vagin **(Delmas, 2008)**.

II- L'infection urinaire

L'arbre urinaire est normalement stérile, à l'exception des derniers centimètres de l'urètre distal qui sont colonisés par une flore diverse d'origine digestive, cutanée ou génitale **(Caron et al., 2014)**.

1- Définition de l'urine

L'urine est un liquide biologique produit par les reins et transporté à travers les uretères vers la vessie où il est stocké pendant un certain temps et de là, évacué par le canal de l'urètre vers l'extérieur de l'organisme **(Littré, 2010)**.

L'étude et l'analyse de l'urine restent fondamentales dans le diagnostic des maladies rénales (**Lebret, 1999**).

L'urine normale est stérile et lorsqu'elle est prélevée par miction aseptique, un certain seuil de colibacilles et de leucocytes est accepté sans pour autant conclure que l'appareil urinaire soit infecté (le méat, les premiers centimètres de l'urètre ainsi que le prépuce sont occupés par des germes saprophytes et une flore mixte contenant *Proteus*). (**Lebret, 1999**)

Toute bactériurie significative est synonyme d'infection urinaire et nécessite le plus souvent (mais pas toujours) un traitement antibiotique. (**Anglaret et al., 2002**)

2- Définition de l'infection urinaire

L'infection urinaire est un terme général qui comprend à la fois la colonisation microbienne asymptomatique de l'urine et l'infection symptomatique avec l'invasion microbienne et l'inflammation des structures de l'arbre urinaire (**Kouta, 2009**).

La quasi-totalité des germes infectants est d'origine digestive (flore périnéale), par voie ascendante. (**Khayar, 2011**)

Le terme d' « infection urinaire » est commode mais trompeur. Les urines peuvent être septiques sans pour autant que l'appareil urinaire soit infecté. Dire « infection de l'appareil urinaire » exige que la muqueuse urothéliale soit enflammée et colonisée par une quantité significative de germes (**Lebret, 1999**).

L'infection urinaire est l'une des infections bactériennes les plus fréquentes en pédiatrie et est le plus souvent associée à une anomalie des voies urinaires (**Cohen R et al., 2007**).

Des symptômes non spécifiques comme une fièvre inexplicée et tout syndrome infectieux sans point d'appel clinique doit faire rechercher une infection urinaire (**Cohen et al., 2007**).

Les signes et symptômes sont de nature et d'intensité variable selon le terrain et peuvent s'agir d'au moins un des signes suivants :

- Fièvre (> 38°C), impériosité mictionnelle, pollakiurie, brûlures mictionnelles ou douleurs sus-pubiennes, en l'absence d'autres causes infectieuses ou non.
- Uro-culture positive (**Stahl , 2002**).

Le diagnostic repose sur l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) afin de mettre en évidence une leucocyturie et une bactériurie significatives (**Cohen et al., 2007**).

3- Les différents types d'infections urinaires

Selon la localisation, on distingue des infections urinaires basses qui touchent le plus souvent la vessie et des infections urinaires hautes qui correspondent à l'atteinte du parenchyme rénal (**Fain, 2009**)

3.1 Les infections urinaires basses

Ce sont des infections urinaires le plus souvent non compliquées.

3.1.1 La cystite

C'est une inflammation aigue ou chronique de la vessie. Elle survient le plus souvent suite à une infection d'origine bactérienne, plus rarement virale ou fongique.

Elle peut être également une séquelle de radiothérapie (cystite radique) ou de traitement médical (**Dugardin et al, 2009**).

Elle touche généralement les sujets dont le tractus urinaire est normal (**Khayar, 2011**).

3.1.2 L'urétrite

C'est une infection qui touche uniquement l'urètre. Elle est sexuellement transmissible et plus courante chez les hommes (**Kouta, 2009**).

3.1.3 La prostatite

C'est une inflammation du tissu prostatique chez l'homme et fait le plus souvent suite à une cystite (**Meyryer, 1998**).

3.1 Les infections urinaires hautes

3.2.1 La pyélonéphrite

Une pyélonéphrite est une inflammation microbienne du bassinot associée à l'envahissement de l'interstitium par des traînées suppuratives (**Rev Prat, 1993**).

C'est un état inflammatoire touchant le rein (néphrite) et sa voie excrétrice (pyélite) qui survient chez un sujet dont le tractus urinaire est anormal (malformation urinaire chez l'enfant ou obstacle à l'écoulement normal des urines chez l'adulte) (**Pilly, 2008**).

4- Les infections urinaires nosocomiales

On dit d'une infection urinaire qu'elle est nosocomiale lorsque cette dernière est acquise dans une enceinte de soins ou reliée à la prise en charge du patient (**Stahl., 2002**).

Elle se caractérise par une plus grande diversité bactérienne, avec une grande fréquence des bactéries hospitalières multirésistantes comme *Escherichia coli* (36%), *Pseudomonas aeruginosa* (7%), *Enterobacter spp.* (4%) *Acinetobacter spp.* (2%), ainsi que des champignons comme *Candida spp.* (10%) (**Darbas et al., 2007**).

5- La fréquence des infections urinaires :

Elles sont 50 fois plus fréquentes chez la femme entre 20 et 50 ans. Après 50 ans, l'incidence chez l'homme augmente nettement suite à l'augmentation des maladies prostatiques (**Khayar, 2011**).

6- L'épidémiologie des infections urinaires

Les infections urinaires représentent le 2^{ème} motif de consultation en pathologie infectieuses (après les infections respiratoires) et la première cause d'infection nosocomiales (50%).

La prévalence diffère selon l'âge et le sexe :

➤ Enfants

1 à 3% des enfants font une infection urinaire avant l'âge de 11 ans, avec une prédominance féminine globale, plus l'enfant est jeune, plus les garçons sont atteints et plus l'infection est liée à une malformation de l'arbre urinaire (**Anglaret et al., 2002**).

➤ Adultes :

Femmes : la fréquence croît avec l'âge, avec 3 pics :

- Début de l'activité sexuelle ;
- Grossesse (2,5 à 15% de bactériuries asymptomatiques qui se compliquent de pyélonéphrite dans 20 à 40% des cas) ;
- Post ménopause (20% entre 60 et 70 ans).

Hommes : rare chez l'homme jeune, plus fréquente à partir de 50 ans en rapport avec la pathologie prostatique (20% après 80 ans) (**Anglaret et al., 2002**).

7- La Physiopathologie de l'infection urinaire

Le mécanisme physiopathologique le plus fréquent des infections urinaires résulte de la colonisation ascendante des voies urinaires par des bactéries possédant des facteurs de virulence spécifiques et d'adhésion (**Fain, 2009**).

7-1 Le mode de pénétration du germe

7-1-2 La voie ascendante : c'est la voie principale.

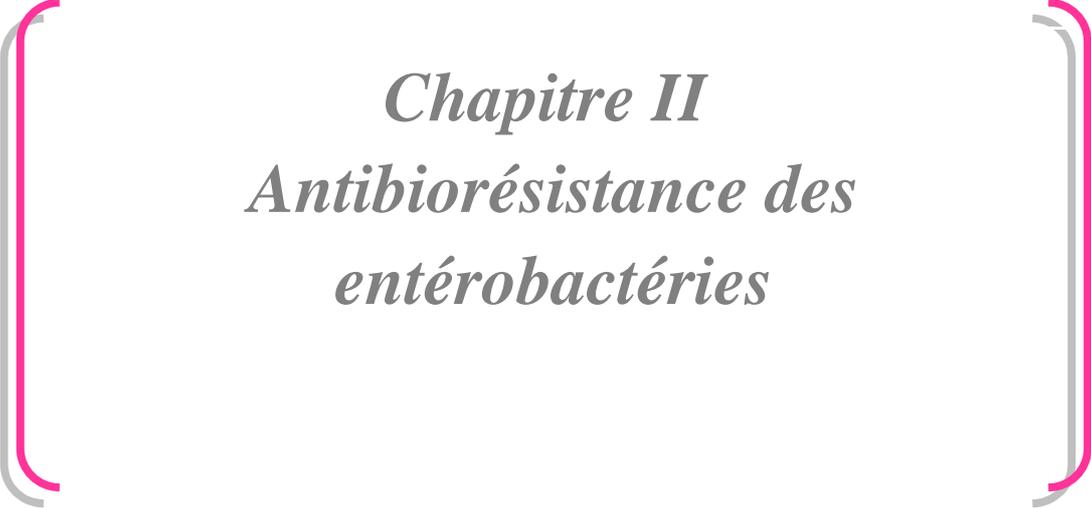
L'urètre est parfois colonisé par les bactéries d'origine périnéale, alors que les urines vésicales et sus-vésicales sont normalement stériles.

En remontant l'urètre, ces bactéries peuvent gagner la vessie où elles se multiplient (cystite).

De là, elles gagnent parfois les uretères puis les reins (pyélonéphrite) ou encore coloniser la prostate chez l'homme (prostatite).

7-1-2 La voie hématogène

Seuls les staphylocoques, les salmonelles et les candidas peuvent parfois provoquer une infection parenchymateuse par voie hématogène. (**Anglaret et al., 2002**).

The title is framed by two large, stylized brackets. Each bracket consists of an outer grey line and an inner red line, both with rounded ends.

Chapitre II
Antibiorésistance des
entérobactéries

I- Les entérobactéries

Les entérobactéries forment le principal groupe des bacilles à Gram négatif. Elles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et comportent un grand nombre de bactéries avec *Escherichia coli* comme bactérie typique, ainsi que d'autres bactéries dont la plupart sont pathogènes et responsables d'infections humaines comme les intoxications alimentaires ou d'infections plus sévères (fièvre typhoïde, dysenterie bacillaire, peste, ...) (**Schaechter et al., 1999**).

1- Définition

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche, aéro-anaérobies, fermentent le glucose avec ou sans gaz, réduisent les nitrates en nitrites et ne possèdent pas d'oxydase mais possèdent une catalase positive (**Saye, 2012**).

Elles poussent facilement sur gélose et donnent des colonies de taille moyenne (diamètre inférieur à 1mm), ne produisent pas de spores et ont des arrangements cellulaires spéciaux. (**Schaechter et al., 1999**).

Certaines entérobactéries fermentent le lactose (*E. coli* et autres) alors que d'autres n'en fermentent pas (*Salmonella, Shigella*) (**Schaechter et al., 1999**).

2- Taxonomie

2-1 Historique:

En 1937, Otto RAHN proposa pour la première fois un groupe qu'il dénomma *Enterobacteriaceae* dans lequel il rassembla les genres bactériens déjà décrits (tels que *Escherichia, Salmonella, Klebsiella, Shigella*) qui présentent des propriétés morphologiques et biochimiques communes dans un genre unique: *Enterobacter*;

En 1972, 11 genres et 26 espèces furent intégrés dans la famille des *Enterobacteriaceae* par EDWARD et EWING. En 1985, FARMER et COLL décrivaient 22 genres comprenant 69 espèces et 29 groupes entériques.

En 1997, 31 genres et 139 espèces étaient caractérisés. Le 20 février 2006, 46 genres ont été validement publiés au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*. Cette dernière comprend actuellement 140 espèces regroupées en 33 genres identifiés (**Meziani, 2012**).

2-2 Classification

Les entérobactéries sont classées selon le Manuel de Bergey 2004 comme suite:

- Domaine: *Eubacteria*
- Phylum XII: *Proteobacteria*
- Classe: *Gammaproteobacteria*
- Ordre: entérobactériales
- Famille: *Enterobacteriaceae*
- 44 genres (**Bergey's Manual 2004**) dont les genres décrits au cours des décennies 1980-1989 et 1990-1999: *Alterococcus*, *Arsenophorus*, *Brenneria*, *Pectobacterium*, *Raoultella*, *Samsonia*, et *Sodalis*.

Ces genres sont regroupés en 5 tribus: *Escherichiae*, *Klebsielleae*, *Proteae*, *Yersinia*, *Erwiniae*; et ce d'après leurs propriétés fermentatives (**Delarras, 2014**).

3- Habitat et rôle écologique

Les entérobactéries sont retrouvées partout dans l'eau, le sol et surtout dans le tube digestif de l'homme et des animaux d'où elles tiennent leur nom (**Khayar, 2011**). Elles sont aussi retrouvées dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et des organes génitaux. Elles peuvent persister en dehors d'organismes vivants, on les rencontre dans le sol, l'eau et dans certaines denrées alimentaires (**Fauchère et Avril, 2002**).

Certaines entérobactéries commensales jouent un rôle écologique important en participant aux grands cycles de dégradation de la matière organique ou peuvent être étroitement liées aux plantes (déterminent des altérations nuisibles dans les domaines agro-alimentaires comme les nécroses, les ramollissements tissulaires, les pourritures molles,...) (**Dioman, 2008**).

4- Caractères bactériologiques

4.1 La morphologie

Les entérobactéries ont toutes une morphologie habituellement sous forme de bacilles à Gram négatif généralement polymorphes (**Bossert et al., 1986**), dont les dimensions varient de 2 à 6µm de long sur 0.3 à 1µm de large. Ces dernières changent d'après l'âge de la culture, l'espèce ou la souche bactérienne (**Avril et al., 2000**).

Elles sont non sporulées; certaines sont immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia*) et la plupart sont mobiles à l'aide d'une ciliature péritriche (**Joly et Reynaud, 2007**).

Les *Proteus* sont très polymorphes (formes longues et filamenteuses ou petits bacilles droits). Les *Klebsiella* sont capsulées et la plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des facteurs d'adhésion communs (Fimbrae ou Pili). (**Khayar, 2011**).

4.2 Les caractères cultureux

Les entérobactéries sont aéro-anaérobies facultatifs poussant facilement sur les géloses ordinaires et donnent des colonies bombées, lisses, rondes et brillantes avec des bords réguliers et un diamètre de 1.5 à 3mm (**Grosjean et al., 2009**), sauf pour *Yersinia* dont les colonies sont plus petites alors que *Proteus* a tendance à envahir la gélose formant un tapis uniforme (**Khayar, 2011**).

Pour la plupart des espèces, la température normale de croissance est de 35-37°C (aussi possible à 20-40°C) pendant 18 à 24h (**Joly et Reynaud, 2002**). à pH optimum voisin de 5.5 à 8 (**Pilet et al., 1979**).

5- Les Caractères biochimiques

A fin de différencier les entérobactéries, un grand nombre de réactions et de tests biochimiques sont réalisés (**Hart et Shears, 1997**).

Après avoir établi le diagnostic de famille avec certitude, la détermination du genre et de l'espèce devient possible grâce à l'identification biochimique qui utilise des tests étudiant la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose), le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane), la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylase, désaminase), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz (**Meziani, 2012**). (**Annexe 6**)

La plupart de ces tests sont réalisés par le biais de la galerie biochimique classique ou plus récemment la galerie Api 20 E ou le MINI Api (**Khayar, 2011**).

6- Les Caractères antigéniques

Outre l'antigène K ou ECA (Enterobacterial Common Antigen), les entérobactéries possèdent :

- Les antigènes O ou somatiques : se sont des polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS) de la paroi ;
- L'antigène R (polysaccharide du core central) ;
- Les antigènes H ou flagellaires : présents chez les souches mobiles.
- Les antigènes de surface qui comprennent :
 - Les antigènes d'adhérence ou adhésines : ils sont de nature protéique et sont portés par les pili (fimbrae) ; **(Khayar, 2011)**
 - Les antigènes K (capsulaires) : ils sont de nature polysaccharidique et masquent l'agglutination par les anticorps anti O. Ils peuvent aussi correspondre à des structures non visibles au microscope optique (antigène Vi de *Salmonella enterica* subsp . *enterica* sérovar *typhi*) **(Grosjean et al., 2009)**

II- Antibiorésistance

1- Généralités

1.1 Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques élaborées naturellement par les microorganismes, semi-synthétiques ou synthétiques (**Lavigne, 2007**), capables d'inhiber la multiplication (action bactériostatique) ou de tuer (action bactéricide) d'autres microorganismes, sans avoir un effet toxique pour l'hôte (**Doublet, 2004**).

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme et le spectre d'action (**Yala et al., 2001**). Les antibiotiques agissent à des cibles précises dans les structures bactériennes (toxicité sélective) et chaque famille possède son propre site d'action (**Figure 03**) (**Prescott et al., 2010**). Les antibiotiques actuellement utilisés en médecine sont regroupés en dix (10) familles : B-lactamines, aminosides, phénicol, cyclines, macrolides, lincosamines, synergistines, polypeptides, glycopeptides et les quinolones. Sont à ajouter à la liste quelques produits « orphelins » comme la rifampicine et la fosfomycine (**Fauchère et Avril, 2002**).

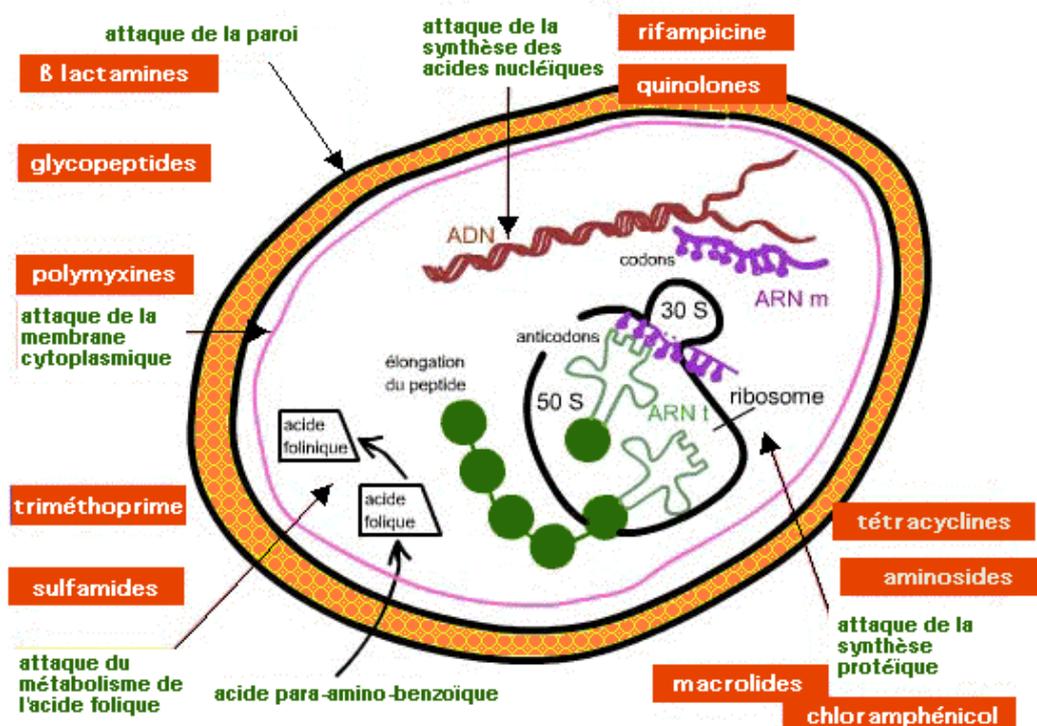


Figure 03 : Différents modes d'action des antibiotiques (**Lavigne, 2007**).

1.2 Résistance aux antibiotiques

Une souche est dite « résistante » quand elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (**Faure, 2009**).

La résistance aux antibiotiques est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et la dissémination des souches multirésistantes. Elle se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique (**Yala et al., 2001**).

On distingue deux types de résistances aux antibiotiques :

➤ Résistance naturelle (ou intrinsèque)

Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps, les moyens de s'en protéger. Il s'agit de la résistance naturelle aux antibiotiques (**Lozniewskiet Rabaud, 2010**).

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce (**Smaoui, 2010**), elle fait partie du patrimoine génétique normale du germe (**Yala et al., 2001**). La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (**Mendel et al., 2009**).

➤ Résistance acquise

Elle est présente seulement chez certaines souches de l'espèce. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou d'une acquisition de matériel génétique étranger ;

- Les résistances mutationnelles sont chromosomiques, spontanées, rares (fréquence de 10^{-6} à 10^{-9}) stables et transmissibles uniquement de façon verticale.
- Les résistances par acquisition d'ADN sont la conséquence d'un transfert horizontal y compris entre espèces phylogénétiquement éloignées. Ce phénotype est porté par un plasmide, un transposon ou un intégrons. C'est un mécanisme de résistance fréquent, contagieux et peut concerner plusieurs ATB ou plusieurs familles d'antibiotiques et peut entraîner des poly-résistances (**Faure, 2009**).

Les mécanismes de résistance bactérienne aux agents antibactériens (**Figure 04**) peuvent être regroupés en deux types : mécanismes non enzymatiques et mécanismes enzymatiques :

✚ Les mécanismes non enzymatiques

- Diminution de la perméabilité par mutation affectant la structure des porines ou diminuant leurs synthèse par lesquelles l'antibiotique ne peut pas pénétrer dans la bactérie (**Lozniewski et Rabaud, 2010**).

- Expulsion rapide de l'agent hors de la cellule avant qu'il puisse agir (**Lee, 2006 ; Jayaraman, 2009**).

- Modification de la cible (camouflage) : une mutation peut induire une modification de la cible de l'antibiotique utilisé.

✚ Les mécanismes enzymatiques

La destruction ou l'inactivation de l'antibiotique par production d'enzymes. Ce mécanisme est décrit contre les β -lactamines, les aminosides et le chloramphénicol (**Peyrou, 2001**).

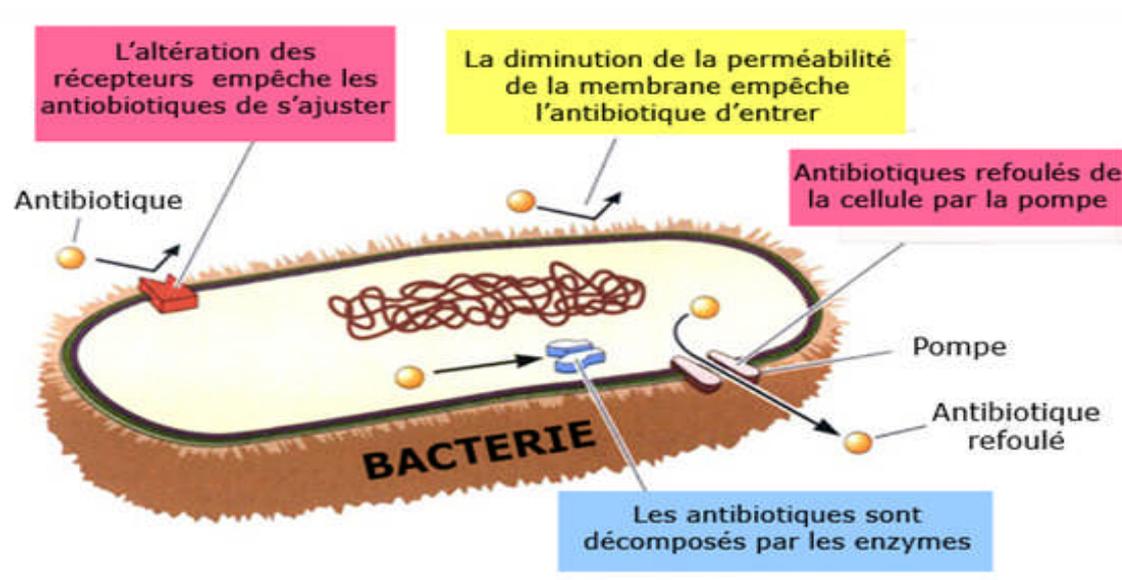


Figure 04 : Représentation des mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Virginie, 2010**).

2- Les β -lactamines

2.1 Définition

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus vaste et la plus importante, aussi bien par le nombre que par la diversité des molécules utilisables par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Cette famille comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par une structure de base : le noyau de base est le cycle β -lactame (**Figure 05**). Les antibiotiques de cette famille sont bactéricides (**Cavallo et al., 2004**).

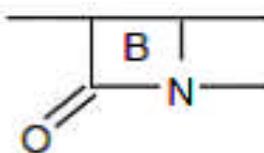


Figure 05 : Cycle β -lactame (**Cavallo et al., 2004**).

2.2 Classification

Les β -lactamines partagent une structure commune qui comprend de façon constante un cycle β -lactame et, pour la plupart d'entre elles, un second cycle. Ainsi, en fonction des cycles et des chaînes latérales associées, on distingue (**Chaabane et al., 2009**) :

❖ Les pénicillines

Également appelées les pénames : Pénicilline G, pénicillines M, pénicilline A, pénicilline V, carboxy-pénicilline et uréido-pénicillines (**Caillon, 2007**). Les molécules de ce groupe possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau β -lactame. Elles diffèrent par la nature de leur chaîne latérale (**Nauciel, 2000**).

❖ Les céphalosporines

Les céphalosporines ont pour noyau commun l'acide 7 amino céphalosporinique. Leur classification repose sur leur spectre d'activité de plus en plus large que sur leur structure chimique commune (**Toure, 2004**).

- Céphalosporines de première génération

Il existait plus d'une dizaine de céphalosporines dites de première génération, mais certaines ne sont plus commercialisées. Exemple : Céfaclor, Céfadroxil, Céfalexine, Céfalotine, Céfatrizine, Céfazoline, Céfradine.

- Céphalosporines de deuxième génération

Les céphalosporines de deuxième génération comprennent la céfuroxime, le céfamandole et la céfoxitine. Elles sont caractérisées par une meilleure résistance aux β -lactamases et un spectre d'action plus large, une activité à faible concentration et une bonne diffusion tissulaire (Allain, 2008).

- Céphalosporines de troisième génération

Exemple : Céfotaxime - ceftazidime – ceftriaxone – céfopérazone (Toure, 2004).

- Céphalosporines de quatrième génération

Restent actives chez les enterobactéries ayant acquis une résistance aux C3G par hyperproduction d'une céphalosporinase, inactives en cas de bêtalactamases à spectre étendu.

Exemple : Céfepime, Céfpirome (Hincky, 2008).

❖ Les carbapénèmes

Les carbapénèmes sont des β -lactamines qui présentent un très large spectre d'activité et une grande stabilité vis-à-vis de la plupart des β -lactamases. L'imipénème et le méropénème ont été les deux premiers représentants disponibles en clinique. Une troisième molécule s'est ajoutée, l'ertapénème (Zhanet al., 2005).

Elles se distinguent des pénicillines par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 et une liaison insaturée en C2-C3, également présente sur les céphalosporinases (Wolff et al., 2009).

Parmi les nouvelles carbapénèmes, le doripénème garde une meilleure activité sur les bacilles à Gram négatif et particulièrement sur les aérobies stricts (Zahar et al., 2010).

❖ Les monobactames :

Le noyau est limité au cycle β -lactame. Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle utilisé en clinique humaine (Chaabane et al., 2009).

❖ Les clavâmes

Leur représentant est l'acide clavulanique. Ces molécules sont des inhibiteurs β -lactamases, ayant une structure de pénicilline mais dépourvues d'activité antibiotique significative, elles ont la propriété de se lier à certaines β -lactamases et de les inhiber de manière irréversible (**Perronne, 1999**).

2.3 Mode d'action des β -lactamines

Le peptidoglycane est un polymère réticulé fait de chaînes de glycanes reliées par des peptides. Ses précurseurs sont synthétisés dans le cytoplasme et assemblés à l'extérieur de la membrane cytoplasmique. Lorsque les bactéries sont en phase de croissance, il existe simultanément des phénomènes de synthèse et de destruction du peptidoglycane. L'équilibre entre ces deux phénomènes est rompu par les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane (**Perronne, 1999**).

2.3.1 Pénétration des β -lactamines dans les bactéries

Les β -lactamines sont des acides relativement forts et franchissent parfois difficilement les membranes bactériennes. Pour les bactéries à Gram négatif il existe une « membrane externe », située à l'extérieur du peptidoglycane et la pénétration est conditionnée par des protéines « les porines » dont l'assemblage délimite les pores ou point de pénétration (**Moulin et al., 2002**).

2.3.2 Cible des β -lactamines : protéines liant les pénicillines (PLP)

Les β -lactamines se fixent sur les PLP à la place du dipeptide d'alanine avec lequel elles présentent une analogie structurale. Cette fixation bloque la synthèse du peptidoglycane et de ce fait la croissance bactérienne. La bactéricide est obtenue avec l'activation du système enzymatique de la muréine hydrolase qui provoque l'éclatement de la bactérie ce qui conduit à l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane + activation de l'autolyse : effet létal (**Pourriat et al., 2005**).

2.4 Mécanismes de résistance aux β -lactamines

Les bactéries ont développé différents mécanismes pour contrecarrer l'action des β -lactamines (Galleni *et al.*, 1995 ; Nikaido, 1998 ; Lakaye *et al.*, 1999 ; Walsh, 2003) :

- Modification de la cible (PLP) qui les rend moins sensibles aux β -lactamines mais permet de maintenir leur activité physiologique normale,
- Synthèse des enzymes (β -lactamases) qui inactivent les β -lactamines par modification chimique,
- Acquisition ou surproduction des pompes efflux qui peuvent expulser l'antibiotique hors de la cellule même contre le gradient de concentration.
- Modification des porines chez les bactéries à Gram-négatif, ayant pour résultat la diffusion plus lente des β -lactamines à travers la membrane externe.

🚩 Résistance par production des β -lactamases

Les β -lactamases sont des enzymes bactériennes qui catalysent l'hydrolyse de la liaison amide du cycle lactame des antibiotiques de la famille des β -lactamines.

Les gènes qui codent pour ces enzymes sont d'origine chromosomique ou plasmidique. Ces gènes ont aussi été détectés sur des transposons et des intégrons facilitant ainsi leur transfert horizontal entre espèces phylogénétiquement éloignées. Ces enzymes sont exportés dans le milieu extracellulaire (bactéries à Gram positif) ou périplasmique (bactéries à Gram négatif) (Livermore, 1995).

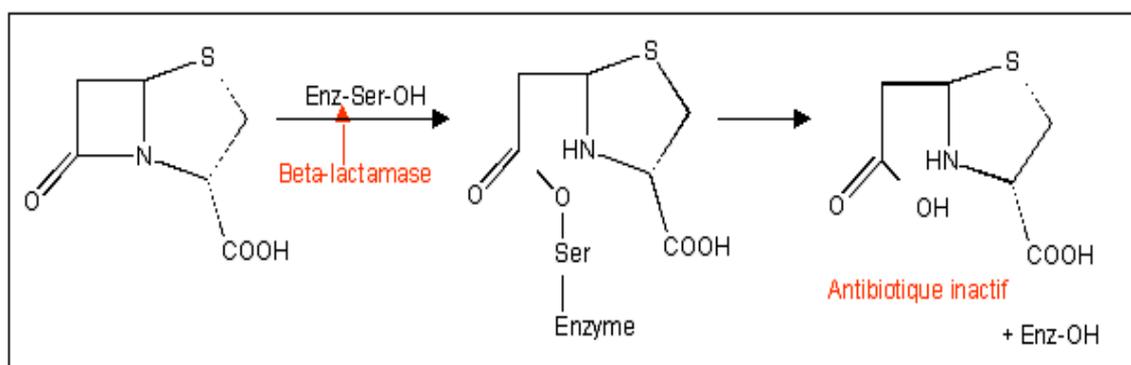


Figure 06 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle bêta-lactame (Barrial *et al.*, 2006).

3) Les β -lactamases à spectre élargi (BLSE)

3.1 Définition

Les β -lactamases à spectre élargi (BLSE) constituent un groupe d'enzymes qui ont la propriété commune de conférer la résistance aux pénicillines, à la 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération de céphalosporines, à l'aztréoname (mais non aux céphamycines et carbapénèmes) par hydrolyse de ces antibiotiques, et qui sont inhibées par les inhibiteurs des β -lactamases tel que l'acide clavulanique (**BUSH et al., 1995**).

La présence des BLSE a été décrite pour la première fois chez *Klebsiella ozaeniae* en 1983 en République Fédérale d'Allemagne, puis en 1984 chez *K. pneumoniae* et *E.coli* en France et en Tunisie (**Kliebe et al, 1985 ; Knothe et al., 1983**).

Ces enzymes avaient été désignées céfotaximase et ceftazidimase car elles conféraient aux bactéries qui les produisent une résistance préférentielle à la céfotaxime ou à la ceftazidime. Elles inactivaient aussi d'autres oxyamino- β -lactamines telles que la ceftriaxone et l'aztréoname. La répartition de ces enzymes est aujourd'hui mondiale (**Paterson et Bonomo, 2005**).

3.2 Classification des BLSE

Actuellement deux classifications s'imposent

❖ Classification structurale de Ambler

Proposée en 1980, cette première classification dite structurale, est basée sur la structure primaire de l'enzyme, notamment du site actif. Elle individualise quatre classes moléculaires A, C et D (appelées sérines enzyme) et B (dont les enzymes comportent deux atomes de zinc au niveau de leur site actif).

- La classe A correspond aux pénicillinases et aux β -lactamases chromosomiques ou plasmidiques sensibles à l'acide clavulanique.
- La classe B comprend les métalloenzymes, inhibés par l'EDTA.
- La classe C inclut les céphalosporinases résistantes à l'acide clavulanique.
- La classe D regroupe les Oxacillinases (**Jacob, 2003**).

❖ **Classification fonctionnelle de Bosh-Jacoby-Medeiros**

La classification fonctionnelle réactualisée en 1995 et proposée par Bosh et *al*, est basée sur le spectre préférentiel des enzymes et sur leur comportement aux inhibiteurs (**Jacob, 2003**).



*PARTIE
EXPERIMENTALE*

Chapitre I
Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau de l'hôpital Fares Yahia de Kolea pendant une période de 3 mois allant de la fin janvier au début avril 2015. Ce travail a pour but d'isoler et d'identifier les entérobactéries à partir de prélèvements d'urines et d'étudier leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques à fin de détecter celles productrices de β -lactamase et de dresser leurs profils de résistance.

1. Matériel

• Matériel biologique

Durant notre période de stage, 1327 prélèvements d'urines ont été reçus au niveau du laboratoire, appartenant à des patients externes et internes provenant de différents services.

Une fiche de renseignement faisant objet d'une enquête d'étude doit être remplie par les patients suspects d'infection urinaire et dont une copie est portée en **annexe 1**.

• Matériel non biologique

Il est représenté par les instruments et l'appareillage, les milieux de culture et les réactifs ainsi que les différents antibiotiques disponibles. Ces derniers sont portés en **annexe 2**.

2. Méthodes

2.1. Prélèvement

Il se fait soit par la **ponction vésicale sus-pubienne (PSP)** qui est une ponction transcutanée directement à partir de la vessie à l'aide d'une seringue montée après désinfection des téguments, ou alternativement par le **sondage «aller-retour»**. Cependant, ces deux techniques ne sont pas dénuées de complications.

Le recueil d'urines le plus couramment utilisé se fait par voie naturelle selon la technique dite «du milieu de jet » (**Denis et al., 2007**).

- **Chez l'adulte**

Le prélèvement doit être précédé par un lavage hygiénique des mains ainsi qu'une toilette interne soignée à l'eau et au savon ou antiseptique doux de la région vulvaire chez la femme (grandes et petites lèvres) et du méat, gland et prépuce (relevé) chez l'homme.

Par la suite, 20 ml du « milieu de jet » d'urines doivent être recueillis dans un flacon stérile à usage unique en prenant soin de ne pas toucher son bord supérieur. Le flacon doit être soigneusement fermé à la fin.

- **Chez le nourrisson**

Après une désinfection soignée de la région périnéale et afin d'éviter toute contamination fécale, un sac collecteur stérile spécifique muni d'un adhésif est fixé à la vulve chez la petite fille ou à la verge chez le petit garçon pendant une heure.

Si le volume est insuffisant, le sac collecteur doit être remplacé par un nouveau en prenant soin de nettoyer la région du méat à chaque changement de sac. Ce dernier est acheminé dans les plus brefs délais au laboratoire.

L'urine peut également être collectée « à la volée » au moment du change.

- **Chez les patients sondés à demeure**

Après clampage de la sonde, on ponctionne les urines avec une seringue et on les transvase dans un flacon stérile.

- **Cas particuliers**

- **Urétrostomie (sans sonde)**

Après désinfection de la stomie, on met en place un collecteur stérile et on procède comme pour le nourrisson.

- **Cathétérisme urétéral**

Après avoir désinfecté l'extrémité de la sonde, quelques millilitres d'urines sont recueillis en demandant au patient de tousser à plusieurs reprises. Cette technique permet d'obtenir des urines provenant séparément du rein droit ou du rein gauche.

- Urines du premier jet

Ces urines sont recueillies en cas d'IST (infection sexuellement transmissible) pour la recherche de Mycoplasmes, Gonocoques ou Chlamydia.

- Recherche de mycobactéries

Elle se fait par le recueil de la totalité de la première miction du matin pendant 3 jours de suite.

2.2. Transport et conservation de l'échantillon

La rapidité du transport et une conservation adaptée du prélèvement sont d'une importance majeure dont l'objectif est de limiter la pullulation bactérienne. Cette dernière dépend du délai entre le prélèvement et l'ensemencement, de la température de l'échantillon pendant ce délai et enfin de la rapidité de la multiplication qui varie selon la nature du micro-organisme. (Cohen et al., 2007)

❖ Transport

Le prélèvement d'urine doit être acheminé au laboratoire à température ambiante (22°C) en moins de 2h à fin d'éviter toute prolifération bactérienne.

❖ Conservation

Si le transport immédiat est impossible, le flacon d'urine doit être conservé à 4°C pendant une période ne dépassant pas les 24h.

Une conservation dans un agent bactériostatique comme l'acide borique à température ambiante pendant 24h à 48h est aussi possible sans modification du taux de bactéries et sans altération des leucocytes. Toutefois, à concentration élevée (mêlé à < 5 à 10 ml d'urines), cet acide peut avoir un effet bactéricide.

L'acide borique est aussi susceptible de diminuer la sensibilité de la recherche de leucocyte estérase par bandelette urinaire (Denis et al., 2007).

* Le respect des conditions de transport et de conservation inclut l'importance de noter l'heure à laquelle l'urine a été recueillie.

2.3. Renseignements accompagnant le prélèvement

A fin d'optimiser l'ECBU et son interprétation, quelques renseignements sont indispensables au microbiologiste et qui sont :

- Le nom et prénom du patient
 - L'âge et le sexe
 - Le mode de prélèvement
- } Aussi sur le flacon

- L'heure et la date du prélèvement
- Les motifs de la demande
- Les antécédents d'ITU
- La notion de maladies concomitantes
- Le traitement éventuellement déjà institué. (Denis et al., 2007)

2.4. Examen cytobactériologique des urines (ECBU)

Suite à leur acheminement au laboratoire, les urines doivent être analysées sans retard (Denis et al., 2007).

Elles seront soumises à un ECBU qui consiste en un examen cytologique et bactériologique et qui est considéré comme l'examen de routine le plus utilisé à fin de détecter la présence de germes et de confirmer une éventuelle infection dans ce milieu normalement stérile. Il est précédé par un examen macroscopique du prélèvement.

2.4.1 Examen macroscopique

Cet examen repose sur l'observation macroscopique de l'urine, c'est-à-dire telle qu'elle se présente, vue à l'œil nu. Il se base sur plusieurs paramètres qui varient selon l'état de santé ainsi que le régime alimentaire de l'individu.

❖ L'aspect

Alors que l'urine normale est claire, limpide, d'aspect jaune citrin, l'urine infectée peut être trouble, ictérique, hématurique ou purulente.

On note parfois la présence de sédiments : blanchâtre (phosphate), rouge brique (acide urique), rose (urates) (Darbas et al., 2007).

❖ La couleur :

L'urine prend différentes colorations à l'état normal et à l'état pathologique.

Tableau I : les couleurs de l'urine à l'état normal et pathologique. (Lebret Thierry, 1999 ; Claude, 2000

Etat	Couleur	Causes
Normal	- Jaune très clair (diluée)	-Prise de diurétiques
	- Jaune foncé (concentrée)	-Restriction hydrique nocturne -Etats fébriles -Sueurs abondantes
Pathologique	- Blanche	-Pyurie -Cristaux de phosphate
	- Mousseuse	-Protéinurie abondante
	- Lactescente	-Chylurie (présence de globules graisseux), cas de parasitoses
	- Jaune orangé	-Maladies fébriles aigue
	- Verte	-Prise de bleu de méthylène ou d'amitriptyline (antidépresseur)
	- Rouge ou brunâtre	-Hématurie macroscopique, myoglobininurie et hémoglobinurie, excrétion de pigments endogènes, colorants alimentaires (betteraverie) ou médicamenteux.
	- Brun foncé	-Méthémoglobines (oxydation de l'atome de fer ferreux (ion Fe^{2+}) de l'hémoglobine en fer ferrique (Fe^{3+}) -Pigments alimentaires -Prise de médicaments
	- Brun verdâtre	-Présence de pigments biliaires
- Noire	-Cancers -Ochronose (Alcaptonurie)	

❖ L'odeur

A l'état normal, l'odeur des urines provient de certains composés volatiles à doses très faibles comme l'ammoniac.

A l'état pathologique et dans certaines maladies, l'urine peut dégager l'une des odeurs suivantes :

- Odeur acétonique : diabète ;
- Odeur de sirop d'érable : leucinose ;
- Odeur fétide : fièvre grave, cancer du rein ou de la vessie ;
- Odeur de pieds en sueur : acidémie (diminution du pH sanguin <7.38)
- Odeur de choux bouillis : tyrosinose ; (accumulation de tyrosine dans l'organisme)
- Odeurs particulières : affections métaboliques héréditaires de l'enfant.

2.4.2 Examen microscopique (cytologie)

Cet examen est considéré comme un acte fondamental du diagnostic bactériologique.

Il s'agit d'un examen capital, rapide, très informatif, conditionné par la qualité du prélèvement.

Il comporte un examen en lumière blanche à l'état frais et après coloration : coloration de Gram (pour la plupart des bactéries médicales) (**Berche et al., 2003**)

➤ L'état frais

Après homogénéisation des urines avec un agitateur de type vortex, on procède à la numération des différents éléments grâce à un hématimètre ou « cellule » en verre calibrée (Nageotte, Laumar, Malassez). (**Denis et al., 2009**)

A l'état normal, l'urine est très pauvre en éléments cellulaires : environ 10^3 hématies et moins de 10^4 leucocytes /ml, des cellules de desquamation de la muqueuse, des cylindres hyalins ainsi que des cristaux (**Darbas et al., 2007**).

L'identification des cellules est possible. On distingue les lymphocytes et polynucléaires (souvent altérés et en amas). On rencontre aussi des cellules en raquette de la couche moyenne de l'épithélium vésical.

Les cellules ne sont pas toutes d'origine vésicale. On retrouve alors des cellules rondes rénales ainsi que de grandes cellules à petits noyaux d'origine vaginale (**Denis et al., 2009**).

Les cylindres hyalins ne sont pas pathologiques. Lorsque ces derniers sont associés à des hématies (cylindres hématiques), des leucocytes (c. Granuleux) ou des globules graisseux (c. Graisseux), ils deviennent pathologiques (**Darbas et al., 2007**).

Les cristaux ne sont pas pathologiques lorsqu'ils sont constitués de substances normalement présentes dans l'urine (acide oxalique, urate ou sels de calcium). Seuls les cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien ont un intérêt dans le diagnostic d'une infection urinaire (bactérie uréasique).

Une leucocyturie ($>10^4$ leucocytes/ml) est observée en cas d'infection urinaire. Toutefois, il existe des leucocyturies négatives ($<10^3$ leucocytes/ml) ou faiblement positives notamment chez les patients dont les défenses immunitaires sont affaiblies (nouveaux nés, femmes enceintes...).

L'hématurie peut être macroscopique ou microscopique selon son intensité. Les traumatismes, les calculs, les tumeurs siégeant en un point quelconque de l'appareil urinaire, la tuberculose, les troubles de la coagulation (traitements anticoagulants) peuvent être à l'origine d'hématurie, mais il existe aussi des cystites hématuriques (**Darbas et al., 2007**).

Enfin, l'examen microscopique peut aussi mettre en évidence des levures, des spermatozoïdes, des œufs de parasites ainsi que des bactéries avec présence d'une bactériurie si leur taux est supérieur à 10^4 /ml. On réalise alors une coloration de Gram dans le but de préciser la morphologie et le « Gram » de la bactérie.

Technique :

Après homogénéisation des urines par agitation du flacon :

- On dépose une lamelle sur une cellule de malassez propre ;
- On prélève un volume d'urine à l'aide d'une micropipette munie d'un embout à usage unique et on vide son contenu entre la lamelle et la cellule de malassez en la laissant se remplir par capillarité ;
- On met la cellule sous microscope (Gx40) puis, on procède au dénombrement des leucocytes, des hématies et des bactéries. Suivant le nombre retenu, on peut commenter en : rares, quelques, assez nombreux (+), nombreux (+ +), très nombreux (+ + +) (**Annexe 3**).

- On note la présence des cylindres et des cristaux en précisant leur nature et composition comparés à des figures de référence présentes au laboratoire.
- On conclut si les résultats répondent aux normes ou est ce qu'il faut procéder à la culture de ces urines pour confirmer une infection suspecte.

2.4.3 Bandelette urinaire

Depuis plusieurs années, des bandelettes réactives ont été mises au point à fin de permettre le dépistage des infections urinaires (**Cohen et al., 2007**).

Ces bandelettes sont essentielles dans la surveillance d'une grossesse, d'un diabète, d'un sujet âgé ou dans le cas d'insuffisance rénale.

Elles sont composées chacune de 5 plages permettant de détecter, en premier lieu, deux paramètres principaux : la leucocyturie (leucocyte estérase) et la bactériurie (présence de nitrites). Elles permettent également l'indication du pH ainsi que la détection de la protéinurie et de l'hématurie microscopique dans les urines.

✓ **Leucocyturie** : la plage leucocytes permet de mettre en évidence, en 2 min et à température ambiante, la présence d'une leucocyturie significative par la détection de l'activité estérasique des polynucléaires neutrophiles présents dans l'urines, qu'ils soient intacts ou lysés.

✓ **Nitrites** : leur détection est synonyme de la présence de bactéries possédant une nitrate réductase qui réduit les nitrates, normalement présents dans les urines, en nitrites (**Darbas et al., 2007**).

Ce test a une sensibilité de 95% et une spécificité de 75%. La valeur prédictive négative (VPN) des deux paramètres leucocytes-nitrites est de 99% (**Lebret Thierry, 1999**), c'est-à-dire que si les deux sont négatifs, l'hypothèse de l'infection urinaire est écartée (**Darbas et al., 2007**).

La valeur prédictive positive (VPP) quant à elle, est médiocre : 39,7% car la positivité de l'un des deux paramètres n'affirme pas forcément que l'urine est infectée et doit conduire à la réalisation d'un ECBU.

✓ **Limites du test**

- La principale limite de ce test est qu'il ne peut détecter que les entérobactéries (toutes productrices de nitrate réductase) et non les bactéries à Gram positif tels que les staphylocoques et les entérocoques.

- Présence de faux négatifs en cas de : faible bactériurie, régime alimentaire faible en nitrates, pH urinaire acide, forte glycosurie, cétonurie, protéinurie ou en présence d'acide borique, d'acide oxalique, ou en cas de traitement diurétique ou de traitement à l'acide ascorbique (**Caron François et al., 2014**).
- Des urines trop diluées ou ayant séjourné moins de 3h dans la vessie ou la présence d'une IU sans leucocyturie (diabétiques) peuvent aussi donner de faux négatifs. (**Darbas et al., 2007**).

Le praticien est tenu de connaître les limites des bandelettes réactives, les délais de péremption et les conditions de conservation et d'utilisation indiquées par le fabricant (**Cohen et al., 2007**)

✓ Réalisation pratique

Pour la réalisation du test par BU, les mêmes conditions de recueil de l'urine que pour l'ECBU sont respectées. L'analyse est réalisée à température ambiante, de préférence, dans l'heure qui suit le recueil.

Tout d'abord, la bandelette est plongée dans les urines et retirée immédiatement en évitant de toucher les zones réactives; l'excès est éliminé en la tapotant légèrement sur le bord du récipient.

Ensuite, elle doit être tenue horizontalement pour éviter l'interférence avec les réactifs des plages voisines.

En fin, les résultats sont lus à l'œil par comparaison à l'échelle colorimétrique présente sur la boîte des bandelettes avec respect des temps indiqués.

La lecture par réflectomètre est aussi possible (**Darbas et al., 2007**).

2.4.4 Examen bactériologique (Uroculture)

La réalisation d'une culture est nécessaire pour le diagnostic de l'infection urinaire, elle permet de préciser l'espèce bactérienne, quantifier la bactériurie et effectuer un antibiogramme.

Les modes d'ensemencement les plus simples et les plus utilisés sont : méthode originale de KASS, méthode simplifiée de VERON, méthode à l'ance calibrée et la méthode de lame immergée.

a- Méthode utilisée : méthode simplifiée de VERON

L'urine est diluée en 1/100 en eau distillée stérile, on étale 0.1 ml de cette dilution, une colonie correspond à 1000 bactéries par ml (Denis *et al.*, 2007).

b- Interprétation de l'uroculture**➤ Interprétation quantitative (dénombrement des bactéries)**

Depuis les travaux de KASS, l'interprétation des cultures s'effectue de la manière suivante :

- Bactériurie $< 10^3$ CFU / ml : bactériurie non significative, absence d'infection.
- Bactériurie $> 10^5$ CFU / ml : bactériurie significative, infection probable.
- Entre 10^3 et 10^4 CFU / ml : zone d'incertitude (valeurs à contrôler si besoin).

➤ Interprétation qualitative

Le plus souvent, les infections urinaires sont monomicrobiennes et une bactériurie polymicrobienne reflète une contamination de l'échantillon. Cependant, dans certains cas, plusieurs souches bactériennes différentes peuvent être isolées et tenues pour responsables (Degouvello. *et al.*, 2006). L'examen d'un second échantillon est souhaitable. Si l'une des souches isolées est nettement prédominante, elle est prise en compte et identifiée.

2.4.5 Interprétation des résultats de l'ECBU (cytologique et bactériologique)

L'interprétation dépend de plusieurs variables : le nombre d'UFC/ml, le nombre d'espèces bactériennes isolées et leur type, le sexe et l'âge du patient, la méthode de prélèvement, la dilution des urines par des boissons abondantes, la prise éventuelle d'antibiotiques, ainsi que les données éventuelles fournies par les autres examens.

Tableau II : Interprétation des principales situations basées sur le contexte épidémiologique, la présence de signes cliniques, d'une leucocyturie et d'une bactériurie. (AFSSA, 2008).

Contexte	Signes cliniques	Leucocyturie $\geq 10^4$ / ml	Bactériurie avec des uropathogènes reconnus	Commentaires
Communautaire	+	+	$\geq 10^3$ UFC/ml coliformes et <i>S. saprophyticus</i>	-Infection urinaire (cystite aiguë) Dans le cas de suspicion de pyélonéphrite aiguë, le seuil de bactériurie $\geq 10^4$ UFC/ml est considéré comme significatif
			$\geq 10^5$ UFC/ml pour les autres espèces, notamment entérocoque	
Non sondé	-	+ ou -	$\geq 10^3$ UFC/ml	-Colonisation □
			$\geq 10^5$ UFC/ml pour la femme enceinte	-contamination probable au moment du prélèvement \Rightarrow refaire l'ECBU.
	+	+	$\geq 10^3$ UFC/ml, plusieurs espèces : polymorphe	-contamination probable au moment du prélèvement \Rightarrow refaire l'ECBU.
Nosocomial ou associé aux soins	+	+	$\geq 10^3$ UFC/ml	-Infection urinaire
			-	+ ou -
Nosocomial ou associé aux soins	+	Non contributif	$\geq 10^5$ UFC/ml	-Infection urinaire
			-	
Sondage urinaire				
Communautaire ou nosocomial	+ ou -	+*	$< 10^3$ UFC/ml	-Inflammation sans bactériurie Traitement antibiotique en cours -Recherche micro-organismes à culture lente ou difficile ou étiologie non infectieuse
			-*	$< 10^3$ UFC/ml

2.4.6 Identification des germes :

2.4.6.1 Coloration de Gram

❖ Principe :

La coloration de Gram est une coloration différentielle : Elle permet de classer les bactéries en deux groupes (Gram+ et Gram-) sur la base de la perméabilité de leur paroi à l'alcool (ou à l'alcool/acétone). Cette perméabilité dépend de la composition de la paroi bactérienne (épaisseur de la paroi liée à sa richesse en peptidoglycane), comme elle permet de visualiser facilement les bactéries et de donner des indications sur leurs formes et leurs tailles.

Cette technique a été mise au point en 1884 par Hans Christian Gram et elle garde toute sa pertinence même dans un laboratoire plus sophistiqué en raison de sa rapidité et de l'orientation diagnostique qu'elle donne.

❖ **Technique**

- Préparation d'un frottis : prélèvement à l'aide de l'anse à ensemencement ou d'une pipette pasteur une parcelle de la colonie à étudier et la déposer sur une goutte d'eau sur une lame propre et bien l'étaler afin d'éviter les agglomérations des bactéries.
- Fixation du frottis : en passant la lame sur la flamme (le côté sur lequel est étalé l'échantillon est dirigé vers le haut) puis laisser refroidir.

❖ **Coloration :**

- 1- La coloration primaire: Couvrir complètement la lame de violet de gentiane pendant 30 secondes à 1 minute puis rincer à l'eau.
- 2- La fixation au Lugol : Couvrir la lame de Lugol pendant 30 secondes puis rincer à l'eau.
- 3- La décoloration à l'alcool: Verser quelques gouttes d'alcool sur le frottis tenu verticalement jusqu'à ce que l'alcool s'écoule non teinté (5 secondes environ). Rincer à l'eau.
- 4- La coloration secondaire : Recolorer par de la Fuchsine en versant le colorant en bout de lame et en le faisant glisser le long de la lame. Ne pas verser la Fuchsine sur le frottis pour éviter une coloration trop intense. Laisser agir de 1 minute à 30 secondes. Rincer à l'eau et laisser sécher.

❖ **Résultat**

- Observer la lame au microscope (avec une goutte d'huile à immersion, au grossissement 1000x).
- On distingue :
 - Bactéries à Gram positif (paroi épaisse) qui sont colorées en violet foncé/bleu.
 - Bactéries à Gram négatif (paroi mince) qui sont colorées en rouge/rose.

2.4.6.2 Identification biochimique

L'identification biochimique repose sur l'utilisation de galeries spécifiques qui permettent d'identifier le genre et l'espèce bactérienne en s'appuyant sur les caractères biochimiques après orientation à partir de caractères cultureux et morphologiques.

On utilise la galerie biochimique classique ou bien l'Api20E selon les moyens disponibles.

A. Galerie classique

1. Test d'oxydase

Test de détection de l'enzyme phénylène diamine oxydase chez les bactéries Gram négatif qui le produisent.

➤ **But** : Différencier les Entérobactéries des Pseudomonas

➤ **Technique**

A l'aide d'une pince, placer un disque d'oxydase sur une lame porte-objet puis prélever une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester et la froter doucement sur le disque et observer.

➤ **Résultat**

- Réaction positive : coloration bleue foncée à violette apparaissant dans un délai de 30 secondes.
- Réaction négative : absence de coloration.

2. Test d'ONPG (Ortho- Nitro- Phenyl- β -D.Galactosidase)

Ce test est réalisé pour étudier l'existence d'une Béta-Galactosidase chez le germe, donc la possibilité de la fermentation effective du lactose indépendamment de la perméase bactérienne.

- **Principe**

La Béta-Galactosidase hydrolyse le lactose en Glucose + Galactose. En plus, elle présente 2 caractéristiques :

- ✓ Elle est intracellulaire et ne peut agir sur le lactose que s'il pénètre à l'intérieur de la cellule.
- ✓ Elle est inductible et n'est synthétisée que si la bactérie est cultivée en présence de lactose, ce qui nécessite la présence dans le milieu d'une petite quantité de Glucose suffisante à l'initiation de la synthèse de la perméase.

Pour déceler cette Béta-Galactosidase, on va mettre la bactérie en présence d'un réactif analogue au lactose : Ortho Nitro Phényl Galactopyranoside (O.N.P.G.). Ce produit donne le Lactose et de l'Orthonotrophényl qui présente une coloration jaune.

➤ **Technique**

Réaliser une suspension des bactéries à tester puis ajouter avec une pince flambée et refroidie un disque imprégné d'ONPG, incuber 30 min jusqu'à 24h à 37°C.

➤ **Résultat :**

- Réaction positive : coloration jaune (ONPG +)
- Réaction négative : pas de coloration (ONPG -)

3. Milieux d'identification

❖ **T. S.I (Three- Sugar-Iron)**

C'est un milieu qui permet de mettre en évidence la fermentation de trois sucres : glucose (culot), lactose et saccharose (pente), la production ou non de gaz et la production de H₂S.

➤ **Technique**

On prélève à l'aide d'une pipette pasteur stérile une colonie et on ensemence la pente par stries serrées puis le culot par une piqure centrale, la lecture se fait après 24h d'incubation à 37°C.

➤ **Résultats**

- Culot jaune : fermentation du glucose
- Pente jaune : fermentation du lactose et saccharose.
- Présence d'une ou plusieurs bulles de gaz ou décollement de la gélose: production de gaz.
- Noircissement du milieu : production de H₂S.

❖ **Citrate de Simmons (recherche de la citrate perméase)**

Il s'agit de la recherche de l'utilisation du citrate comme seule source de Carbone, seules les bactéries possédant un citrate perméase seront capables de se développer sur ce milieu.

➤ **Technique**

Elle consiste à ensemencer la moitié du milieu par des stries serrées, l'autre moitié servira comme témoin, puis incuber 24h à 37°C.

➤ **Résultats**

- Réaction positive: croissance accompagnée d'un virage du milieu du vert au bleu.
- Réaction négative: pas de croissance, le milieu reste vert.

❖ **Urée-Indole (milieu FERGUSSON)**

Le milieu Urée-tryptophane, improprement appelé urée-indole est un milieu de culture synthétique utilisé en bactériologie permettant de réaliser 3 tests :

- ✓ **Test d'uréase** : consiste à démontrer la dégradation de l'urée en ammoniac par l'enzyme uréase.
- ✓ **Test d'Indole** : Certaines bactéries dégradent le tryptophane en indole grâce à une enzyme tryptophanase.
- ✓ **Test TDA** : le tryptophane désaminase (TDA) agit sur le tryptophane en donnant l'acide indol pyruvique.

➤ **Technique**

Sur le milieu urée-indole on fait d'abord la réaction de l'urée par ensemencement avec la bactérie étudiée puis incubé 24h à 37°C. Le lendemain, diviser le contenu du tube en deux : l'un servira à la recherche de l'indole par l'adjonction de quelques gouttes du réactif de KOVACS, l'autre servira à la recherche de T.D.A. par l'adjonction du réactif de T.D.A.

➤ **Résultat**

- La coloration rouge traduit une alcalinisation du milieu, suite à l'hydrolyse de l'urée et formation de carbonate d'ammonium : uréase+
- Si le milieu reste orange, alors pas d'alcalinisation : uréase –
- 1er tube : s'il y a formation d'anneau rouge en surface : la bactérie est Indole+.
- 2ème tube : s'il y a virage de la couleur au brun rouge : la bactérie est T.D.A+.

❖ **Clark et Lubs**

Ce milieu nous permet de réaliser deux tests pour différencier deux voies fermentaires chez les entérobactéries:

- ✓ **Test au rouge de méthyle (RM)**: pour mettre en évidence la voie des acides mixtes.

- ✓ Réaction de Voges Proskauer (VP): pour mettre en évidence la voie du butan-2,3-diol.
- **Technique** :ensemencer le milieu avec quelques gouttes de la suspension bactérienne à étudier puis incuber 24h à 37°C. Le lendemain, diviser le contenu du tube en deux pour réaliser les tests.
- **Résultats** :
 - Test 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-.
 - Test VP : ajouter quelques gouttes de réactifs VP1 et VP2 et agiter : s'il y a apparition d'une couleur brune rouge, la réaction est VP+ (présence d'acétylméthylcarbinol), sinon la réaction est VP-.

❖ Métabolisme des acides aminés

Certaines espèces microbiennes possèdent des enzymes capables de dégrader certains acides aminés : l'ornithine décarboxylase (ODC), la lysine décarboxylase (LDC) et l'arginine déshydrogénase (ADH), la mise en évidence de ces enzymes est utilisée du point de vue taxonomique en particulier pour les entérobactéries.

Le milieu de base utilisé est celui de Moeller qui est additionné de l'acide aminé à étudier et contient du Pourpre de Bromocrésol comme indicateur de pH. Pour chaque test de recherche des décarboxylases, utiliser un milieu témoin sans acides aminés.

Dans un 1^{er} temps, la bactérie utilise le glucose du milieu qui s'acidifie et fait virer l'indicateur au jaune. Dans un deuxième temps, la décarboxylation de l'acide aminé alcalinise le milieu et refait virer l'indicateur au bleu violacé, alors que le tube témoin reste jaune.

- **Technique** : introduire dans le milieu quelques gouttes de la suspension bactérienne et les recouvrir d'une couche de l'huile de vaseline stérile (témoin et les autres tubes) ce qui n'autorise que les réactions anaérobies puis incuber 24h à 37°C.
- **Résultat** :
 - Si le témoin vire au jaune, continuer la lecture :
 - S'il y a coloration violette du tube de la réaction, la réaction est positive.
 - Si le milieu est jaune : réaction négative.
 - Si le témoin reste violet : la réaction est à refaire.

B. Galerie API 20 E

La galerie API 20 E est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries, comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données.

➤ Principe

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

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

➤ Technique :

✓ Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation
- Inoculation de la galerie : remplir les cupules avec la suspension bactérienne à identifier en évitant les bulles d'air.
- Incuber 24h à 37°C.

➤ Résultats et identification :

- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions (positives et négatives) (**Annexe 4**).
- Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 3) est indiquée pour chacun, additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombre correspondants aux tests positifs (0 pour les tests négatifs)
- On obtient un nombre de 7 chiffres qui sert de code d'identification. Ce code est comparé avec le tableau d'API 20 E (logiciel ou catalogue).

2.4.6.3 Antibiogramme

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, isolée d'un patient.

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. Le résultat numérique brut est accompagné d'une interprétation ou remplacé par elle: résistant, sensible, intermédiaire, ou (indéterminée) (**Scavizzi et al., 2000**).

Le but essentiel de l'antibiogramme est l'aide à la décision thérapeutique, il sert également :

- A la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne qui orientera ultérieurement l'antibiothérapie probabiliste.
- A la comparaison des phénotypes de résistances de souches présumées responsables d'infection nosocomiale.
- A l'identification bactérienne par la mise en évidence des résistances naturelles.

❖ Principe

L'antibiogramme standard ou les méthodes par diffusion sont plus utilisées par les laboratoires cliniques. Elles consistent à disposer des disques de papier buvard imprégnés de concentrations déterminées d'antibiotiques à la surface d'un milieu gélosé. Dès l'application des disques, l'antibiotique diffuse à partir du disque de manière uniforme dans la gélose. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture (**Soude, 2005**).

❖ Technique (**AARN, 2008, CA-SFM, 2015**).

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (inoculum à 0,5 Mac Farland de turbidité).
- L'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube pour le décharger.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche de haut en bas en stries serrées puis le passer autour du bord.
- Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Recharger l'écouvillon pour chaque boîte de Pétri.
- Application des disques d'antibiotiques : elle se fait à l'aide d'une pince stérile
- Antibiotiques à tester: Ampicilline (AMP), Amoxicilline+acide clavulanique (AMC), Ticarcilline (TIC), Céfazoline (CZ), Céfoxitine (FOX), Céfotaxime (CTX), Imipénème (IMP), Gentamicine (GM), Co-trimoxazole (SXT), Fosfomycine (FOS).
- Incubation : On laisse les boîtes 20 mn à la température ambiante pour permettre une pré-diffusion de l'antibiotique puis elles sont mises à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

❖ Lecture :

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I (**Annexe 5**)

2.4.7. Recherche de la β -lactamase à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries**2.4.7.1. Quand rechercher une BLSE**

La détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes (**CA-SFM, 2015**) :

- Céfotaxime (CTX ≤ 27 mm)
- Ceftazidime (CAZ ≤ 22 mm)
- Ceftriaxone (CRO ≤ 25 mm)
- Aztréonam (ATM ≤ 27 mm)

2.4.7.2 Méthodes de détection de BLSE**a. Test de synergie****➤ Technique**

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline+acide clavulanique (AMC 20/10 μ g) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G (Céfotaxime : CTX 30 μ g ou Ceftriaxone : CRO 30 μ g) puis incubé 18H à 35°C.

➤ Lecture

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

- ✓ AMC et CTX
- ✓ AMC et CAZ
- ✓ AMC et ATM.

b. Test de confirmation ou technique du double disque (AARN, 2008, CA-SFM, 2015)

Ce test devra être fait systématiquement devant :

- L'absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G.
- La présence d'une résistance aux molécules suivantes : Ampicilline, Ticarcilline, Céfazoline avec un diamètre <6mm, par contre l'AMC présente un diamètre d'inhibition.

➤ Technique

Ce test se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme.

- Appliquer les disques d'antibiotiques : Déposer un disque d'AMC et un disque de C₃G (CTX ou CRO) à une distance de 30mm (centre à centre).
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera déposée couvercle vers le haut.
- Après 1h d'incubation, ôter le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de CTX ou CRO (ou CAZ).
- Incuber la boîte 18 H à 35°C.

➤ Lecture

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est ≥ 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.

Exemple : diamètre de CTX = 16mm ; diamètre de CTX+AMC = 21mm donc souche BLSE(+).

The title is framed by two large, stylized brackets. The left bracket is on the left side, and the right bracket is on the right side. Both brackets are composed of two parallel lines: an inner line in a light grey color and an outer line in a vibrant pink color. The brackets are open at the top and bottom, enclosing the chapter title.

Chapitre II
Résultats et discussion

I- Résultats

Cette dernière partie comporte tous les résultats obtenus au cours des expériences au laboratoire ainsi que leurs interprétations.

1. Population étudiée

Selon le sexe	Femme	909
	Homme	418
Selon la provenance	Externes	1071
	Internes	256

Par rapport à la répartition selon le sexe, le sexe ratio est de 0.45 en faveur du sexe féminin.

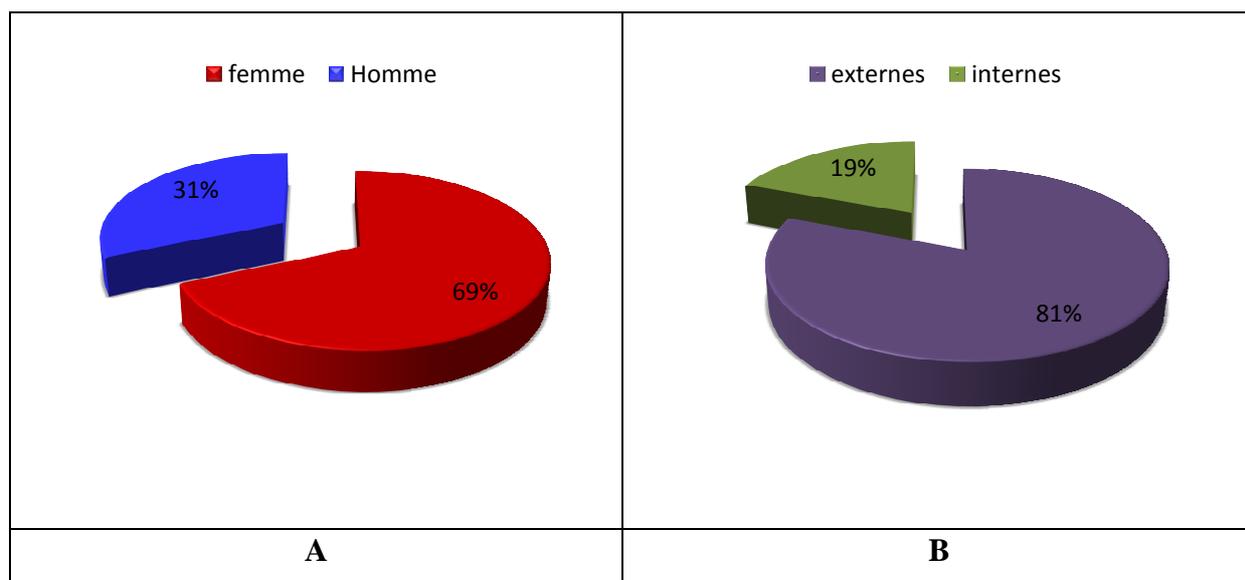


Figure 07: Répartition des patients en fonction du sexe (A) et de la provenance (B).

L'analyse statistique des chiffres cités plus haut a révélé que la majorité des prélèvements urinaires reçus au laboratoire appartiennent généralement à des femmes avec un taux de 69%. (Figure A)

Nous constatons également que la plupart des prélèvements proviennent de patients traitant à titre externe, avec un taux de 81% comparé à un faible taux pour les patients hospitalisés. (Figure B)

2. Fréquence de l'infection urinaire

➤ Cas positifs

Sur 1327 prélèvements étudiés, 141 présentent un ECBU positif. Cette positivité est synonyme de la présence d'une infection urinaire avec un taux de 11% sur le nombre total des prélèvements.

➤ Cas négatifs

1009 prélèvements se sont révélés négatifs avec un taux élevé représentant 76% du nombre total.

Cette forte fréquence des prélèvements négatifs peut être due à une mauvaise orientation du diagnostic clinique (infections virales, fongiques ou la présence de germes exigeants), comme il peut s'agir d'examen de contrôle que le médecin demande pour mieux établir son diagnostic.

➤ Prélèvements à refaire

177 prélèvements d'urine, soit 13% du nombre total sont destinés à être refaits, soit 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, bactériurie sans leucocyturie).

Les résultats de l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) sont représentés dans la figure ci-dessous :

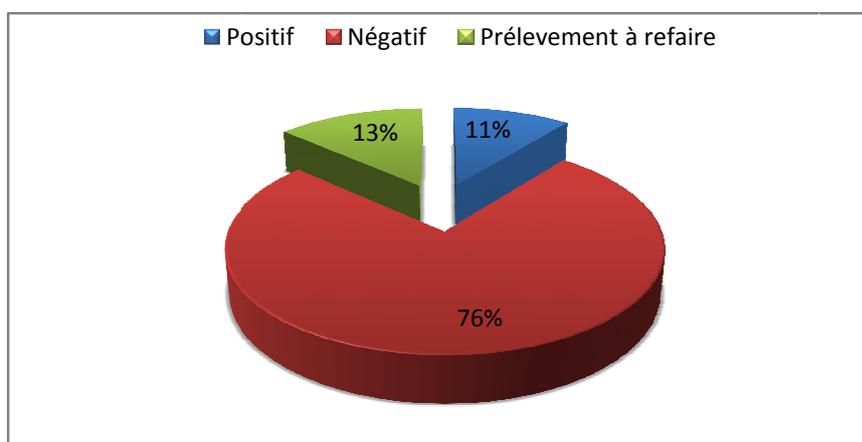


Figure 08: Répartition des cas positifs et négatifs ainsi que les prélèvements à refaire.

3. Répartition des infections urinaires selon le sexe

D'après les résultats obtenus durant les 3 mois de stage, on constate que le nombre des cas positifs est plus élevé chez les femmes avec un pourcentage de 74% en comparaison avec celui des hommes qui ne représente que 26%. D'après ces résultats, on conclut que le sexe féminin est le plus touché par les infections urinaires.

Les résultats obtenus sont représentés par la figure qui suit :

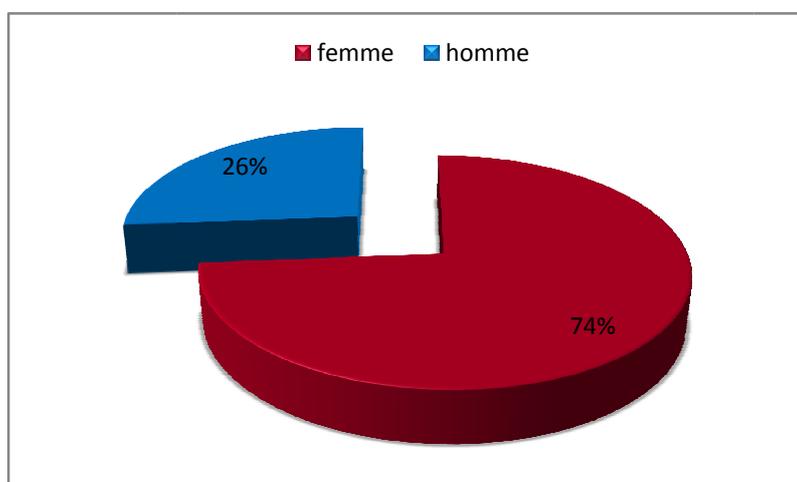


Figure 09: Répartition des cas positifs d'infection urinaire selon le sexe.

4. Résultats de l'analyse bactériologique

4.1 Coloration de Gram

Après l'isolement des souches par culture sur gélose nutritive et l'examen macroscopique des colonies permettant de mieux les identifier, nous avons réalisé une coloration de Gram afin de nous orienter sur leur morphologie, c'est-à-dire bacille ou cocci ainsi que leur type bactérien : Gram positif ou Gram négatif.

Les résultats de la coloration de Gram sont représentés par la figure suivante :

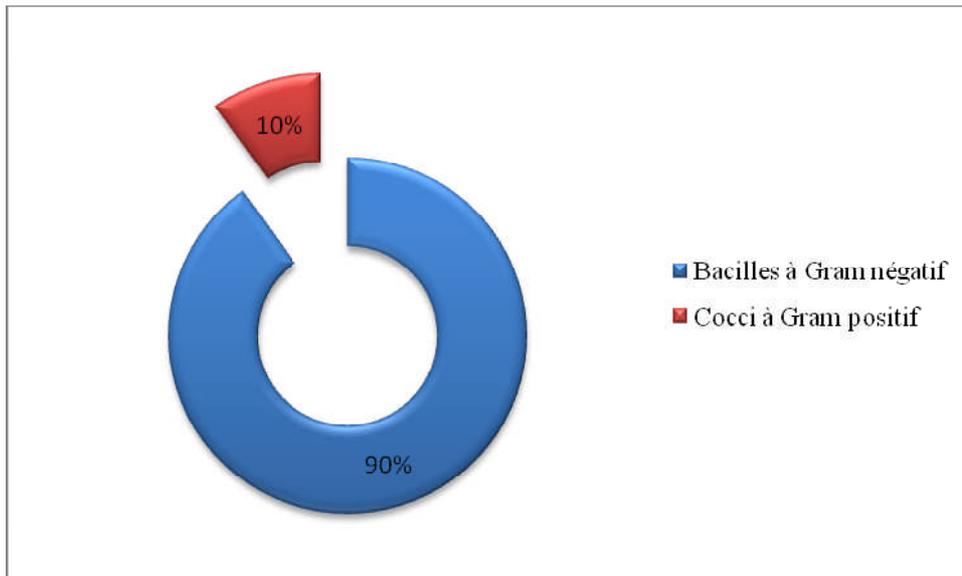


Figure 10: Répartition des groupes bactériens isolés.

A partir de ces résultats, on constate que les bacilles à Gram négatif sont les bactéries le plus souvent isolées dans les infections urinaires avec un taux de 90% comparé à un très faible taux de cocci à Gram positif (10%).

Un exemple d'une coloration de Gram vue au microscope optique est présenté dans la figure qui suit :

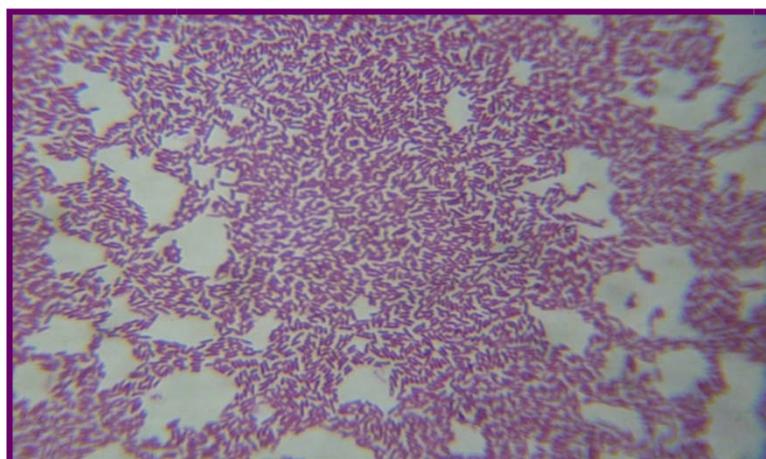


Figure 11: Résultat de la coloration de Gram de *Escherichia coli* (Gx100)

4.2 Répartition des différents germes isolés

Parmi les 141 prélèvements urinaires positifs, 122 appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* qui arrive en tête de liste avec un pourcentage de 86%, suivis par le genre *Streptococcus* (6%), puis *Pseudomonas sp.* (4%), *Enterococcus sp.* (3%) et enfin *Staphylococcus spp.* (1%). On en déduit donc que les entérobactéries sont les agents les plus incriminés dans les infections urinaires.

La figure ci-dessous montre les résultats obtenus de l'identification des différentes bactéries isolées :

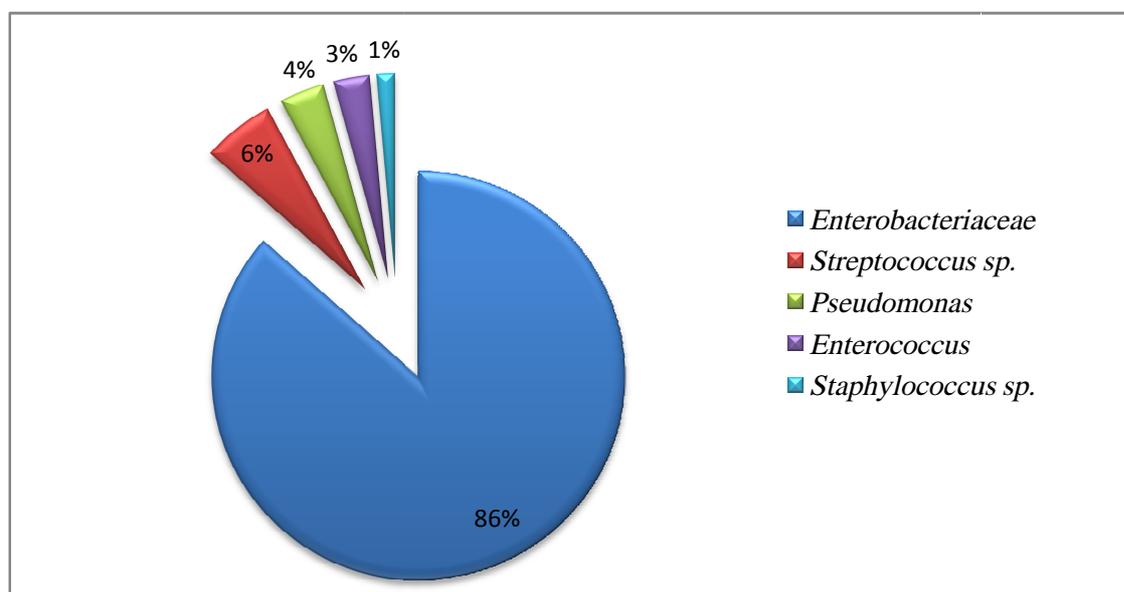


Figure 12: Répartition de l'ensemble des bactéries identifiées.

4.3 Identification

Après avoir déterminé le type bactérien, les tests biochimiques par la galerie classique ou la micro galerie Api 20E nous ont permis d'identifier le genre et l'espèce des différentes entérobactéries isolées.

Les figures ci-dessous montrent deux exemples de résultats obtenus par la galerie Api 20E :



Figure 13: *Escherichia coli* identifié par la galerie Api 20E (photo originale).



Figure 14: *Klebsiella spp.* Identifié par la galerie Api 20E (photo originale).

5. Répartition des espèces d'entérobactéries

Sur les 122 entérobactéries isolées, *Escherichia coli* représente le chef de fil avec 95 souches, soit un taux de 78%, témoin d'une prédominance de l'espèce. Viennent par la suite deux espèces du genre *Klebsiella* : *Klebsiella pneumoniae* avec 14 souches (12%), suivi par *Klebsiella oxytoca*, avec 4 souches (3%).

Les autres espèces montrent des fréquences moins importantes telles que *Enterobacter sp*, *Morganella morganii* et *Proteus mirabilis* avec un taux de 2% chacune, mais aussi, *Proteus vulgaris* avec une seule espèce (1%). (**Figure 15**)

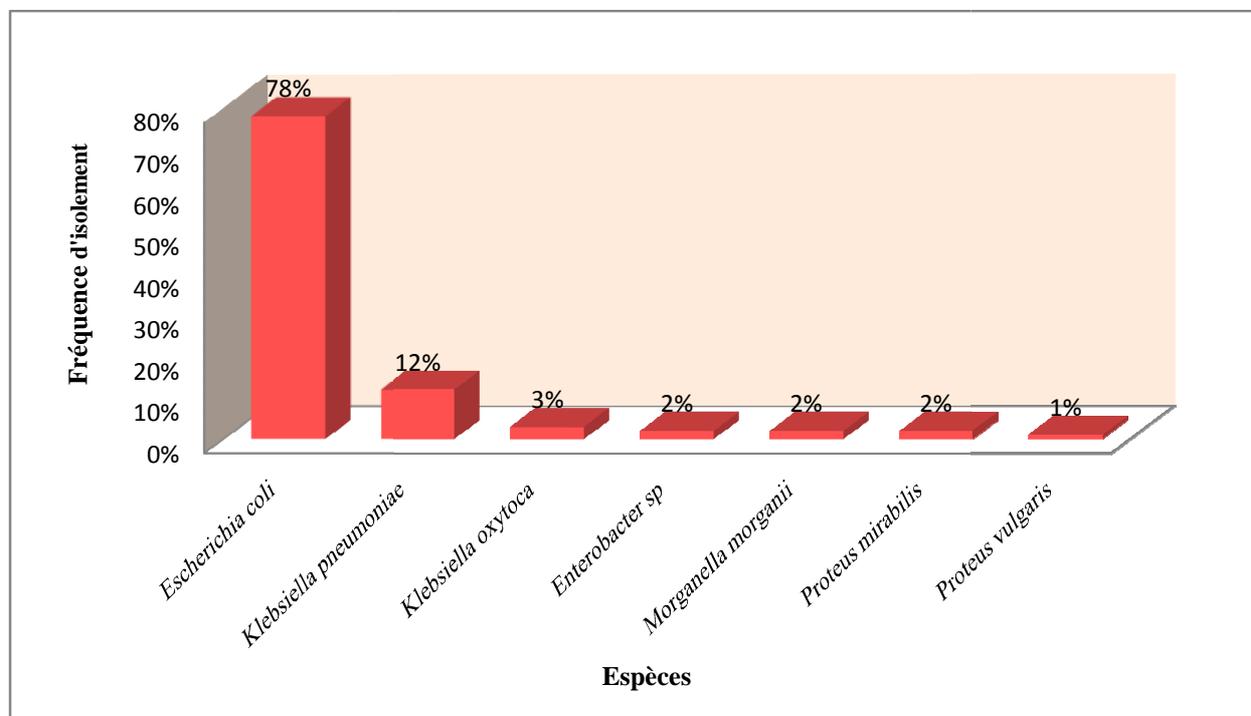


Figure 15 : Répartition de l'ensemble des espèces d'entérobactéries.

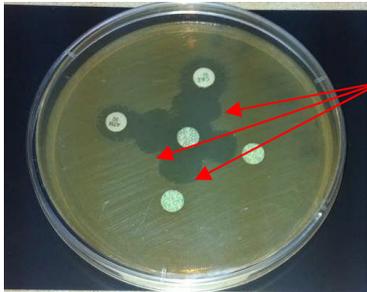
6. Antibiogramme

L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion des disques sur milieux Muller-Hinton et interprété après la mesure des diamètres d'inhibition selon les recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2015).

6.1 Résultats des deux tests de détection des BLSE

Quelques exemples des résultats obtenus des tests de synergie et des tests de confirmation par double disques sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau IV: Résultats des deux tests (synergie et double disque) (Photos originales).

	Quelques photos	Description
Test de synergie		Sy : (TCC, CAZ), (TCC,ATM) →BLSE+
	 <p>Image de synergie « Bouchon de champagne »</p>	Sy : (TCC, CAZ), (TCC, ATM)→BLSE+
Test double disque Exp1		Diamètre d'inhibition autour du disque changé > 5 par rapport à C3G => BLSE(+)
Test double disque Exp2		Diamètre d'inhibition autour du disque changé < 5 par rapport à C3G => BLSE(-)

6.2 Résistance des entérobactéries aux antibiotiques

Les résultats obtenus des antibiogrammes réalisés pendant les 3 mois de stage nous ont permis de constater qu'un bon nombre des souches présentaient une résistance assez importante, surtout vis-à-vis des β -lactamines.

La figure qui suit représente le taux des entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargi (BLSE) :

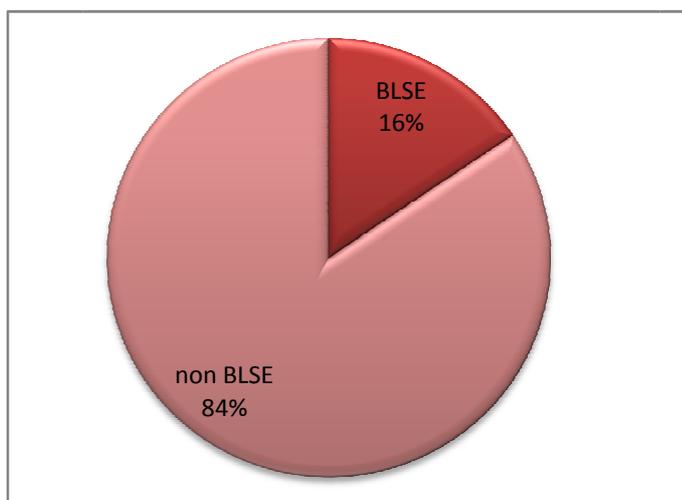


Figure 16: Répartition des entérobactéries selon leur résistance aux β -lactamines.

Parmi les 122 entérobactéries qui ont été isolées, 19 d'entre elles avaient la capacité de produire une β -lactamase à spectre élargi (BLSE), soit un taux de 16%. Les 103 autres bactéries (84%) ne possèdent pas cette enzyme. (**Figure 16**)

6.3 Distribution des souches productrices de BLSE :

La répartition des souches productrices de BLSE montre que la majorité d'entre elles appartiennent à l'espèce *E. coli* avec 15/19 souches, soit un taux de 79%. *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont distribuées de façon égale et représentent chacune un taux de 10,5%.

La figure ci-dessous illustre cette distribution:

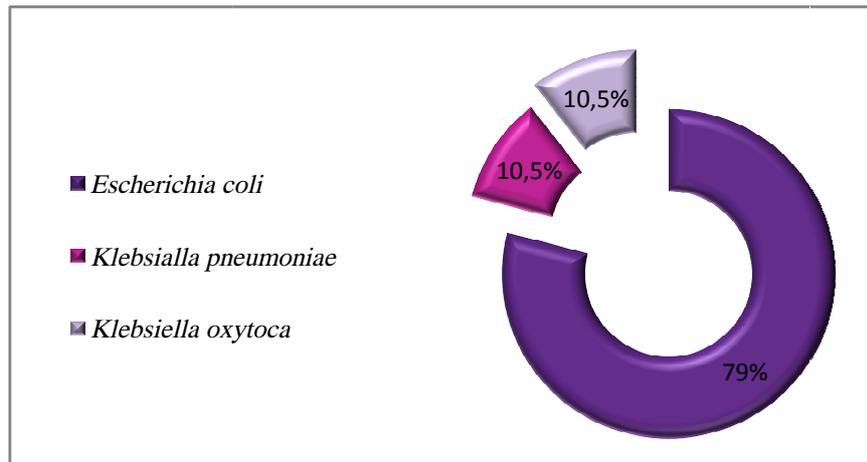


Figure 17: Répartition des souches BLSE identifiées.

6.4 Résistance des souches à BLSE

Les 19 BLSE identifiées comptaient 3 espèces : *Escherichia coli* avec 15 souches, *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* avec 2 souches chacune.

Comme il a déjà été mentionné, 10 antibiotiques ont été testés sur ces souches dont : 7 β -lactamines, 1 aminoside, 1 sulfamide et 1 fosfomycine.

Les résultats des antibiogrammes ont permis de dresser les profils de résistance de chaque espèce.

6.4.1 Résistance d' *Escherichia coli*

Après l'analyse des 15 profils de résistance des souches d' *E. coli*, nous avons noté une très forte résistance (100%) vis-à-vis de l'Ampicilline, l'Amoxicilline + acide Clavulanique, la Ticarcilline et la Céfazoline.

Un taux de résistance important a été obtenu pour la Céfotaxime représentant 86,67%.

Pour les aminosides et les sulfamides, de faibles taux de résistance de 46,67% ont été observés pour la Gentamicine et la Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (Co-Trimoxazole) respectivement.

Pour ce qui est de la Fosfomycine, un très faible pourcentage de résistance de 6,67% a été noté.

La résistance des souches d' *E. coli* a été représentée dans la figure ci-dessous :

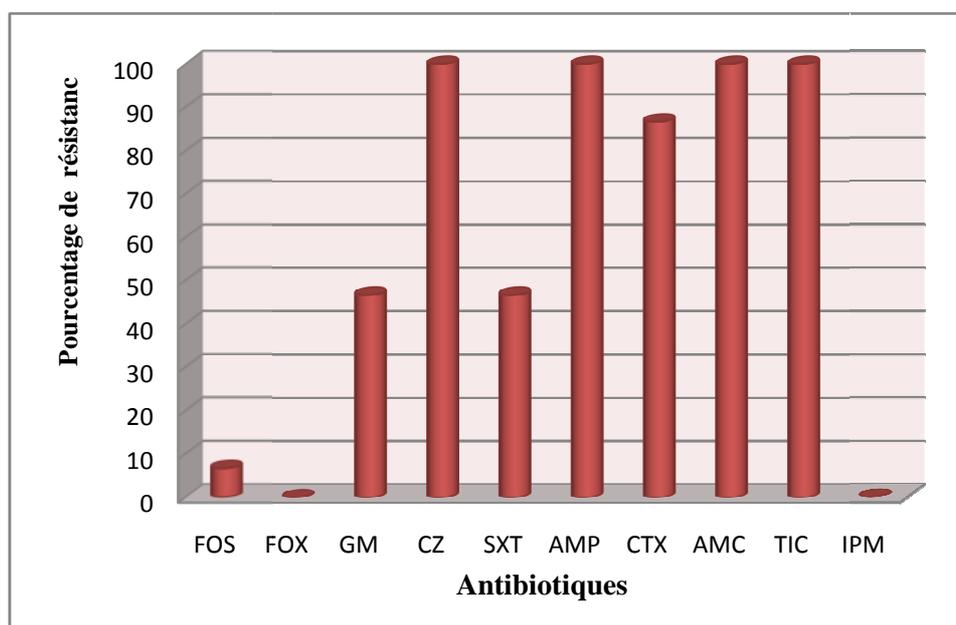


Figure 18: Pourcentage global d' *E. coli* résistant aux antibiotiques testés (n=15).

6.4.2 Résistance de *Klebsiella pneumoniae*

L'étude de la résistance des 2 souches de *Klebsiella pneumoniae* a révélé des taux très élevés vis-à-vis de l'Ampicilline (100%), l'Amoxicilline/acide Clavulanique (100%), la Céfotaxime (100%), la Triméthoprine/Sulfaméthoxazole (100%).

On note également une résistance totale (100%) envers la céfazoline et la ticarcilline.

L'effet de la Fosfomycine n'inhibe qu'à moitié l'activité des deux souches de *K. pneumoniae* qui présentent une résistance de 50% à cet antibiotique. En revanche la Gentamicine inhibe complètement l'activité des deux souches.

La résistance des souches de *K. pneumoniae* a été représentée dans la figure qui suit :

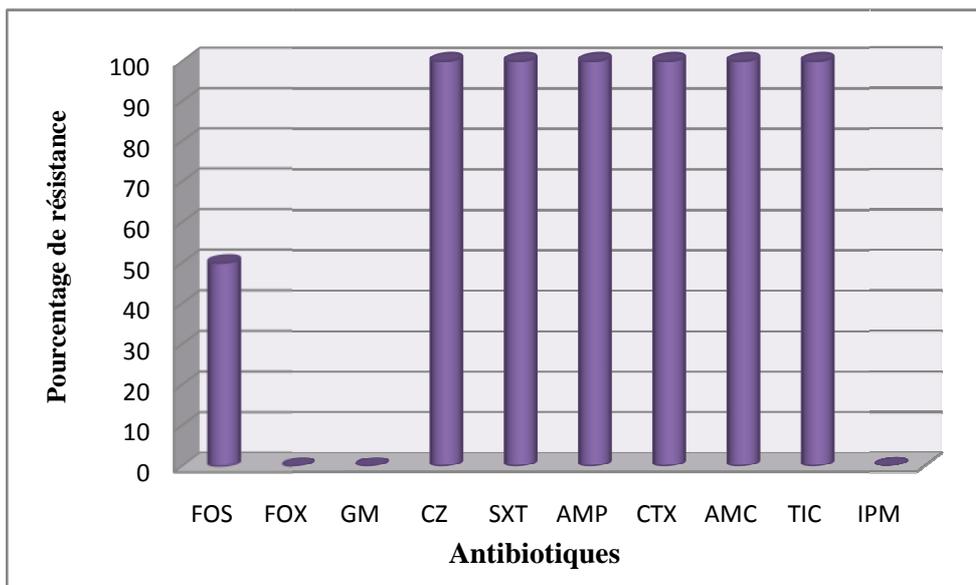


Figure 19: Pourcentage global de *Klebsiella pneumoniae* résistant aux antibiotiques testés (n=2).

6.4.3 Résistance de *Klebsiella oxytoca*

Les deux souches de *K. oxytoca* ont présenté une résistance totale (100%) vis-à-vis de 5/10 des antibiotiques testés dont : l'Ampicilline, l'Amoxicilline/acide Clavulanique, la Céfotaxime, la Ticarcilline ainsi que la Céfazoline.

L'effet antibiotique de la Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, de la Gentamicine et de la Fosfomycine n'agit qu'à moitié sur *K. oxytoca* qui résiste avec un taux de 50%.

La résistance des deux souches aux dix antibiotiques est représentée dans la figure suivante :

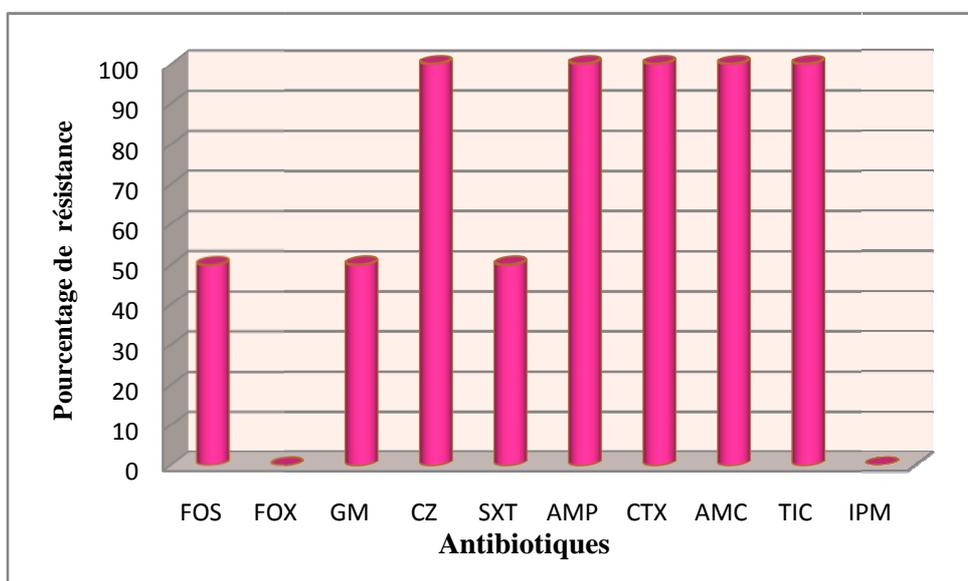


Figure 20: Pourcentage global de *Klebsiella oxytoca* résistant aux antibiotiques testés (n=2).

Les 3 espèces citées plus haut présentaient une résistance considérable contre la majorité des β -lactamines. D'autre part, elles manifestent toutes une sensibilité totale (100%) à la Céfoxitine et l'Imipénème qui restent les plus efficaces contre la totalité des souches.

7. Répartition des BLSE selon leur provenance

L'analyse des données obtenues sur la résistance des bactéries par rapport à leur provenance a montré que, sur les 108 entérobactéries isolées de patients externes, seules 12 étaient des BLSE (11%), comparées aux 96 autres qui ne sont pas capables de produire une β -lactamase (non BLSE), soit un taux de 89%.

Pour ce qui est des 14 entérobactéries isolées de patients internes, 7 d'entre elles étaient des BLSE avec une fréquence d'isolement de 50%, soit la moitié du nombre total.

La figure qui suit montre cette répartition :

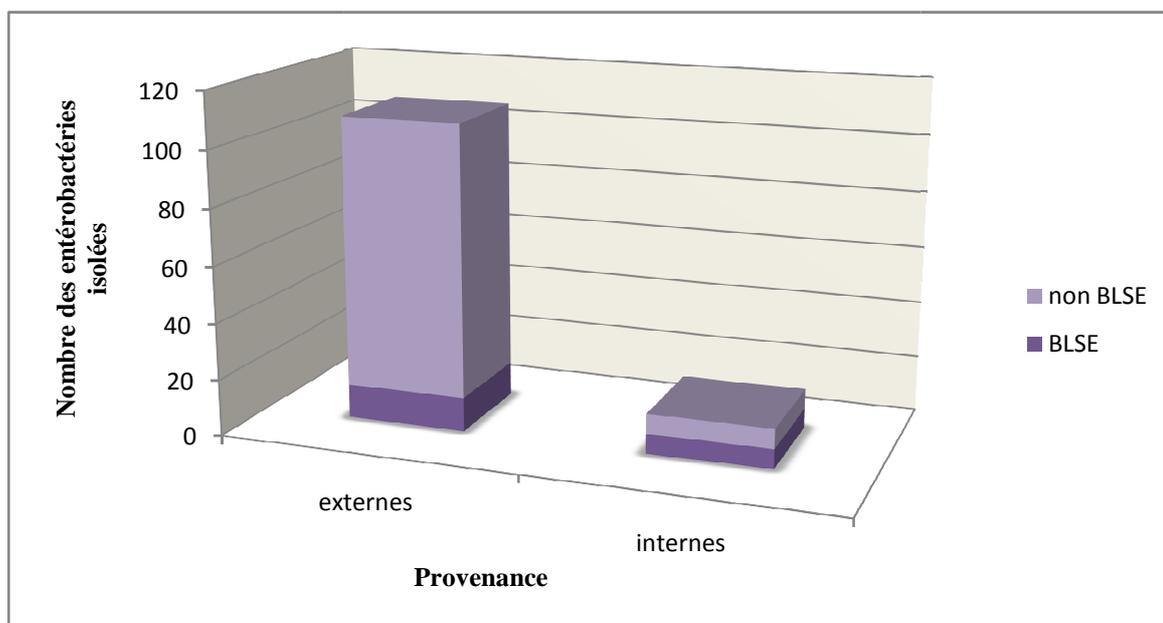


Figure 21: Répartition des BLSE par rapport à leur provenance.

D'après ces résultats, on conclut que la résistance aux β -lactamines est nettement plus élevée en milieu hospitalier, qu'en ville.

II- Discussion générale

Les entérobactéries constituent une très vaste famille qui présente près des trois quarts des isolements d'un laboratoire de bactériologie médicale (**Denis et al., 2007**)

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressées aux entérobactéries isolées à partir des urines afin d'identifier les différentes espèces incriminées dans les infections urinaires, d'évaluer leurs profils de résistance et de mettre en évidence celles productrices de β -lactamase à spectre élargi.

Durant la période concernée, 1327 prélèvements d'urines sont parvenus au laboratoire dont 81% étaient d'origine externe et les 19% restants appartenaient à des patients hospitalisés. Ce nombre élevé de prélèvements est témoin de la grande fréquence des infections urinaires aussi bien en milieu communautaire qu'hospitalier (**Ben Abdallah et al., 2005**).

Parmi les échantillons analysés, 141 répondaient aux critères d'infection urinaire, soit un taux de 11%. Ce taux est faible par rapport aux résultats trouvés par Medboua et Benbalagh, 2011 (59,53%) lors d'une étude réalisée au niveau du laboratoire central du CHU Beni-Messous d'Alger. Par contre, nos résultats obtenus sont en accord avec les résultats des études réalisées à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V (HMIMV) de rabat (11,6%), Garibaldi (12,2%) et à l'hôpital militaire Moulay-Ismail de Meknès (HMMIM) (16%). (**Haouar, 2010; Gauzit, 2002 ; Lahlou Amine, et al., 2010**). Les ECBU positifs sont expliqués par le fait que ces infections représentent le deuxième motif de consultation en pathologie infectieuse après les infections respiratoires et la première cause d'infections nosocomiales (**Anglaret et al., 2002**).

Dans la présente étude, la répartition des cas positifs en fonction du sexe révèle une prédominance féminine avec un taux de 74% contre 26% pour le sexe masculin. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par **Bellit et al, 2013** avec des valeurs identiques. Par ailleurs, il n'y avait pas de différence majeure dans la répartition des sexes (les femmes : 53,1%, les hommes 46,9%,) dans une étude réalisée à Rabat par **Ait Miloud, 2011**.

Ces résultats sont expliqués par la fréquence élevée des infections urinaires chez la femme et la jeune fille en raison d'un urètre court s'ouvrant à la vulve au voisinage du vagin et de l'anus (**Denis et al., 2007**) mais aussi par le fait que les glandes périurétrales n'ont pas d'activité antibactérienne contrairement au liquide prostatique (**Saighi et al., 2004**) et également, les rapports sexuels favorisant la progression des bactéries urétrales dans la vessie (**Flam, 2011**).

Concernant l'analyse bactériologique, les germes identifiés comptaient un nombre important de bacilles à Gram négatif (BGN) ayant un pourcentage de 90%. Les entérobactéries arrivent en tête de liste représentant 96% des BGN et 86% du nombre total des germes isolés. Ce résultat concorde avec celui obtenu par **Ben Abdallah et al.,** en 2005 dont le taux était de 91%.

La physiopathologie ascendante de l'infection urinaire à partir de la flore urétrale (colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive) associées à des facteurs spécifiques d'uropathogénicité (adhésines, uréase, ...) (**Frederic, 2008**) font des entérobactéries les principaux agents impliqués.

Les cocci Gram positif (CGP) peuvent aussi être en cause et représentent d'après nos résultats une fréquence de 10% : *Streptococcus sp.* (6%), *Enterococcus sp.* (3%) et *Staphylococcus spp* (1%). Ces nombres ne sont pas les mêmes dans l'étude menée par **Ait Miloud** en 2011 où les CGP avaient un taux de 20,3% dont, 13,8% étaient des Entérocoques et 6,5% des Staphylocoques. Ces mêmes travaux ont montré une fréquence des BGN non fermentants de 13,2 % comparée à un taux plus faible de 4% obtenu dans notre étude et représenté par *Pseudomonas sp.*

Dans l'ensemble des entérobactéries isolées, *Escherichia coli* domine nettement le profil épidémiologique avec une fréquence de 78%, suivie par *Klebsiella pneumoniae* (12%), *Klebsiella oxytoca* (3%), *Enterobacter sp*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* avec des taux d'isolement identiques (2%) et enfin *Proteus vulgaris* (1%) qui arrive en dernière position. Cette répartition est la même que celle rapportée par **Ben Abdallah et al.,** en 2005 en ce qui concerne *E.coli* (76%) et le genre *Klebsiella sp.* (10,5%) mais avec *Proteus mirabilis* en troisième position comparé à notre étude où il occupe la sixième place.

Diverses autres études (**Medboua, 2011 ; Sauna, 2011 ; Caracciolo et al., 2011**) sont en accord avec la prédominance d'*E. coli* dans les infections urinaires.

En effet, ce germe est responsable à lui seul de 60 à 80% des infections urinaires toutes formes cliniques confondues (**Caron , 1999**). Ceci est due aux adhésines qui lui permettent de se lier à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales (**Le minor et al., 1989**), mais aussi à d'autres facteurs de virulence variant d'une souche à une autre. *Klebsiella* et *Proteus* sécrètent une uréase qui alcalinise l'urine dont le pH, naturellement acide, empêche la prolifération des germes (**Sekhsokh, 2008**).

Le tableau V résume le profil épidémiologique des IU de différentes études marocaines et internationales. Les études ayant servi à la comparaison sont :

- Une enquête prospective concernant l'IU nosocomiale en milieu urologique en 2000 (**Mesrar , 2000**).
- L'étude de Péan concernant les résultats d'un réseau de laboratoire de ville en 2001. (**Lejeune, 2003**).
- L'étude faite au niveau de tous les services du CHU Ibn Sina de Rabat en 2005. **Chatir , 2005**).
- L'étude du CHU Ibn Sina de Rabat en 2008 (**Talibi, 2008**).
- L'étude de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de rabat en 2010 (**Haouar , 2010**).
- L'étude de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de rabat en 2011. (**ZOUHDI ; 2011**).

En se basant sur l'analyse des résultats fournis par ces études et leur comparaison aux nôtres, nous avons pu ressortir les points suivants :

- La plupart des IU, que leur origine soit communautaire ou nosocomiale, sont dues à des entérobactéries.
- Le taux d'*E. coli* que nous avons trouvé est proche de celui de l'étude de Péan concernant les résultats d'un réseau de laboratoire de ville, tandis que l'enquête prospective de 2000 a révélé un taux plus bas, soit 38,7%.

- *Klebsiella spp* vient au second rang des germes isolés dans notre étude de même qu'au niveau de l'HMIMV en 2010 avec un taux presque identique.
- Pour le genre *Proteus sp*, nos résultats concordent avec ceux obtenus par l'HMIMV 2010 (4,5%) mais aussi avec le CHU Ibn Sina en 2008 (4,6%).

Tableau V : Tableau comparatif entre la fréquence d'isolement dans notre étude et d'autres études sur les infections urinaires.

	Enquête prospective 2000	Péan 2001	CHU Ibn Sina 2005	CHU Ibn Sina 2008	HMIMV 2010	HMIMV 2011	La présente étude
<i>E. coli</i>	38,7%	74,7%	48,9%	45,8%	55,5%	35,4%	78%
<i>Klebsiella</i>	5,7%	3,3%	22,6%	22,2%	15,1%	19,3%	15%
<i>Proteus</i>	11,1%	7,3%	5,2%	4,6%	4,5%	6,4%	3%

Le comportement des bactéries pathogènes, que ça soit à l'hôpital ou en ville reflète la pression de sélection des antibiotiques car ces bactéries ont acquis des résistances touchant plusieurs classes d'ATB dont les β -lactamines. (Ruppé et al, 2009).

Cette résistance se traduit par la production des β -lactamases à spectre élargi (BLSE) qui constitue l'un des mécanismes les plus répandus chez les entérobactéries et dont l'incidence n'a pas cessé d'augmenter (Benjelloun et al, 2013).

Dans notre étude, l'incidence des souches d'entérobactéries productrices de BLSE était de 16%. Cette prévalence est proche de celle retrouvée au Maroc (23%) par Benjelloun et al., (2013). Parmi les espèces identifiées, on retrouve toujours à la première place, *E. coli* avec un pourcentage de 79%, suivie de *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* avec un même taux de 10,5% chacune.

Une distribution similaire a été obtenue pour les deux premières espèces dans deux hôpitaux belges avec *Escherichia coli*: 39,9% et 56,8% et *Klebsiella pneumoniae* : 9,4% et 8,9% respectivement en 2006 et 2008. (Glupczynski , 2008).

Par ailleurs, une étude SMART a rapporté des taux de 57,27% et 22,95% pour *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* respectivement (**Hawser et al, 2009**).

Les chiffres élevés de ces deux espèces illustrent leur facilité de dissémination et de production des résistances ainsi que leurs capacités à s'adapter à leur environnement et de se développer avec le risque de transmissibilité entre les malades, surtout en milieu hospitalier, au niveau duquel, le risque majeur est l'impasse thérapeutique (**Khayar , 2011**).

Les profils de résistance de chaque souche ont montré un taux de résistance important à la majorité des antibiotiques testés : CZ, AMP, AMC, TIC>CTX>SXT>FOS>GM>FOX, IPM.

Ces souches ont exprimé un niveau de résistance considérable pour la majorité des β -lactamines à l'exception de l'Imipénème et de la Céfoxitine auxquels toutes étaient sensibles à 100%.

Les taux de résistance étaient les suivants : Ampicilline, Amoxicilline/acide Clavulanique, Céfazoline et Ticarcilline (100%), Céfotaxime (95,56%). Les différents mécanismes de résistance aux β -lactamines peuvent s'exprimer seuls ou de façon concomitante agissant alors de façon synergique. Il peut s'agir d'une diminution d'affinité de la cible, d'une diminution de la perméabilité de la membrane, de l'expression d'une pompe d'efflux actif ou de la production d'enzymes de type lactamase (**Amadou Diallo, 2013**).

Afin d'acquérir un large spectre de résistance contre une multitude d'antibiotiques, certaines souches expriment différentes β -lactamases, chacune avec une spécificité qui leur est caractéristique (**Ambler, 1980**).

Dans la présente étude, il a été constaté que les bactéries isolées des différents prélèvements urinaires sont très résistantes vis-à-vis des pénicillines et des céphalosporines. En effet, nous avons observé une résistance totale (100%) à l'Amoxicilline/acide Clavulanique, contre un taux de 70% rapporté par **Khayar** en 2011. Par ailleurs, nous avons noté que *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* présentaient chacune un taux de résistance à l'Amoxicilline/acide Clavulanique de 100%, comparé à des taux moins élevés de 46,4% et 42% respectivement retrouvés en Tunisie par **Ben Adallah et al.**, entre 2002 et 2005 mais aussi, des taux de 72,96% et 89,43% ont été respectivement obtenus au Maroc par **Amhaouch et al** en 2013.

Nos résultats sont donc plus élevés que ceux trouvés en littérature ce qui illustre le caractère inquiétant de l'évolution de la résistance aux β -lactamines (**Khayar, 2011**).

La résistance de *E. coli* aux céphalosporines de 3^{ème} génération (représentées dans notre étude par la céfotaxime) était de 86,67%. Ce résultat est proche de celui obtenu au Maroc par **Amhaouch et al** en 2013 et dont le taux était de 92,53%.

L'usage immodéré de céphalosporines de 3^{ème} génération, apparues dans les années 80, a conduit à l'émergence de souches d'entérobactéries résistantes à ces molécules par production à haut niveau de céphalosporinases (**Arlet et al. 2003**) et ce, par diverses mutations génétiques à l'origine de ces enzymes touchant un plus large spectre d'antibiotiques (**Vora et al., 2010**).

En ce qui concerne les sulfamides, le taux de résistance des souches à la Co-trimoxazole était de 65,56% ce qui se rapproche des 94% obtenus au Maroc par **Benjelloun et al** en 2013. Pour *E. coli*, le taux de résistance à ce même antibiotique était de 46,67% ce qui est comparable aux 36% obtenu par **Zahlane et al** en 2010.

Pour ce qui est de la résistance des souches à la Fosfomycine et la Gentamicine, des taux voisins ont été obtenus représentant 35,56% et 32,2% respectivement. Dans l'étude établie par **Benjelloun**, le taux de résistance à la Gentamicine était de 47%, ce qui se rapproche de nos résultats. Parmi les espèces BLSE identifiées, seule *Klebsiella pneumoniae* a manifesté une sensibilité totale (100%) à la Gentamicine.

Enfin, la Céfoxitine et l'Imipénème (Carbapénème) restent les antibiotiques les plus efficaces contre toutes les souches productrices de bêta lactamase à spectre élargi, car ces bactéries n'hydrolysent pas les Céphamycines (Céfoxitine) ni les carbapénèmes (**Vora et al., 2010**).

En raison de la nature multirésistante des organismes producteurs de BLSE, les carbapénèmes constituent les antibiotiques de choix pour le traitement des infections par ces organismes (**Khayar, 2011**). Cependant, il faut noter que l'émergence de souches résistantes aux carbapénèmes est d'actualité et souligne l'importance qu'il y a, d'une part, à en contrôler l'évolution et celle de développer, d'autre part, de nouvelles molécules notamment actives sur des souches produisant des enzymes (carbapénémases) capables d'hydrolyser les carbapénèmes (**Jorgenson et al. 2011**).

Représentant 50% des entérobactéries à l'hôpital contre seulement 12% en ville, les BLSE sont par conséquent beaucoup plus nombreuses en milieu hospitalier. Ces bactéries constituent une préoccupation majeure en milieu hospitalier en raison de leur diffusion épidémique et de leur multirésistance aux antibiotiques (**Gniadkowski, M. 2001**).

En général, l'acquisition de ces bactéries concerne les patients gravement malades, suite à une hospitalisation prolongée et après exposition à des dispositifs invasifs (cathéters veineux, sondes urinaires ou tubes endotrachéals, ...). La malnutrition, l'hémodialyse, la nutrition parentérale totale, l'admission en réanimation ou l'hospitalisation préalable peuvent aussi expliquer la facilité d'acquisition de ces bactéries dans les hôpitaux (**Pena et al., 1997 ; Lautenbach et al., 2001**).

Il est évident à partir de ces résultats que l'émergence des entérobactéries multi-résistantes productrices de BLSE est désormais un fait établi dans les pays développés et en voie de développement (**Ruppé et al, 2009**).

La multi-résistance de ces bactéries dans les infections urinaires pose un réel problème thérapeutique incitant ainsi les cliniciens à une rationalisation de la prescription d'antibiotiques pour éviter la sélection des souches multi résistantes et à une politique stricte et sévère d'isolement pour éviter le manuportage (**Benjelloun et al, 2013**).

Conclusion :

La résistance bactérienne est un concept qui fait de plus en plus parler de lui depuis quelques années. Il connaît une augmentation constante du fait de l'utilisation en masse d'antibiotiques chez l'homme et chez l'animal. La dissémination des souches résistantes et l'apparition de nouveaux mécanismes de résistance notamment les β -lactamases, posent de sérieux problèmes au monde médical.

L'infection urinaire demeure partout dans le monde une pathologie très fréquente, c'est l'un des principaux motifs de consultation, d'explorations microbiologiques et de prescription des antibiotiques avec pour cette dernière, les conséquences sur le coût des soins et du développement de résistances bactériennes.

Aux termes de notre étude, nous avons pu dégager un certain nombre d'éléments :

- Le sexe féminin est le plus touché par les infections urinaires avec un pourcentage de 74%.
- Sur le total des ECBU positifs, les entérobactéries dominent avec un taux de 96% ce qui fait d'eux les principaux agents responsables d'infections urinaires, avec une certaine diversité des espèces notamment : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter sp.* *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*.
- L'écologie bactérienne n'a pas beaucoup changé ces dernières années avec *E. coli* qui continue d'occuper le premier rang des uropathogènes ce qui concorde avec nos résultats.
- La prévalence des entérobactéries productrices de BLSE est de 16% réparties comme suit : *Escherichia coli* (79%), *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* (10,5% chacune).
- Les BLSE isolées ont manifesté des taux alarmants de résistance vis-à-vis de la majorité des β -lactamines à l'exception de l'Imipénème et la Céfoxitine qui restent les antibiotiques les plus efficaces avec une sensibilité de 100%. Par ailleurs nous avons noté une résistance remarquable aux autres familles d'antibiotiques (Aminoside, Sulfamide et Fosfomycine) et *Klebsiella pneumoniae* demeure la seule espèce sensible à 100% à la Gentamicine.
- Le nombre des entérobactéries productrices de BLSE est plus élevé en milieu hospitalier.

L'avènement de ces mécanismes de résistances nous incite à insister de plus en plus sur la nécessité des mesures de préventions et l'utilisation plus rationnelle des antibiotiques lors des traitements probabilistes et d'éviter l'automédication.

De plus, il semble pertinent de mettre en place des équipes de gestion des antibiotiques et des spécialistes en maladies infectieuses qui travaillent conjointement avec le laboratoire et l'hygiène hospitalière afin d'aborder le problème dans une optique pluridisciplinaire.

Pour finir, il est urgent de renouveler l'arsenal thérapeutique contre les bactéries à Gram négatif et d'effectuer des études épidémiologiques pour évaluer de façon précise la distribution des β -lactamases qui pourrait émerger plus dans le futur.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Afssaps, juin 2008 Recommandations « Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte » : cystite aiguë simple, cystite.

Ait Miloud K., 2011. L'infection urinaire: expérience du laboratoire de microbiologie de l'hôpital des spécialités de rabat. Thèse n°39.

Alan Stevens, James Lowe., 1997. Anatomie pathologique générale et spéciale. Edition De Boeck, -traduction de la première édition anglaise par Claude Gompel,). p317

Allain P., 2008. Bêta-lactamines, pénicillines et céphalosporines. Les médicaments. 3ème édition.

Allain P., 2008. Bêta-lactamines, pénicillines et céphalosporines. Les médicaments. 3ème édition.

Amhaouch Z, I. Bergui, A. Taghouti, S. Figuigui, S. Benjelloun, G. Yahyaoui, M. Mahmoud, 2013. Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans les infections urinaires au CHU Hassan II– Fes.

Amhis W. 2004. « Le genre *Proteus*, épidémiologie, bactériologie, résistance aux antibiotiques et biologie moléculaire». Thèse de DESM.

Andre M H., Lortholary O., Bryskier A., 1998. Classification des antibiotiques : relation structure-activité. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), AKOS Encyclopédie Pratique de Médecine. 5-0015. P6

Anglaret Xavier et Mortier Emmanuel, 2002. Maladies infectieuses, 3ème édition, Edition ESTEM, édition MED-LINE. France.

Archambaud M, Clave D, 2008. DCEM 1.

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

Avril J. M., Dabernat H. et Monteil D. H. (2000). Bactériologie clinique. 3ème Ed.

Avril. J., 1988- Dictionnaire pratique de bactériologie clinique. Ellipses, Paris.

Bajjou Tk, Boumezzough A, Frikh M, Lemnouer A, Chadli M, Sekhsokh Y, El ouennass M., 2008. Les infections urinaires à *Escherichia coli* : prévalence et évolution de la résistance

aux antibiotiques. Laboratoire de Bactériologie, Hôpital militaire d'instruction Mohamed V, Rabat.

Barrial K., Scotet J., 2006. Classification raisonnée des β -lactamases chez les bacilles Gram négatif : Perspectives d'évolution ; DES Bactériologie. P :2.

Bellit Samira et Derdour Wissem, 2013. Isolement, identification et antibiorésistance des souches d'entérobactéries. Mémoire de fin d'étude dans le but de l'obtention du diplôme d'études supérieur de Biologie. Université Saad Dahleb Blida.

Ben Abdallah H. et al., 2005. Profils de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes isolées dans la région de monastir. *Rev Tun Infectiol, Avril 08, Vol 2, N°2, 5 – 8.* Tunisie.

Benjelloun S, Yahyaoui G, Tlemçani I, Mahmoud M., 2003. Epidémiologie des entérobactéries BLSE au service d'urologie du CHU Hassan II de Fés, CHU HASSAN II FES.

Berche P et al., 2003. Bactériologie systémique. Faculté de médecine Necker-Enfants malades. Paris. p34.

Bossert I.D., Young L.Y. (1986). Anaerobic oxidation of paracresol by a denitrifying bacteriology of the Coliform Group: their suitability as markers of microbial water bacterium. *Applied and environmental Microbiology.* **52** (5) : 1117-1122.

Bradford, P. A . 2001. EXTENDED-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, épidémiologie, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.*, 14: 933-951

Bruyère F., 2009. Prise en charge des infections urinaires non compliquées. Editions Elsevier Masson. France.

Bush K., Jacoby GA., Medeiros AA., 1995. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 39:1211-1233.

Caillon Jocelyne, 2007. Lecture et interprétation de l'antibiogramme.

Caron F., 1999. Bases pharmacologiques de l'antibiothérapie des infections urinaires (1re partie) : données expérimentales *in vitro.* *Antibiotiques.* 1 : 27-31.

CARON François et al, 2014. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte, la SPILF. France.

Cavallo J-D, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E. (2004). Bêtalactamines. EMC Maladies infectieuses. 1 : 129-202.

Chaabane A, Aouama K, Boughattas NA, Chakroun M. (2009). Allergie aux bétalactamines: mythe et réalités. Ed Elsevier Masson. Médecine et maladies infectieuses 39 :278-287.

Chander Y., Goyal S.M. et Gupta S.C. 2006. Antimicrobial resistance of *Providencia* spp. isolated from animal manure. The Veterinary Journal; 172: 188-191.

Chatir R ; L'Antibiorésistance des germes urinaires isolés d'infection urinaires chez l'adulte à l'Hôpital Ibn Sina de 2000 à 2004 ; thèse de pharmacie ; Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat ; Université Mohammed V ; **2005** ; 65 ; 47-85

Chou Y.Y., Chiu S-K., Lai H-C. et Chang F-Y. 2009. Tubo-ovarian abscess with *Morganella Morganii* bacteremia. J Microbiol Immunol Infect; 42: 357-359.

Christine Brooker. (2001). Le corps humain : étude, structure et fonction. 2ème édition, éditions De Boek & Larcier. France). p343-344

Claude M., 2000- Les examens de laboratoire. Collection Mémento, 10 ème

Cohen Robert et al., 2007. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires du nourrisson et de l'enfant. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (afssaps).

Darbas Hélène (Dr), Dr Hélène Marchandin1, Dr Nathalie Bourgeois 2 et Dr Sylvie 2010. Infections urinaires à l'hôpital Militaire; thèse de pharmacie ; Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat ; Université Mohammed V; N° 33

Degouvello. A., Meria. P., Ravely. V., 2004- Epreuves nationales classantes, urologie, infection de l'appareil urinaire. 2 ème édition, Paris

Delarras Camille, 2014. Pratique en microbiologie de laboratoire. Edition Lavoisier. Paris.

Delmas V., 2008. Anatomie générale. Edition Elsevier et Masson. France. p212, 215.

Denis F. et Ploy M.-C. 2007. Bactériologie médicale: techniques usuelles. Elsevier Masson. p 316-318.

Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E., Quentin R., 2007. Bactériologie médicale, techniques usuelles. Edition Elsevier Masson. France.

Diallo Alpha Amadou, 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 en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse.

Dioman Sira Alice, 2008. Epidemiologie des entérobactéries productrices de beta-lactamases à spectre élargi au chu du point g. Thèse pour obtenir le diplôme de docteur en pharmacie. Université de Bamako, Mali. p11.

Doublet B. 2004. Caractérisation des éléments génétiques mobiles du gène de résistance au florfenicol flor R chez *Salmonella enterica* et *Escherichia coli*. Thèse de Doctorat. Discipline des sciences de la vie et de la santé. Université de Tours.

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 pour obtenir le grade de docteur vétérinaire.

Dugardin Fabrice, Jacque Petit, Philippe GRISE, 2009. Lexique urologique, éditions John Libbey Eurotext. France.

Elaine N. Marieb, 1999. Anatomie et physiologie humaine. Editions De Boeck et Larcier. Cannada. P. Elsevier. Paris. 602 P

Emile Littré, 2008-2010. Dictionnaire de la langue française. Edition Thomas. France.

Encyclopédie Encarta, 2009.

Eric Chartier, 2002. Urologie., 4eme édition. Editions ESTEM, éditions MED-LINE. France.

Fain Anna et Patricia Fonseca, 2009. Diagnostic bactériologique des infections urinaires, ECBU, Infection cutanée à *Staphylococcus aureus*. UE 9 agents infectieux. France.

Fauchère J. L. et Avril J. L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. Paris. 368P.

Fauchère J.L et Avril J.L. 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. 15

Faure S. 2009. Transfert d'un gène de résistance aux B-lactamines bla.CTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie, Equipe d'accueil : unité Pharmacocinétique-Pharmacodynamie, AFSA Ecole Doctorale : Vie-Agro-Santé

Fisher J-F, Meroueh S-O et al. (2005). "Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity". *Chem Rev* 105 (2):395-424.

Flam T., (Pr), 1999. Urologie/Pr. Thierry Flam. France, 2000-2011.

Flam Thierry 1999. Urologie/Pr. Thierry Flam. France, 2000-2011, édition, Maloine, Paris

Fomba Modibo (2006). Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter* et des *Staphylococcus aureus* à coagulase négatif à l'hôpital du point G. thèse de doctorat pharmacie

Frasca D., Dahyot-Fizelier C. et Mimos O. 2008. La colistine en réanimation. *Réanimation*; 17: 251-258.

Frederic Janviera, Elvire Mbongo-Kamaa, Audrey Merensa, Jean-Didier Cavalloa ; Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto-bactériologique des urines revue francophone des laboratoires ; novembre 2008 - n°406.

Frère. 1995. The enigmatic catalytic mechanism of active-site serine β lactamases, *Biochem.pharmacol* 49 : 1171-1178

Gauzit R. Nathan C. Pourriat JL, 2002 ; Infections urinaires périopératoires ; *Encycl Méd Chir ; Anesth-Réanim* ; 36-426-A-10.

Glupczynski Youri, 2006-2008 Extended-Spectrum β -Lactamases. An Emerging

Gniadkowski, M. 2001. Evolution and epidemiology of extended spectrum beta-lactamases and ESBL producing micro-organisms. *Clin. Microbial infect.* 7: 557 -608.

Grall N., Andremont A. et Armand-Lefèvre L. (2011). Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse. *Journal des Anti-infectieux.* 13 : 87-102

Grosjean J., D. Clavé, M. Archambaud, C. Pasquier, 2009. Bactériologie et virologie pratique. Edition De Boeck. France. p129.

H. Rodriguez-Villalobos *, M.-J. Struelens, 2006. Article réanimation : Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur.

Haouar I ; Infections urinaires à hôpital Militaire; thèse de pharmacie ; Faculté de médecine et pharmacie de Rabat ; Université Mohammed V ; 2010 ; N° 33

Hart T. et Shears P., 1997. Atlas de poche de microbiologie. Edition Flammarion. Paris. p112.

Hart T. et Shears P., 2003. Atlas de poche de microbiologie. Edition Flammarion. Paris.

Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ, et al. Int J Antimicrob Agents. 2009 ;34(6):525-8.)

Hincky-Vitrat Virginie., 2008. Les céphalosporines de 3^{ième} et 4^{ième} générations. Service de Maladies infectieuses et Tropicales., CHU Grenoble. P. 14.

Jacob Géraldine., 2003. Implication des gènes de la régulation des céphalosporinases chromosomique d'*Enterobacter cloacae* dans le phénotype hyperproducteur de céphalosporinase. Thèse pour le doctorat en médecine. P. 21.

Jacoby G. A. et Munoz-Price L. S. (2005). The New β -Lactamases. *The new england journal of medicine.* 352:380-91

Joly B. et Reynaud A. (2002). Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris. p 3-182.

Jorgenson M.R., De Pestel D.D., Carvel P.R. Ceftaroline Fosamil: A Novel Broad-Spectrum Cephalosporin with Activity Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. The annals of Pharmacotherapy (2011) 45, 1384-1398.

KHAYAR Yassine, 2011. Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline-acide clavulanique, l'imipénème et l'ertapénème. Thèse n°99. Université Mohammed V, faculté de médecine et de pharmacie. Rabat.

Khoury S., 1985. Urologie. Pathologie infectieuse et parasitaire. Paris : Masson.

Kim J. H., Cho C. R., Um T. H. , Rhu J. Y., Kim E.S., Jeong J. W. et Lee H.R. 2007. *Morganella Morganii* Sepsis with Massive Hemolysis. J Korean Med Sci; 22: 1082-1084.

Kliebe, C ., B. A. Nies, J. F et R.M Meyer., Tolxdorff-Neutzling, and B, wiedmann. 1985. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectru cephalosporins . Antimicrob. Agents Chemother 28 :302-307.

Knothe, H .P . Shab, V., Kreméry , M et S. Mitsuhashi 1983; Transferable resistance to cefotaxime , cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumonia* and *Serratia marcescens*. Infection 11 : 315-317.

Kouta Karima, 2009. Infections urinaires chez les diabétiques adultes. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'études supérieures en biologie. Option microbiologie. Université de Ouargla. p12

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

Lahlou Amine I, et al., 2010. Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay Ismaïl de Meknès. Antibiotiques, doi:10.1016/j.antib.2008.10.004

Lakaye, B., Dubus, A., Lepage, S., Gros Lambert, S et J.M frère. 1999. When drug inactivation renders the target irrelevant to antibiotic resistance: a case story with β -lactamas. Mol. Microbiol .31:89-10.

Lavigne J.P. 2007. Effet des antibiotiques et mécanismes de résistance. cours de bactériologie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.

Le minor L, Veron M., 1989. Editors. bacteriologie Médicale. Paris : Flammarion.

Lebret Thierry, 1999. Le manuel du généraliste : néphrologie-urologie. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), édition Tsunami. France.

Leclerc H., Mossel D.A.A., Edberg S.C., Struijk C.B. (2001). Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. Editions Med Line.

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

Lee D. G. 2006. Genomic analysis reveals that *Pseudomonas aeruginosa* virulence in combinatorial. *Genome Biology*. 7. R90.

Lejeune B ; Les infections urinaires nosocomiales de l'adulte ; *Med Mal infect* ; **2003** ; 33 : 431-437.

Livermore, D.M. 1995. β -lactamase mediated resistance : past , present and future. *J infect. Dis .Soc.* 6: 75-83

Lozniewski A., Rabaud C. 2010. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiche conseil pour la prévention du risque infectieux. Centre de Coordination de lutte contre les infections Nosocomiales-Sud Est.

Madigan M. T., Martinko. J. M., Prker J. 1997. *Biology of microorganisms*. Prentice Hall International (Ed).

Mandel G.L, Bennett J.E, Dolin R, Mandell. (2009). *Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. Sixième édition, Elsevier, Churchill Livingstone éditeurs, USA

Matagne, A , Lamotte-Brasser J et J-M. Frère 1998. Catalytic properties of class A β -lactamases : efficiency and diversity . *Biochem J* ., 330 : 581-598.

Medboua Chafiaa, 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. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister. Université Abderrahmane MIRA. Béjaïa.

Mesrar A. Chabaa L. Tligui H. Zouhdi M. Benouda A. Hajjam Z. Sayerh O. Alaoui MA ; L'infection urinaire nosocomiale en milieu urologique : enquête prospective ; *BI* ; **2000** ; VI ; 45-55.

Meyryer. A., 1998- *Maladies rénales de l'adulte*. Edition Berti, Bailliére, Paris.

Meziani Meriem, 2012. Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomona*. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de magister, spécialité: biochimie, Option: technologie des explorations biochimiques. Université Mentouri Constantine. p4.

Michaux-Charachon, 2006-2007. Diagnostic et suivi des infections urinaires, le bon usage de l'examen cyto-bactériologique des urines. Mic néphrologie, item 93. Faculté de Montpellier – Nîmes.

Mirabaud M. I. 2003. Entérobactéries à β -lactamases à spectre élargi en pédiatrie en **1996**. La Faculté de Médecine de l'Université de Genève. Thèse de Doctorat en médecine médicale et vétérinaire : systématique bactérienne. Doins. Paris. p.109-187.

Moulin Maurice., Coquerel Antoine., 2002. Pharmacologie. Ed Masson.P : 1165.

Nauciel C. (2000). Bactériologie médicale. Ed ellipses. pp 56.

Nikaido, H. 1998. Multiple antibiotic resistance and efflux Curr .Opin .Microbiol.1:516-523

Normark, B. H et S. Normark. 2002. Evolution and spread of antibiotic resistance, J Intern. Med., 252:91-106.

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

Paterson, D.L et RA. Bonomo.2005. Extended-spectrum β -lactamases : a clinical update. Clinic. Microbiol. Rev.,18: 657-686

Péan Y., Goldstein F.W. et De Bels F. 2001. Évolution de la sensibilité et épidémiologie de la résistance des entérobactéries de ville au cours des enquêtes Vigil'Roc. Méd Mal Infect; 31: 609-21.

Perronne Christian., 1999. Maladies infectieuses. Edition Doin. Paris. P: 65.

Peyrou M. 2001. Antibioresistance des souches bactériennes d'origine équine : Etude bibliographique et exemple de l'hôpital vétérinaire de ST-Hyacinthe. Toulouse. Thèse de doctorat. p23

Pilet C., Bourdon J.L., Toma B., et al. (1979). Les entérobactéries : Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne. Doins. Paris. p.109-187.

Pilly E., 2008. Maladies infectieuses et tropicales. 21ème édition Ellipse. p30

Pilly. E, module 7, édition **2008**, item 93. Chapitre 42, 43, 124, 131

Pourriat Jan Louis., Martin claude., 2005. Principe de réanimation chirurgicale. Edition ARNETTE. P298.

Prescott, Harley, Klein, Willey, Sherwood et Woolverton. 2010. Microbiologie. 3^{ème} édition. p165

Rev Prat, 1993. Pyélonéphrites aiguës (monographie). 43 : 1057-1188.

Richard L. Drake, Wayne Vogl, Adam W.M. Mitchell, 2006. Gray's Anatomie for students. Editions Elsevier et Masson. France. p336 safety. *Annu. Rev. Microbiol.* **55** : 201-234.

Ruppé E, Hem S, Lath S, Gautier V, Ariey F, Sarthou JL, et al. CTX-M betalactamases in *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections, Cambodia. *Emerg Infect Dis* 2009;15(5):741–8.

Ruppé E, Hem S, Lath S, Gautier V, Ariey F, Sarthou JL, et al. CTX-M betalactamases in *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections, Cambodia. *Emerg Infect Dis* 2009;15(5):741–8.

Saighi D., Peyromaure M. et Debré D. (2004). Urologie. Ed Masson. Belgique.191P.

Sauna Djahida, 2011 Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Magister. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen.

Saye Tenoussé, 2012. Prévalence des entérobactéries productrices de béta-lactamases à spectre élargi au CHU du point G. thèse en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. Université des sciences, des techniques et de technologie de Bamako. Mali. p17.

Scavizzi M, Labia R, Petitjean O, Elbhar A. 2000. L'antibiogramme de l'analyse des populations bactériennes à la thérapeutique. *J Antibiotiques* **2**: 122-134

Schaechter M, Ph. D., G. Medoff, M.D., B.I. Eisenstein, M.D. 1999. Microbiologie et pathologie infectieuse. 2ème édition, édition De Boeck et Larcier. France. p182-183.

Sekhsoxh 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.

Smaoui S. 2010. Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Université de Toulouse. France. **251p**.

Soude S.G.A.A. 2005. Bactéries isolées des hémocultures au laboratoire du centre national hospitalier et universitaire Hubert Koutoukou Maga De Cotonou. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur en pharmacie diplôme d'état. République du Mali, université de Bamako, faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Stahl J.-P. 2005. La tigécycline, un nouvel antibiotique à l'étude chez l'homme. *Médecine et maladies infectieuses*; **35**: 62–67.

Stahl. J. P., Mercredi 27 novembre **2002**. Conférence de Consensus co-organisée par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et l'Association Française d'Urologie (AFU) Infections urinaires nosocomiales de l'adulte. Institut Pasteur, Paris.

Talibi Y ; Infections urinaires à hôpital Ibn Sina ; thèse de pharmacie ; Faculté de médecine et pharmacie de Rabat ; Université Mohammed V ; **2008** ; N° 99.

Toure Fatoumata., 2004. Résistance aux bêta-lactamines de souches bactérienne isolées d'hémoculture au CHU A.LE DANTEC. Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie. P: 29-40

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

Tulkens P., Spinewine A., 2002. Pharmacologie spéciale-Les aminoglycosides. Pharmacologie et pharmacothérapie des anti-infectieux. Université catholique de Louvain.

Van Bambeke F., Spiniwine A., Verbist L. et Tulkens P.M. 2002. Les antibiotiques moins souvent et mieux: le rôle du pharmacien. Société scientifiques des pharmaciens francophones (SSPF). p 1-7.

Virginie H. V. 2010. Les céphalosporines de 3ème et 4ème génération. Service de maladies infectieuses et tropicales (CHU) Grenoble

Walsh, T.R., Toleman, M.A., Poirel L et P. Nordman .2005. Metallo-β-lactamase :the quiet before the storm ? Clin. Microbiol.Rev .18:306-325

Witte, W. 1997. Impact of antibiotic use in animal feeding on resistance of bacterial pathogens in humans. Ciba Found Symp _207: 61-71; discussion 71-5.

Wolff M, Joly-Guillou ML, Pajot O. (2009). Les carbapénèmes. Comparative review of carbapenemes. Reanimation 18: S199-S208.

Worldwide Threat. Laboratoire de bactériologie – Cliniques Universitaires UCL de Mont-Godinne. Université Catholique de Louvain. Belgium.

www.lahey.org/studies/inc_webt.html

Yala D., Merad A. S., Mohamed D., Ouar Korich M. N. 2001. Classification et mode d'action des antibiotiques. Medecine de Maghreb. N° 91. : 91: 13-14.

Z. Amhaouch., I. Bergui, S. Figuigui, . A. Taghouti, s. Benjelloun, g. Yahyaoui, . M. Mahmoud. Profil de resistance des enterobacteries urinaires au chu Hassan II – Fes. CHU Hassan II – Fes.

Zahar J.R., Grall I., Kouatchet A.T., 2010. Carbapénèmes: nouvelles molécules, différentes indications ?. La lettre de l'infectiologue. 25 (4) : 142-146

Zahlane K, A. Labaali, T. Bouzekraoui, N. Soraa, L. Chabaa, 2010. Laboratoire des analyses biologiques, Hopital Ibn Tofail, La résistance des souches de *Eescherichia coli* uropathogènes isolées chez l'adulte, CHU Marrakech, CHU Marrakech.

Zhanel George G., Johanson Christel., Embil John M., Noreddin Ayman., Daryl J., 2005. Ertapenem: review of a new carbapenem. Expert Review of Anti-Infective Therapy. 3(1): 23-39.

ZOUHDI M; infections urinaires à l'hôpital militaire; thèse de pharmacie ; Faculté de médecine et pharmacie de Rabat ; Université Mohammed V ; 2011 ; N°39

Annexes

Annexe 2

Matériel non biologique

1- Instruments et appareillage :

- Pots stériles pour les prélèvements ;
- Boîtes de Pétri ;
- Lames et lamelles ;
- Pipettes Pasteur ;
- Micropipette ;
- Anse de platine ;
- Cellules de Malassez ;
- Tubes à essai stériles ;
- Pince métallique ;
- Embouts en plastique ;
- Centrifugeur ;
- Réfrigérateur à 4 C° ;
- Etuve réglée à 37C° ;
- Microscope optique ;
- Bec bunsen ;
- Distributeur des disques d'antibiotiques.

2- Milieux de culture :

- Gélose nutritive ;
- Gélose lactosée au pourpre de bromocrésol (BCP) ;
- Milieu de Mueller-Hinton ;
- Milieu de Chapman ;
- Milieu Hektoén ;
- Mannitol – mobilité ;
- Milieu T.S.I (Triple Sugar Iron) ;
- Milieu au citrate de simmons ;
- Eau peptonée exempt d'indole ;
- Milieu Urée – Tryptophane (Urée-Indole) ;
- Milieu LDC (lysine Décarboxylase) ;
- Milieu ODC (Ornithine-Décarboxylase) ;
- Milieu ADH (Arginine Dihydrolase) ;
- Milieu Clark et Lubs.

3- Réactifs et solutions :

- Eau physiologie stérile ;
- Eau oxygénée à 10 volumes ;
- Violet de gentiane ;
- Lugol ;
- Alcool 90 C° ;
- Fuschine basique ;
- Huile à immersion ;
- Huile de vaseline ;
- Bandelettes réactives: labstrix ;
- Réactifs de kovacs ;
- Bleu de méthylène ;
- Réactif de voges-proskaner ;
- Disques d'ONPG (Ortho-Nitro-Phénol-Galactosidase) ;
- Disque imprégnés du réactif de dérivé N-diméthyles du paraphvnlène diamine

Annexe 3

Tableau VI : Dénombrement des hématies et leucocytes par ml d'urines et sur BU.

Nombre par bande	Nombre par ml	Rendu habituel
Absence	$<10^4$	Absence
1	10^4	Rares
2	2.10^4	
3	3.10^4	
4	4.10^4	
5	5.10^4	
6	6.10^4	Quelques
7	7.10^4	
8	8.10^4	
9	9.10^4	
10	10^5	Assez nombreux
11 à 20	2.10^5	
21 à 30	3.10^5	Nombreux
31 à 40	4.10^5	
41 à 50	5.10^5	
>50	5.10^5	Très nombreux

Annexe 4

Tableau VII : Lecture de la galerie miniaturisée API 20E

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISEE API 20E					
Microtube	Substrat	Caractère recherche	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β-galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Porchloruro de For		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	Lecture indirecte (Attendra 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d'α-naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ /N ₂	Nitrites (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Annexe 5

Tableau VIII : Résultats de l'antibiogramme des souches d'entérobactéries productrices de BLSE.

	FOS	FOX	TIC	AMP	AMC	CZ	CTX	IPM	SXT	GM
Kp 166	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S
Kp 169	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S
E 175	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S
E 215	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S
E 350	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S
E 242	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R
E 303	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R
E306	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S
E 321	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S
E 330	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S
Ko 350	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
E 367	S	S	R	R	R	I	R	S	R	R
E 98	S	S	R	R	R	R	S	S	R	S
E 322	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R
Ko 210	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R
E 389	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R
E 49	S	S	R	R	R	R	S	S	R	S
E 87	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R
E 370	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R

- ✓ E : *Escherichia coli*
- ✓ Kp : : *K. pneumonia*
- ✓ Ko : *K. oxytoca*
- ✓ R : résistante ; S : sensible ; I : intermédiaire
- ✓ Antibiotiques : Ampicilline (AMP), Amoxicilline+acide clavulanique (AMC), Ticarcilline (TIC), Céfazoline (CZ), Céfoxitine (FOX), (Céfotaxime (CTX), Imipénèm (IMP), Gentamicine (GM), Cotrimoxazole (SXT), Fosfomycine (FOS).

Annexe 6

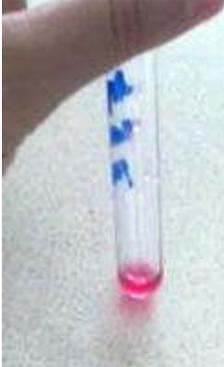
Tableau IX : Caractères biochimiques de quelques espèces d'entérobactéries.

Les entérobactéries														
Caractères biochimiques														
	Lac	Gluc	Man	Suc	Cit	Dulc	Ind	uréase	mobilité	H ₂ S	MIR ^(a)	VP ^(a)	PDA ^(b)	NO ₃
<i>Escherichia coli</i>	+	+g ^(b)	+	+/-	-	+/-	+	-	+	-	+	-	-	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+g	+	+	+	+/-	+	+	-	-	-	+	-	+
<i>K. pneumoniae</i>	+	+g	+	+	+	+/-	-	+	-	-	-	+	-	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+g	+	+	+	-	-	+/-	+	-	-	+	-	+
<i>E. aerogenes</i>	+	+g	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	+	+	-	-	-	+/-	-	-	-	+	-	-	+
<i>S. sonnei</i>	+/-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
<i>Salmonella typhi</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>S. paratyphi A</i>	-	+g	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+
<i>S. paratyphi B</i>	-	?	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+
<i>S. typhimurium</i>	-	+g	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+g	+	+/-	+	+/-	-	+/-	+	+	+	-	-	+
<i>Edwardsiella tarda</i>	-	+g	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+
<i>Serratia marcescens</i>	-	+/-g	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+
<i>Haifa alvei</i>	-	+g	+	-	-	-	-	-	+	+	+/-	+	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+g	-	+/-	+/-	-	-	+	+	+	+	+/-	+	+
<i>P. vulgaris</i>	-	+g	-	+	+/-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
<i>Providencia stuartii</i>	-	+g	-	+/-	+	-	+	+/-	+	-	+	-	+	+
<i>Morganella morganii</i>	-	+g	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	+	+	+	-	-	+/-	+/-	-	-	+	-	-	+
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+
<i>Y. pestis</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+

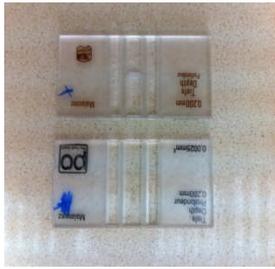
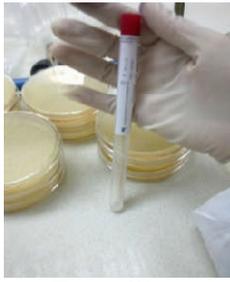
(a) Production de gaz. (b) Rouge de méthyle. (c) Voges-Proskauer. (d) Phénylalanine déaminase

Annexe 07 : milieux et tests d'identification de la galerie biochimique classique.

<p>Test d'ONPG</p>	<p>-Réaction positive : coloration jaune (ONPG +) -Réaction négative : pas de coloration (ONPG -)</p> 
<p>T.S.I (Three-Sugar-Iron)</p>	<p>-Culot jaune : fermentation du glucose -Pente jaune : fermentation du lactose et saccharose. -Présence d'une ou plusieurs bulles de gaz ou décollement de la gélose: production de gaz. -Noircissement du milieu : production de H₂S.</p> 
<p>Citrate de Simmons</p>	<p>-Réaction positive: virage du milieu du vert au bleu. -Réaction négative: le milieu reste vert</p> 

<p>Urée-Indole (milieu Fergusson)</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">  <div style="display: flex; gap: 10px;">   </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <p>Uréase positif</p> <p>Indole positif</p> </div>
<p>Clark et Lubs</p>	<p>-Test 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-.</p> <p>-Test VP : ajouter quelques gouttes de réactifs VP1 et VP2 et agiter : s'il y a apparition d'une couleur brune rouge la réaction est VP+ (présence d'acétylméthylcarbinol), sinon la réaction est VP</p> <div style="text-align: right;">  </div>
<p>Métabolisme des acides aminés</p>	<p>-Si le témoin vire au jaune, continuer la lecture :</p> <ul style="list-style-type: none"> -S'il y a coloration violette du tube de la réaction, la réaction est positive. -Si le milieu est jaune : réaction négative. <p>-Si le témoin reste violet : la réaction est à refaire.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;">   </div>

Annexe 8 : Appareillage, Verreries et Réactifs

 <p>Flacon stérile</p>	 <p>Poche urinaire pour nourrissons</p>	 <p>Bandelette urinaire</p>	 <p>Eau physiologique</p>
 <p>cellules de Malassez</p>	 <p>Microscope optique</p>	 <p>Pied à coulisse</p>	 <p>Micropipette</p>
 <p>Etuve d'incubation</p>	 <p>Huile de vaseline</p>	 <p>Disques d'antibiotique</p>	 <p>Ecouvillon</p>
 <p>Fushine Alcool Lugol Violet de Gentiane</p> <p>INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE FUSHINE BASIFIQUE FÉRICQUEE</p> <p>IDEAL LAB LUGOL 200ML. LOT : 302 FAB : 02/14</p> <p>INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE VIOLET DE GENTIANE</p>			
<p>Réactifs de la coloration de Gram</p>			