

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

Profil De Résistance Des Entérobactéries Uro-pathogènes

Préparé par :

- BOULAICHE Chaima
- GUENDOZUZ Nacira
- SIARI Khadidja

Devant le jury :

Présidente :	HADEF Saoussen	MAA	CUM
Examinatrice :	BENSERRADJ Ouafa	MCA	CUM
Promotrice :	BAKLI Sabrina	MCB	CUM

Année Universitaire : 2022/2023



Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu de nous avoir donné la détermination et la capacité d'accomplir cet humble travail. Remercions Dieu de nous avoir donné la force de penser et d'écrire et d'inspirer avec foi pour atteindre ce rêve.

Merci Mme BAKLI Sabrina pour tous vos conseils tout au long de notre cheminement de ce travail. Merci pour votre patience et votre dévouement avec nous. Tous nos remerciement et respect.

On souhaite aussi remercier tous les membres de jury présents aujourd'hui à commencer par le Mme HADEF Saoussen qui nous a fait l'honneur de présider notre jury et Mme BENSERRADJ Ouafa d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier aussi le Dr LEDRA Zineb le directeur de laboratoire d'analyses médicales d'hôpital Maghlaoui Mila qui nous a accepté dans son laboratoire et pour la liberté qu'il nous a laissé prendre.

Nous remercions toute l'équipe de laboratoire en particulier : Halima, Rayan, Naaima.





Dédicaces

Merci « ALLAH » de nous avoir aidées, données la volonté, le courage et d'éclairer notre chemin.

Je voudrais prendre un moment pour exprimer ma profonde gratitude à ma mère, mon père, mes frères et mes amis qui ont été une source infinie de soutien, d'amour et de réconfort dans ma vie. Votre présence et votre affection ont illuminé mon parcours et m'ont aidé à devenir la personne que je suis aujourd'hui. Vos sacrifices, vos encouragements et vos conseils précieux resteront à jamais gravés dans mon cœur.

À ma mère bien-aimée, tu étais mon pilier, ma confidente et mon modèle de force et de compassion. Ta gentillesse sans faille, ton amour inconditionnel et ta sagesse infinie continueront à m'inspirer chaque jour. Je te dédie mes réalisations et mes succès.

À mon père cher, tu étais mon héros, mon mentor et mon rocher. Ta détermination, ta générosité et ton soutien inébranlable m'ont donné le courage de persévérer face aux défis de la vie. Je te dédie mes accomplissements et mes victoires, sachant que tu veilles sur moi avec fierté.

À mes frères, vous avez été mes compagnons de jeu, mes complices et mes confidentes. Nos souvenirs partagés et nos liens indéfectibles resteront à jamais gravés dans ma mémoire. Je vous dédie mes réussites et mes moments de bonheur, sachant que notre fraternité transcende le temps et l'espace ; Bilal, Amira, Selssabil, Alaa , M^{ed} Zakaria , Aridje et A.Yassin .

À mes neveux bien-aimés, Amani et Merouan. Vous avez été le symbole de mon bonheur depuis le premier jour où vous êtes entrés dans ma vie

À mes chers amis, vous avez été mes rayons de soleil dans les jours sombres, mes épaules sur lesquelles pleurer et mes partenaires dans les rires et les aventures. Votre amitié précieuse et votre soutien indéfectible ont enrichi ma vie d'une manière indescriptible. Je vous dédie ma reconnaissance et ma gratitude éternelle, sachant que notre amitié est un trésor qui ne s'estompera jamais.

Que ces remerciements et cette dédicace témoignent de l'amour et de la gratitude profonds que je ressens envers ma mère, mon père, mes frères et mes amis. Leur impact sur ma vie est inestimable, et je les porte toujours dans mon cœur avec tendresse et affection.



Chaima



Dédicaces

Avant tous je remercie Dieu, Allah tout puissant, de m'avoir donnée la force, le courage

Et la volonté pour la réalisation de ce modeste travail.

Je dédie mon succès à ma chère mère la lumière de mes yeux, la dame de mon cœur, la source de tendresse, qui m'a donné son amour, sa tendresse et le courage, qui m'a accompagné et soutenu à chaque étape de ma vie. Tous les mots n'expriment pas ta gentillesse envers moi

A mon cher père, celui dont la tête est devenue grise pour prendre soin de nous, à celui dont je porte le nom avec fierté, c'est l'homme qui a travaillé dur pour moi et m'a élevé et encouragé à terminer le chemine.

A l'âme du cœur, compagnons de route, mes frères, mon soutien sur qui je compte à chaque instant, à ceux qui m'ont accompagné à chaque instant de ma vie à : « Abdel Halim, Nadjib et Marouane », merci de vous tenir à mes côtés. Vous avez tous merci et appréciation, si ce n'était pas pour vous je ne serais pas ici.

A mes oncles surtout oncle « Tayab » Allah yrhimo, Aux fils et filles des cousins, frères que ma mère n'a pas mis au monde, mes tantes et oncle. A tout ma famille, la famille « Siari » qui m'a aidée et soutenue durant mon parcours scolaire.

A mes compagnons mes notes qui étaient avec moi et nous avons partagé ce travail avec tout le sérieux et l'amour « Nassira et Chaima » et je n'oublier ceux qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours académique, mes amis. A tous mes camarades de classe Master 2 Biochimie Appliquée et surtout Groupe 4.



Khadija



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, qui n'a pas pu être accompli que grâce à Dieu,

À ma très chère mère qui m'a donné la vie, Source d'amour et de tendresse qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, qui m'a toujours soutenue et encouragé dans les moments difficiles pour arriver à ce niveau. À mon père qui m'a soutenu, veillé tout au long de ma vie à m'encourager

*À mes chères sœurs **Laila, radia, Rihana et Massouda** pour toute l'affection qu'elles m'ont donnée et pour leurs précieux encouragement,*

*À mes chers frères **Fatah, ramden, Khaled, Hocine et Salah alidine.***

*À mes chers amies **Miyada, fadia, hala, donia et houda.***

*Pour mes très chères amies particulièrement : **Chaïma et Khadidja.***

Aussi beaucoup d'autres personnes que je n'ai pas eu l'occasion de les mentionner. Je vous dis merci.



Nassira

Liste des figures

Figure 1 : Docteur Alexander Fleming	3
Figure 2 : Ordre chronologique de l'apparition des différentes d'antibiotique en usage clinique	4
Figure 3 : Schéma présente les principales cibles bactériennes des antibiotiques et les mécanismes majeurs de résistance bactérienne aux antibiotiques	10
Figure 4 : Structure générale des b-lactamines	13
Figure 5 : Structure des noyaux : B-lactame, oxpéname, Péname, Céphéme)	14
Figure 6 : Structure générale développée des pénicillines	15
Figure 7 : Structure chimique Pénicilline G.....	16
Figure 8 : Structure général des céphalosporines.....	17
Figure 9 : Structures des Carbapénèmes A : structure générale.....	18
Figure 10 : Structure de Monobactame	18
Figure 11 : structure de la paroi des bactéries Gram positives (G+).....	20
Figure 12 : Structure de paroi des bactéries Gram négatives (G-).....	20
Figure 13 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques (ABr : gène de résistance à un antibiotique)	23
Figure 14 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries Gram négatives.....	24
Figure 15 : Sturcture générale des familles des pompes à efflux (ABC: L'ATP-binding cassette, MFS: The major facilitator super family, SMR: Family the small multidrug résistance, family, ,RND: The family resistance-nodulation-cell division, MATE: The multidrug a.....	26
Figure 16 : Mécanisme d'hydrolyse d'une B-lactamine par B-lactamase	27
Figure 17 : Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae	31
Figure 18 : Appareil urinaire de l'homme et de femme.....	44
Figure 19 : Prélèvements urinaires.....	51
Figure 20 : Utilisation des bandelettes réactives.....	53
Figure 21 : Lame de Malassez	54
Figure 22 : a) Hématimètre comporte 25 chambres ; b) Quadrillage de l'hématimètre	54
Figure 23 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'ECBU	56
Figure 24 : Etapes de la coloration de Gram.....	58
Figure 25 : Différence entre Gram positive (violet) et Gram négative (rose).....	59

Figure 26 : Coulage des boîtes de Pétri.....	60
Figure 27 : Ensemencement d'une urine par la méthode de l'anse calibrée	61
Figure 28 : Mise en culture (ensemencement)	61
Figure 29 : Antibiogramme	65
Figure 30 : Lecture de l'antibiogramme.....	66
Figure 31 : Lecture du résultat d'un examen par bandelette urinaire.....	68
Figure 32 : Aspects macroscopiques des urines.....	69
Figure 33 : Aspect de quelques cristaux sous microscope optique rencontrés chez quelques patients (microscope optique objectif X40)	72
Figure 34 : Pourcentage des différents éléments de l'examen cytologique	72
Figure 35 : Aspect des colonies sur la gélose nutritive et hektoen	74
Figure 36 : Observation microscopique à l'état frais (objectif X40).....	75
Figure 37 : Observation microscopique après coloration de Gram.....	76
Figure 38 : Antibiogramme par méthode de diffusion en gélose MH	78
Figure 39 : Répartition des échantillons selon les résultats d'ECBU	79
Figure 40 : Répartition des infections urinaires selon le sexe.....	81
Figure 41 : Répartition des germes responsables de IU	82
Figure 42 : Matériel utilisés	96
Figure 43 : Milieux de cultures	97

Liste des tableaux

Tableau 1 : Antibiotiques bactériostatiques et bactéricides	6
Tableau 2 : Principaux antibiotique et leur classification	8
Tableau 3 : Mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques.....	12
Tableau 4 : Caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment rencontrés	32
Tableau 5 : Principaux groupes d'Entérobactéries	35
Tableau 6 : Caractères biochimiques de quelques Entérobactéries	39
Tableau 7 : Principales espèces bactériennes responsables de l'infection urinaire.	48
Tableau 8 : Distribution d'échantillons étudié selon le sexe et le service	49
Tableau 9 : Le temps de lectures des paramètres analysés par les bandelettes urinaires.....	52
Tableau 10 : Galerie biochimique utilisée	63
Tableau 11 : Antibiotiques utilisés	65
Tableau 12 : Tableau des valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition pour les entérobactéries.....	67
Tableau 13 : Résultat de l'examen cytologique	71
Tableau 14 : Caractères macroscopiques des colonies des souches d'entérobactéries	74
Tableau 15 : Identification bactérienne des souches isolées à partir des urines	77
Tableau 16 : Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées	78
Tableau 17 : Caractères biochimiques de quelques Entérobactéries	98
Tableau 18 : Les valeurs critiques des zones d'inhibitions pour Entérobactéries	Erreur !
Signet non défini.	
Tableau 19 : Résistance naturelles chez les entérobactéries	Erreur ! Signet non défini.

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Ak : Amikacine

APA-6 : L'acide 6-amino-pénicilinique

ARN : Acide ribonucléique

ATM : Aztréonam

AUG : Amoxicilline acide clavulanique

C : Chloramphénicol

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

CAZ : Ceftazidime

C1G : Céphalosporine de 1ère génération

C2G : Céphalosporine de 2ème génération

C3G : Céphalosporine de 3ème génération

CIP : Ciprofloxacine

CN : Céfotakcin

CMI : Concentration minimal inhibitrice

CMB : Concentration minimal bactéricide

CTX : Céfotaxime

ECBU : Examen cyto bactériologique des urines.

EDTA : acide Ethylène Diamine Tétra Acétique.

G- : Gram négatif

G+ : Gram positif

GN : gélose nutritive

NA : acide nalidixique

PC : Pénicilline

PLP : Protéine de liaison aux pénicillines

STX ; Triméthoprime +sulfamide

TC : Tétracycline

TSI : triple sucre

UFC: *Unité Formant Colonie*

Table des matières

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

Partie Bibliographique

Chapitre I : Antibiotiques

1. Antibiotiques	3
1. Origine des antibiotiques	3
2. Définition d'antibiotique	4
3. Type des antibiotiques	4
3.1. Antibiotiques naturels	5
3.2. Antibiotiques synthétiques.....	5
4. Types d'activités des antibiotiques.....	5
4.1. Antibiotique bactériostatique	5
4.2. Antibiotique bactéricide :.....	5
5. CMI, CMB et catégorisation clinique (S, I, R) des souches bactériennes.....	6
5.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI)	6
5.2. Concentration minimale bactéricide (CMB).....	6
6. Principaux antibiotiques et leur classification	7
6.1. Origine	7
6.2. Mode d'action	7
6.3. Spectre d'activité	7
6.4. Structure chimique	8
7. Mode d'action des antibiotiques	10
7.1. Toxicité sélective	11
7.2. Inhibition compétitive	12

Chapitre II : Béta-lactamine et la résistance bactérienne

2. Béta-lactamine et résistance bactérienne.....	13
1. Définition bêta-lactamine	13
2. Propriétés des bêta-lactamine (Moaitti, 1987).....	13
2.1. Propriétés communes	13
2.2. Propriétés Spécifiques.....	14
3. Classification	14

3.1. Premier groupe : Pénames.....	15
3.2. Deuxième groupe : Céphèmes	16
3.3. Troisième groupe : Pénèmes	17
3.4. Quatrième groupe : Monobactames Aztrénam	18
4. Mode d'action de bêta-lactamine	19
5. Résistance bactériennes	21
5.1. Définition et origine	21
5.2. Types de résistance bactérienne	21
5.3. Mécanismes de résistance bactérienne.....	24

Chapitre III : Entérobactéries et Infections Urinaires

3. Entérobactéries	30
1. Historique	30
2. Définition.....	30
3. Habitat	32
4. Taxonomie	33
4.1. Classification traditionnelle	33
4.2. Classification phylogénétique	34
5. Caractères morphologiques	35
5.1. Morphologie cellulaire.....	35
5.2. Mobilité.....	35
5.3. Capsules	36
5.4. Spores.....	36
5.5. Fermentation	36
6. Caractères cultureux	36
6.1. Croissance sur gélose ordinaire.....	36
6.2. Croissance sur milieux sélectifs	36
6.3. Fermentation des sucres	37
6.4. Réaction oxydase	37
6.5. Croissance en anaérobie.....	37
7. Caractères antigéniques	37
8. Caractères biochimiques.....	38
9. Pouvoir pathogène	40

10. Etudes de quelques genres et espèce particulier	40
10.1. <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	40
10.2. <i>Salmonella</i>	41
10.3. <i>Klebsiella</i>	41
10.4. <i>Proteus- Providencia</i>	42
11. Infections urinaires	42
11.1. Définition des infections urinaires	43
11.2. Appareil urinaire	43
11.3. Origine des infections urinaires	45
11.4. Mécanisme de l'infection urinaire	45
11.5. Germes causant les infections urinaires	47

Matériel et Méthodes

4. Matériel et Méthodes.....	49
1. Prélèvement des urines	49
2. Transport et conservation	50
3. Méthodes	50
3.1. Examen macroscopique (direct)	50
3.2. Chimie des urines (bandelette urinaire)	51
4. Examen cyto bactériologique des urines	53
4.1. Examen cytologique.....	53
4.2. Examen quantitatif « Dénombrement »	53
4.3. Etude bactériologique	56

Résultats et Discussions

5. Résultats et Discussions	68
1. Etude biochimique (chimie des urines)	68
2. Examen macroscopique des urines	69
3. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU).....	69
3.1. Examen cytologique.....	70
4. Identification des souche isolées	73
4.1. Observation macroscopique	73
4.2. Observation microscopique.....	75
4.3. Antibiogramme	77

5. Résultats épidémiologiques	79
5.1. Répartition des échantillons selon les résultats d'ECBU.....	79
5.2. Répartition des infections urinaires selon le sexe	80
5.3. Répartition selon les germes responsables des infections urinaires.....	81
6. Discussion générale	83
Conclusion.....	85
Références bibliographiques	
Annexe	
<i>Résumé</i>	
<i>Abstract</i>	
ملخص	

Introduction

Introduction

Les entérobactéries sont une famille de bactéries à Gram négatif appartenant à la classe des Gammaproteobacteria (**Tortora et al., 2019**). Ce groupe bactérien comprend plusieurs genres importants tels que *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Citrobacter* (**Tortora et al., 2019 ; Broaddus et al., 2020**). Les entérobactéries sont souvent présentes dans l'intestin des humains et des animaux, mais elles peuvent également être trouvées dans l'environnement. Leur capacité à coloniser divers habitats, y compris les organismes vivants, en fait un groupe bactérien d'une grande importance médicale, vétérinaire et environnementale (**Tortora et al., 2019**).

Les entérobactéries ont une grande importance clinique en raison de leur implication dans un large éventail d'infections chez l'homme. Elles sont responsables d'infections allant des infections urinaires aux infections gastro-intestinales et respiratoires (**Manger et al., 2009**). Certaines espèces, telles que *Escherichia coli*, sont des agents pathogènes importants associés à des infections graves, notamment les infections des voies urinaires et les infections à *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC) (**Broaddus et al., 2020**). D'autres entérobactéries, telles que *Salmonella*, sont souvent associées à des infections d'origine alimentaire (**Tortora et al., 2019**).

Les infections du tractus urinaire (ITU) sont un véritable problème de santé publique à l'échelle mondiale en raison de leur fréquence et du coût élevé de leur prise en charge. Cette pathologie regroupe un ensemble d'entité clinique dont le dénominateur commun est l'envahissement de l'arbre urinaire par des germes pathogènes. Ces infections viennent en deuxième position après les infections respiratoires comme motifs de consultation et de prescription d'antibiotique. Elles sont la cause des infections nosocomiales les plus fréquentes avec approximativement 1 million de nouveaux cas acquis en milieu hospitalier chaque année (**Sy et al., 2021**).

Les entérobactéries représentent l'une des principales familles de bacille responsable d'ITU dont l'espèce *Escherichia coli* représente à elle seule 60-85% des germes isolés. Depuis la fin des années 1990, l'épidémiologie des ITU a évolué avec l'émergence au sein des entérobactéries d'une résistance aux bêta-lactamines par le biais d'une sécrétion de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE). Cette résistance bactérienne fait craindre des situations

épidémio-endémiques et des impasses thérapeutiques. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'en 2050 cette résistance sera la première cause de mortalité dans le monde avec dix millions de cas contre 8,2 millions pour le cancer (**Sy et al., 2021**). Cette résistance limite l'efficacité des traitements antibiotiques couramment utilisés et pose des défis cliniques importants (**pitout et al., 2008**). Cette situation suscite beaucoup de réflexions qui doivent aboutir à des mesures de prévention afin de contrôler les répercussions sur la santé publique (**Romli et al., 2011**).

Le but de cette étude menée au niveau de l'hôpital Maghlaoui de Mila sur une durée de 15 jours est d'une part d'isoler et d'identifier des bactéries de la famille des entérobactéries à partir de différents prélèvements pathologiques (urines), provenant de patients hospitalisés et externes et d'une part d'évaluer le profil de résistance aux antibiotiques les plus communément utilisés.

La première partie du manuscrit a été consacrée à une synthèse bibliographique portant sur des généralités sur les entérobactéries, les antibiotiques et l'antibiorésistance et les déterminants génétiques de la résistance aux antibiotiques. La seconde partie, organisée en deux chapitres : matériel et méthode et résultats et discussions. Enfin, la conclusion.

Partie Bibliographique

Chapitre I : Antibiotiques

1. Antibiotiques

1. Origine des antibiotiques

Les antibiotiques (ATB) sont une des grandes découvertes du XXe siècle. Historiquement, c'est un élève de l'Ecole du service de santé militaire de Lyon, Ernest Duchense, qui a, au cours de son travail de thèse en 1897 décrit pour la première fois les propriétés anti-infectieuses d'un bouillon de culture de moisissures du genre *Penicillium* (Demore, 2018), la pénicilline est le premier antibiotique à usage clinique, est produite par *Penicillium notatum* et sa découverte fortuite résulte de l'observation par Fleming (Figure 01) du pouvoir inhibiteur d'une colonie de ce champignon vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* lors d'une contamination accidentelle d'une boîte de Pétri (Bambeke, 2008).

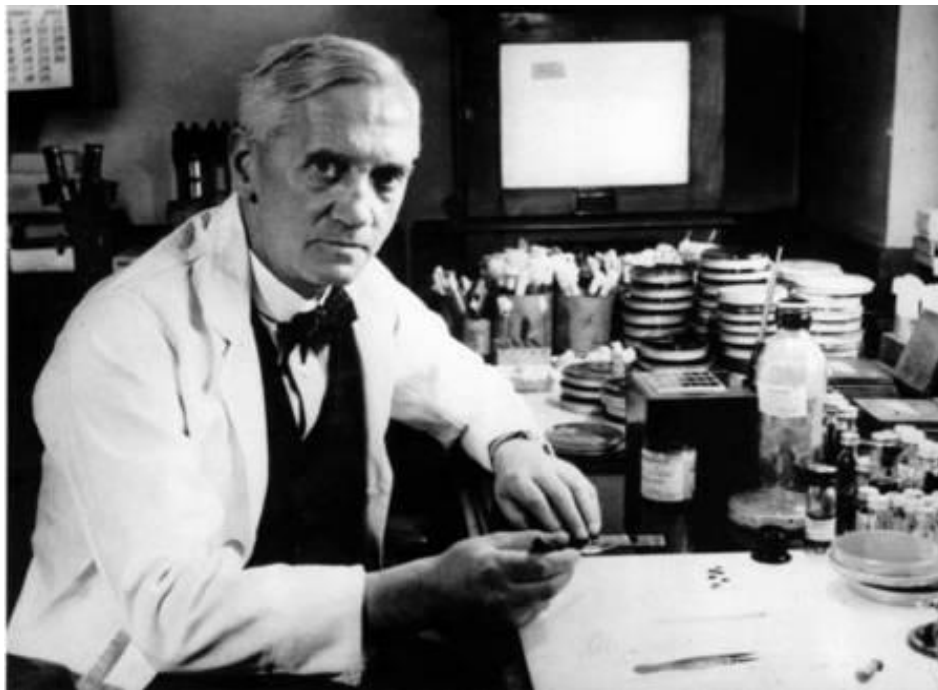


Figure 1 : Docteur Alexander Fleming (Frogerais, 2015)

1940 à 2005, la découverte et à la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques dont la chronologie est présentée dans la figure suivante (Figure 02) (Bedrane *et al.*, 2020) :

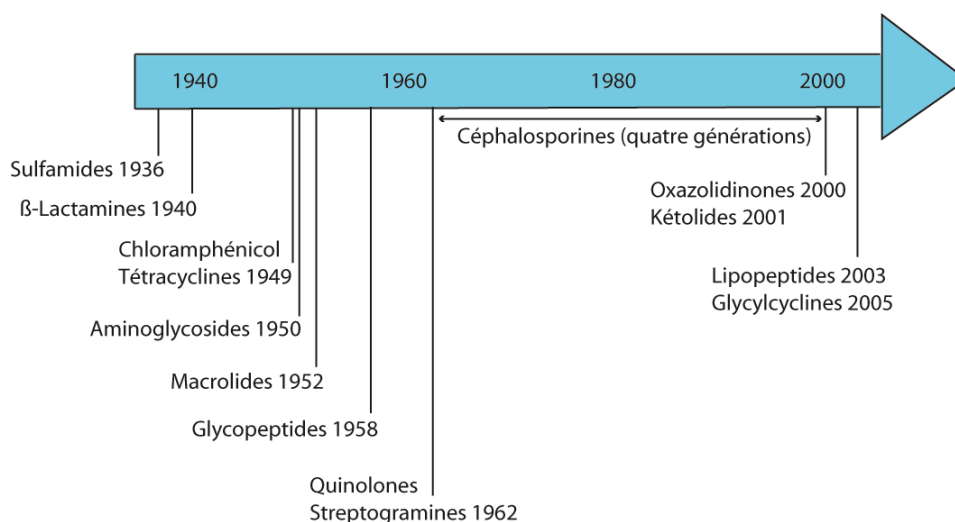


Figure 2 : Ordre chronologique de l'apparition des différents d'antibiotique en usage clinique (**Bedrane et al., 2020**)

2. Définition d'antibiotique

Le terme antibiotique a été inventé du mot « antibiose » qui signifie littéralement « contre la vie ». Dans le passé des antibiotiques étaient considérés comme des composés organiques produits par un microorganisme qui sont toxiques pour d'autre microorganisme (**Khan et al., 2018**). Ils agissent souvent en inhibant la synthèse d'une cellule bactérienne, la synthèse de protéine, l'ADN (Acide Désoxyribonucléique) et l'ARN (Acide ribonucléique) par un agent désorganisant la membrane ou autres action spécifique. Les sources principales des antibiotiques sont les champignons parfois aussi les bactéries (**Bedrane et al., 2020**).

Généralement les antibiotiques caractérisés par (**Yala, 2001**) :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité)
- Toxicité sélective (mode d'action),
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique),
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme.

3. Type des antibiotiques

Deux types des antibiotiques peuvent être différenciés en fonction de leur mode de production :

3.1. Antibiotiques naturels

Ces antibiotiques proviennent de la bactérie elle-même en tant que produit de des voies secondaires. Cela signifie que ces produits ne sont pas vitaux pour leur survie et qu'ils ne sont produits qu'en cas de besoin. Parmi les exemples les plus courants, on peut citer la pénicilline, streptomycine...etc. (Malviya et Upmanyu, 2020).

3.2. Antibiotiques synthétiques

Au fur et à mesure que les connaissances sur la structure et le mode d'action des antibiotiques se sont développées, la synthèse chimique des antibiotiques a pris de l'ampleur. Au cours des 30 dernières années, différentes classes d'antibiotiques ont été synthétisées. Différentes classes d'antibiotiques ont été synthétisées en laboratoire et approuvées pour le traitement des maladies. Des exemples courants d'antibiotiques synthétiques sont l'acide-6-aminopénicillinique, la céphalosporine...etc. Les antibiotiques synthétiques agissent plus rapidement que les antibiotiques naturels (Malviya et Upmanyu, 2020)

4. Types d'activités des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être distingués sur la base du type d'activité qu'ils exercent (Tableau 1) :

4.1. Antibiotique bactériostatique

Ces antibiotiques ne tuent pas les bactéries, mais ils traitent plutôt l'infection en arrêtant la croissance des microorganismes et empêchent de se diviser/reproduire. Cependant, lorsque la concentration des antibiotiques diminue, les bactéries peuvent reprendre leur croissance (Malviya, Upmanyu, 2020).

4.2. Antibiotique bactéricide :

tuent les bactéries (Bambeke, 2008).

Tableau 1 : Antibiotiques bactériostatiques et bactéricides (Bambeke, 2008)

Classe d'antibiotique à action	
Bactériostatique	Bactéricide
Macrolides, sulfamidés, tétracyclines, Lincosamides, nitrofuranes, phénicolés, ethambutol , cyclosérine	B-lactame, fluoroquinolones, Aminoglycosides, nitroimidazoles, Glycopeptides (bactéricide lent), polymyxines, synergistines, ansamycine, acide fusidique, Isoniazide, pyrazinamide

5. CMI, CMB et catégorisation clinique (S, I, R) des souches bactériennes

L'activité antibactérienne est caractérisée *in vitro* par :

5.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Concentration minimale d'antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible après 18 heures d'incubation à 35°C (Demore, 2018).

5.2. Concentration minimale bactéricide (CMB)

Concentration minimale d'antibiotique qui élimine 99,99% des bactéries d'un inoculum standardisé à 10^5 - 10^6 bactéries /ml, après 18 heures d'incubation à 35°C (Demore, 2018).

Le rapport CMB/CMI permet de caractériser le type d'activité d'un antibiotique :

-CMB/CMI < 2 : antibiotique bactéricide ;

-CMB/CMI 4 à 16 : antibiotique bactériostatique.

Un germe est considéré comme « sensible » à un antibiotique si la CMI (Concentration minimale inhibitrice) est inférieure aux concentrations de l'antibiotique obtenues dans l'organisme avec les posologies usuelles. Si la CMI est supérieure à ces concentrations, le germe est dit « résistant ». Si elle est voisine de ces concentrations, la souche est dite « intermédiaire » (Yategué Yalcouye, 2020).

6. Principaux antibiotiques et leur classification

La classification des ATBs peut se faire selon les critères suivants :

6.1. Origine

Les ATBs d'origine biologique : sont obtenus à partir des micro-organismes.

Les ATBs d'origine synthétique : sont obtenus par synthèse pure ou en association à des produits de synthèse ou à des produits biologiquement obtenus (Yategué Yalcouye, 2020).

6.2. Mode d'action

Plusieurs mécanismes d'action, on cite la paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques (Hamdani *et al.*, 2017).

6.3. Spectre d'activité

Chaque antibiotique (ATB) est caractérisé par un spectre qui correspond à l'éventail des germes qu'il peut toucher. On a ainsi des ATBs à spectre très large, large, moyen, ou étroit (Hamdani *et al.*, 2017).

6.4. Structure chimique

Très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle B lactame) sur laquelle il y a ensuite l'hémi-synthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les ATBs en familles (beta-lactamine, aminosides, tetracycline ...) (Tableau 02) (Hamdani *et al.*, 2017).

Tableau 2 : Principaux antibiotiques et leur classification (Jean-Noel, 2009)

Classes d'antibiotiques	Exemples	
Aminoside	Streptomycine, Kanamycine, Gentamicine, Tobramycine, Amikacine	
Molécule active seulement sur les mycobactéries tuberculeuse	Ethambutol, Isoniazide	
Antifongique	Amphotéricine B, Fluorocytosine, Kétoconazole	
Beta-lactamine	Noyau de type Pénicilline : Pénams Carbapénèmes Oxpénams	Pénams : Pénicilline G Aminopénicillines (Ampicilline, Amoxicilline..) : Pénicilline A Carboxypénicillines (Carbénicilline, Ticarcilline) Uréidopénicillines ou acyluréidopénicilline (Azocilline, Pipéracilline) Isoxazolpénicillines (Oxacilline) : Pénicilline M Carbénèmes (imipénème) Oxapénames ou clavams (Acide clavulanique).
	Noyau de type Céphalosporine : Céphèmes et Oxacéphèmes	Céphalosporines de 1 ^{er} génération (céfaloquine) Céphalosporines de 2 ^e génération (Céfuroxime Céfamandole, Céfoxitine, Céfotétan)

		<p>Céphalosporines de 3 génération (Céfotaxime Ceftriaxone,Ceftazidime..)</p> <p>Céphalosporines de 3 génération orales (Cefixime..)</p> <p>Céphalosporines anti Pseudomanes (Cefulodine)</p>
	Noyau betalactame seul : Monobactames	Aztréonam
Fosfomycine	Fosfomycine	
Glycopeptides	Vancomycine	
Imidazolés (Nitro-5-imi- dazolés)	Métronidazole	
Macrolides et apparentés	<p>Macrolides vrais :.....Erythromycine ,Spiramycine , Josamycine</p> <p>Lincosamides :.....Clindamycine ,Lincomycine</p> <p>Streptogramine :.....Pristinamycine ,Virginiamycine</p>	
Nitrofuranes	Nitrofurantoine	
Phénicolés	Chloramphénicol, Thiamphénicol	
Polypeptides	Bacitracine,Colistine ,Polymyxine	
Quinolones	<p>1^{er} génération (Acide alidixique)</p> <p>2 génération ou Fluronquinolones (Norfloxacin)</p>	
Slufamides et Diamino-2- 4-pyrimidines (Sulfones)	<p>Sulfaméthoxazole</p> <p>Triméthoprime...</p>	
Tétracyclines (cyclines)	Tétracycline, Minocycline	

7. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques ont la capacité de tuer les bactéries ou encore d'inhiber leur croissance, on parle alors respectivement de bactéricide ou de bactériostatique (**Figure 01**). Afin qu'il soit efficace et sans danger pour le patient, un antibiotique doit posséder une cible qui soit unique au monde bactérien et absente, ou du moins inaccessible chez le patient. Cette contrainte fait qu'il n'y a que peu de stratégies disponibles pour qu'un antibiotique fonctionne efficacement. Les stratégies les plus exploitées sont les suivantes (**Savard, 2008**):

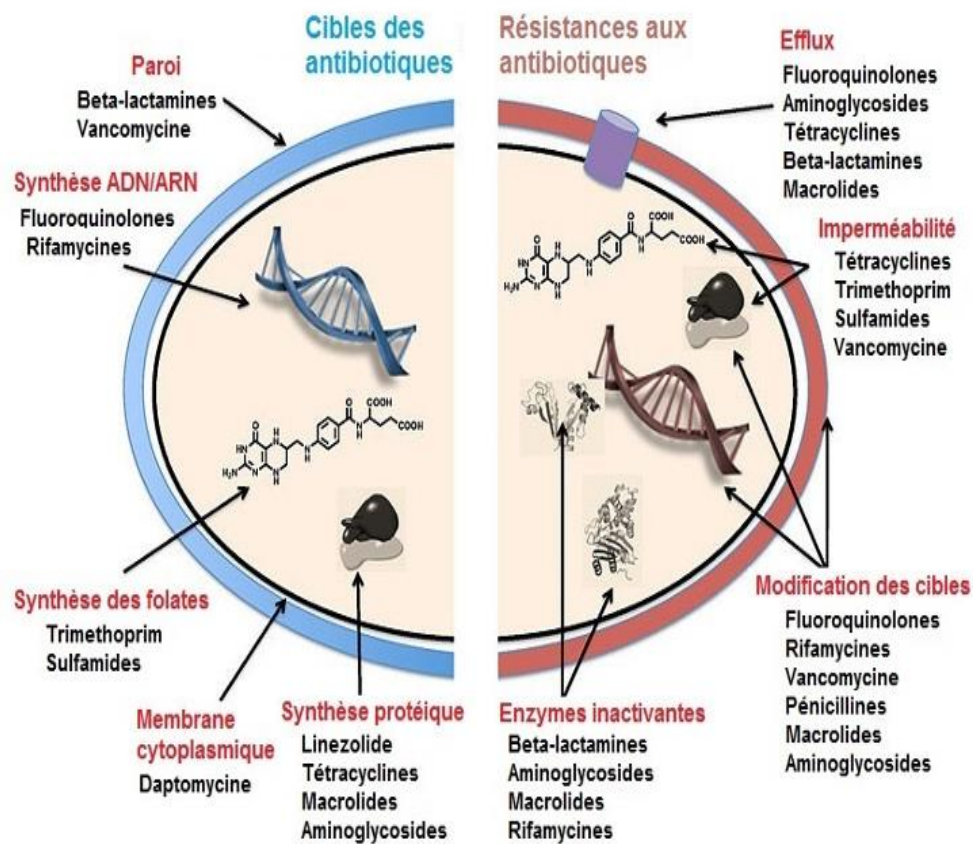


Figure 3 : Schéma présente les principales cibles bactériennes des antibiotiques et les mécanismes majeurs de résistance bactérienne aux antibiotiques (**Maurin, 2023**)

7.1. Toxicité sélective

7.1.1. Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne

Ils agissent en interférant avec la biosynthèse du peptidoglycane. Les précurseurs du peptidoglycane sont synthétisés dans le cytoplasme et assemblés à l'extérieur de la membrane cytoplasmique. Lorsque les bactéries sont en phase de croissance, il existe des phénomènes de synthèse et de destruction du peptidoglycane. L'équilibre entre ces deux phénomènes est rompu par les ATBs inhibant la synthèse de peptidoglycane. Il en résulte l'altération de la paroi ayant un effet létal pour la bactérie. Les classes les plus importantes dans ce type d'ATBs sont les Bêtalactamines, les Glycopeptides ainsi que la Fosfomycine (Vanessa, 2010).

7.1.2. Antibiotiques actifs sur la membrane cytoplasmique

Ils agissent sur les membranes lipidiques, la membrane externe d'abord, puis la membrane cytoplasmique. La fixation de l'antibiotique va désorganiser la structure de ces membranes et les rendre perméable, ce qui aboutit à la mort rapide de la bactérie (Jacques, 2000).

7.1.3. Antibiotiques actifs sur l'ARN des ribosomes

L'antibiotique qui agit sur l'ARN des ribosomes est le groupe d'antibiotiques appelé aminoglycosides. Les aminoglycosides agissent en se liant à la sous-unité 30S du ribosome bactérien et perturbent la lecture de l'ARNm par le ribosome, ce qui entraîne l'arrêt de la synthèse des protéines bactériennes (Greenwood, 2016).

7.1.4. Antibiotiques actifs sur l'ADN bactérien

Certains antibiotiques agissent en ciblant l'ADN bactérien. Les antibiotiques qui agissent de cette manière sont appelés antibiotiques à action sur l'ADN ou antibiotiques à effet direct sur l'ADN. Ces antibiotiques agissent en interférant avec la réplication, la transcription et/ou la réparation de l'ADN bactérien, ce qui entraîne la mort de la bactérie. Les exemples d'antibiotiques à action sur l'ADN incluent les quinolones, les fluoroquinolones et les métronidazoles (Levinson, 2018).

7.2. Inhibition compétitive

Dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie dans lequel une molécule semblable à un substrat se lie au site actif de l'enzyme et empêche le substrat d'y accéder, inhibant ainsi l'activité enzymatique, On distingue (Murray *et al.*, 2020) :

➤ Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme intermédiaire

Les antibiotiques inhibiteurs de métabolisme intermédiaire sont un groupe d'antibiotiques qui agissent en perturbant le métabolisme bactérien, notamment la production d'énergie et la biosynthèse des acides aminés. Exemples d'antibiotiques inhibiteurs de métabolisme intermédiaire incluent la sulfaméthoxazole, le triméthoprim et la nitrofurantoïne (Tableau 03). Ces antibiotiques inhibent des enzymes clés impliquées dans la biosynthèse des acides aminés et/ou le métabolisme de l'acide folique, ce qui perturbe le métabolisme bactérien et entraîne la mort de la bactérie (Murray *et al.*, 2020).

Tableau 3 : Mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques

Mécanisme d'action	Familles d'antibiotiques
Inhibition de la synthèse de la paroi Cellulaire	Pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes, daptomycines, monobactames, glycopeptides
Inhibition de la synthèse protéique	Tétracyclines, aminoglycosides, oxazolidonones, streptogramines, kétolides, macrolides, lincosamides
Inhibition de la synthèse de l'ADN	Fluoroquinolones
Inhibition compétitive de la synthèse de l'acide folique (folates)	Sulfonamides, triméthoprim
Inhibition de la synthèse de l'ARN	Rifampine

***Chapitre II : Béta-lactamine
et la résistance bactérienne***

2. Bêta-lactamine et résistance bactérienne

1. Définition bêta-lactamine

Les bêta-lactamines sont une grande classe de divers composés utilisés cliniquement de la forme orale et parentérale. Les agents de B-lactame sont devenus thérapeutiques la plus utilisés d'antimicrobiens en raison de leur large spectre antibactérien (Neuhauser *et al.*, 2001), les bêta-lactamines constituent une famille de molécules naturelles et de molécules hémi-synthétique ou synthétiques, tout caractérisé par le noyau beta-lactame (Figure 04) (Legrand, 2017), et caractéristique par la présence de la très commune fonction amide – CONH en situation non pas linéaire, mais cyclisée. Ce cycle généralement associé à d'autres hétérocycles (Bouchandoud, 1986), la découverte fortuite du 1^{er} représentant de ce large groupe de molécule, Pénicilline G est généralement attribuée à Alexander Fleming en 1929 (Verdino *et al.*, 2021).

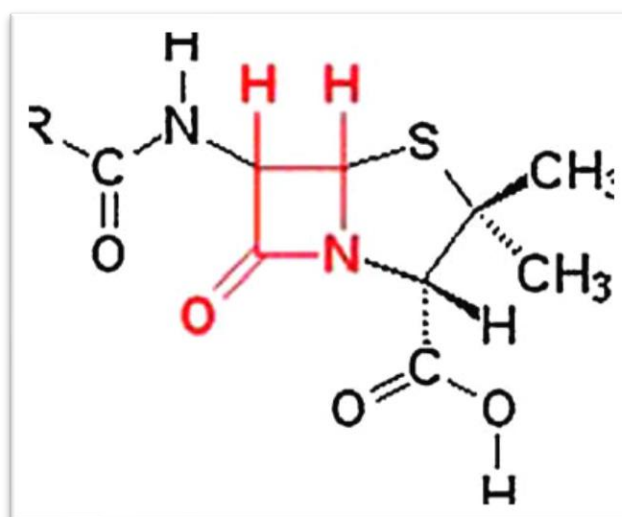


Figure 4 : Structure générale des b-lactamines (Rupée, 2010)

2. Propriétés des bêta-lactamine (Moaitti, 1987)

Généralement les propriétés des bêta-lactamines sont :

2.1. Propriétés communes

- Présence du cycle bêta lactame qui est le support de l'activité antibactérienne ;

- Mode d'action identique : inhibition de la synthèse du peptidoglycane constituante de la paroi des bactéries, par la fixation élective sur les cibles plasmique appelle « PLP » protéine de liaison aux pénicillines.
- Faible toxicité

2.2. Propriétés Spécifiques

La structure chimique est variable et permet de distinguer quatre groupes :

- Les pénames (Pénicilline...),
- Les Céphèmes (Céphalosporines- Cefamycines),
- Les Pénèmes et Carbapénèmes,
- Les Monolactames (Monobactames...).

Cette structure chimique conditionne les propriétés suivantes :

- ✓ Les propriétés antibactériennes (activité intrinsèque et spectre). Elles dépendent de 3 paramètres : la pénétration à travers la paroi bactérienne, l'affinité préférentielle pour la ou les « PLP » essentielle la stabilité à l'hydrolyse par les différentes bêta-lactamases.
- ✓ Les propriétés pharmacologiques.

3. Classification

Les bêta-lactamines dérivent d'un noyau de base commun à tous les constituants de la famille : noyau bêta-lactame (**Figure 05**).

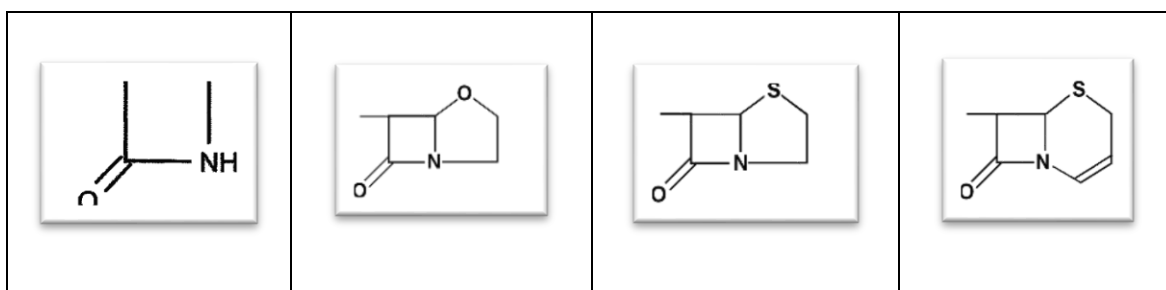


Figure 5 : Structure des noyaux : B-lactame, oxpénème, Pénème, Céphème

Elles regroupent en médecine vétérinaire :

- Le pénicilline (bêta-lactamine à noyau pénème)

- Les céphalosporines (bêtalactamine à noyau céphème)

A cote de ces deux groupes mamours, il existe plusieurs autres classes de bêtalactamine dont certaines ont commencé à être utilise en médecine vétérinaire comme :

- Les inhibiteurs des bêtalactamines : Acide clavulinique, Sulbactam... (bêtalactamine à noyau oxpéname) (**Belguith et al., 2016**).
- Les bêtalactamine monocyclique ou monolactames.

3.1. Premier groupe : Pénames

Pénames c'est le plus vaste groupe (1) il y'a 03 groupes :

3.1.1. Pénicilline

Dans le cas des Pénicilline, il s'agit un cycle thiazolidine composé de cinq sommets, la fusion du cycle B-lactame au cycle pentagonal thiazolidine forme le noyau Péname (l'action de pénamidases sur ce cycle Péname entraine une hydrolyse de la fonction amide extra-cyclique et permet l'obtention de la structure commune à toutes les pénicillines : L'acide 6-amino-pénicilinique(6-APA) (**Figure 06**) (**Delay, 2018**).

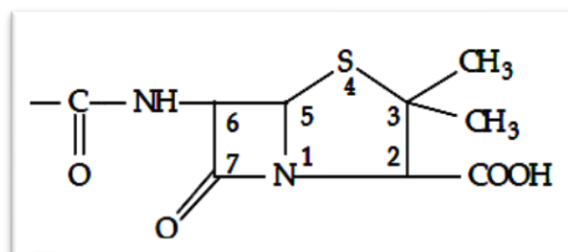


Figure 6 : Structure générale développée des pénicillines (**Belguith et al., 2016**)

Pour les pénicillines dites naturelles, R est un substituant benzyl (benzylpénicilline également appelée pénicilline G) (**Figure 07**) ou un substituant phénoxyéthylpénicilline (pénicilline V).

Pour les pénicillines hémi synthétiques, la fonction R est variable à l'infini. Les pénicillines hémi synthétiques sont réparties en deux grands groupes :

- Les pénicillines du groupe II correspondant aux pénicillines M.

- Les pénicillines du groupe III renfermant les aminopénicillines, les carboxypénicillines, l'ureidopénicilline et une aminopénicilline (Delay, 2018).

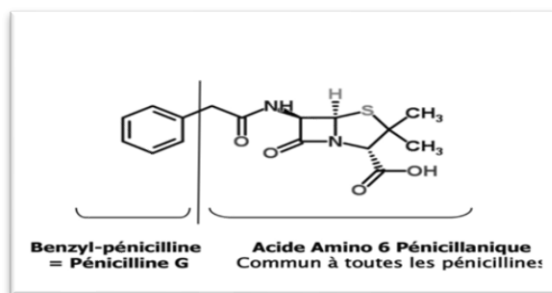


Figure 7 : Structure chimique Pénicilline G (Belguith et al., 2016)

3.1.2. Methoxypénames

Témocilline actif sur les entérobactéries, *Haemophilus influenzae* et *Neisseria gonorrhoeae* (Benslimani et al., 2009).

3.1.3. Oxpénames ou clavms

Acide clavulanique : ce n'est pas un antibiotique, c'est un inhibiteur de B-lactamases (enzyme dégradent les B-lactamine). Utilise en association à l'antibiotique actif :

Acide clavulanique + amoxicilline molécule active sur *Haemophilus influenzae*, *Strptocoque* et certaines entérobactéries sécrétrices de pénicillinase.

Acide clavulanique + ticarcilline molécule active sur *Pseudmonas aeruginosa*. (Benslimani et al., 2009).

3.2. Deuxième groupe : Céphèmes

3.2.1. Céphalosporine

Les Céphalosporines sont dérivées de l'acide-7-aminocéphalosporine qui possèdent un atome de carbone de plus que l'acide amino- pénicillanique (**Figure 08**). On les classe en trois, voire quatre générations.

Les céphalosporines de 1^{er} génération (C1G : Céfalotine, Céfalexine) sont plutôt actives sur les bactéries à Gram positif. Les céphalosporines 2^{eme} génération (C2G :

Céfuroxime, Céfamandole) ont un spectre étendu vers les bactéries à Gram négatif (**Rupée, 2010**).

3^{ème} génération Céfotaxime (CTX), Ceftriaxone actifs sur les *cocci* à Gram positif
Ceftazidime (CAZ), Cefsulodine, Céfopérazone actifs sur *Pseudomonas aeruginosa*.

4^{ème} génération : actifs sur *Pseudomonas aeruginosa* et les entérobactéries (**Benslimani et al., 2009**).

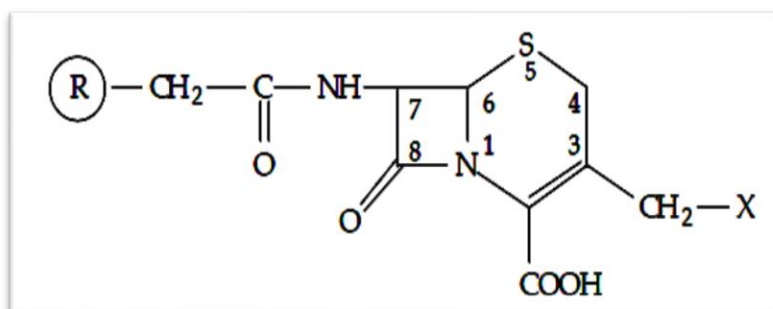


Figure 8 : Structure général des céphalosporines (**Belguith et al., 2016**)

3.2.2. Céphamycines

Céfoxitine, Céfotétan, Cefmétazole leur spectre d'activité est identique à celui des Céphalosprine de 2^{ème} génération en plus des anaérobies (*Bacteroides fragilis*) et les entérobactéries sécrétrices de B-lactamases à spectre élargi.

3.2.3. Oxacephèmes : Latamoxef

Leur spectre d'activité est identique à celui des Céphalosporines de 3^{ème} génération élargi en plus aux bactéries à Gram négatif (G⁻) anaérobies strictes (**Benslimani et al., 2009**).

3.3. Troisième groupe : Pénèmes

- Carbapénèmes : Imipénème

Ce sont des antibiotiques à large spectre remarquables par leur résistance à l'action de diverses B-lactamases. Ils sont à usage hospitalier, administrés par voie parentale et réservés aux infections à *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinebacter* (**Figure 09**) (**Benslimani et al., 2009**).

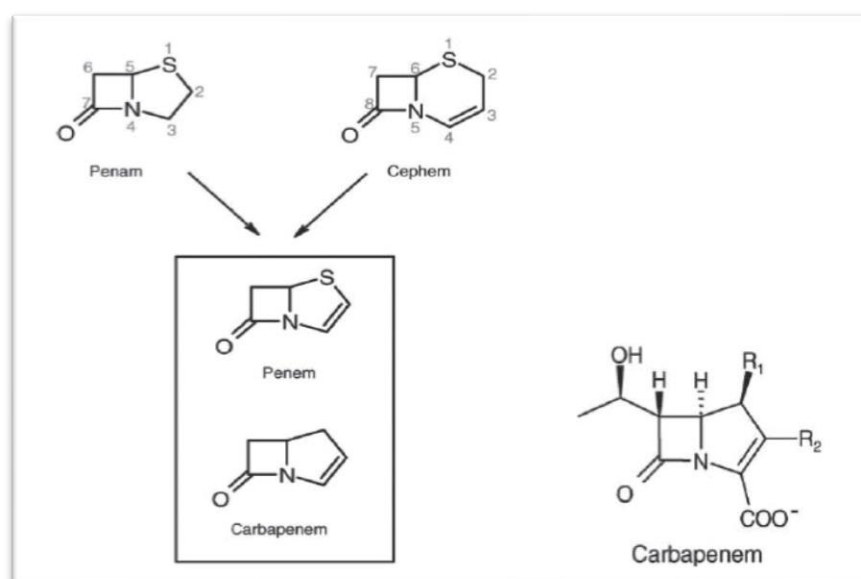


Figure 9 : Structures des Carbapénèmes A : structure générale (Wolff et al., 2009)

3.4. Quatrième groupe : Monobactames Aztrénam

Ce sont β -lactamines monocycliques (**Figure 10**), initialement découvertes dans des surnageant de culture de bactéries plutôt que de levure comme dans le cas des autres β -lactamines. L'Aztrénam, seul monobactame commercialisé, n'est actif que sur les bactéries à Gram négatif (**Rupée, 2010**). Actif particulièrement sur *Pseudomonas aeruginosa* (**Benslimani et al., 2009**).

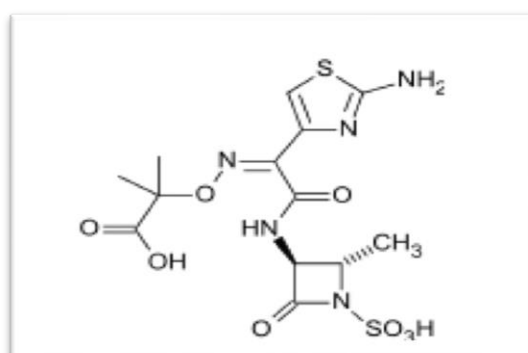


Figure 10 : Structure de Monobactame (Etebu et al., 2016)

4. Mode d'action de bêta-lactamine

Les bêta-lactamine vont se fixe aux PLP (Protéine liant la pénicilline) qui sont des enzyme (transpeptidases) de la membrane cytoplasmique impliquées dans la phase terminale de l'assemblage du peptidoglycane. Suite à la liaison aux PLP, il y aura inhibition de la transpeptidation et activation des autolysines, qui conduira à la mort de la bactérie **(Bourama, 2020)**.

Chez les bactéries Gram positif, l'accessibilité des beta-lactamines à ces enzymes situées sur la membrane cytoplasmique est libre, le peptidoglycane n'est pas barrière à leur diffusion **(Figure 11) (Gregoire, 2018)**.

En revanche, chez les bactéries Gram négatif, l'accessibilité aux PLP dépend de capacité à traverser la négatif membrane externe. Cette membrane hydrophobe empêcherait le passage des molécules hydrophiles telles que les bêta-lactamines sans la protéine spécialisée appelée porine permettant la diffusion de ces molécule **(Figure 12) (Gregoire, 2018)**.

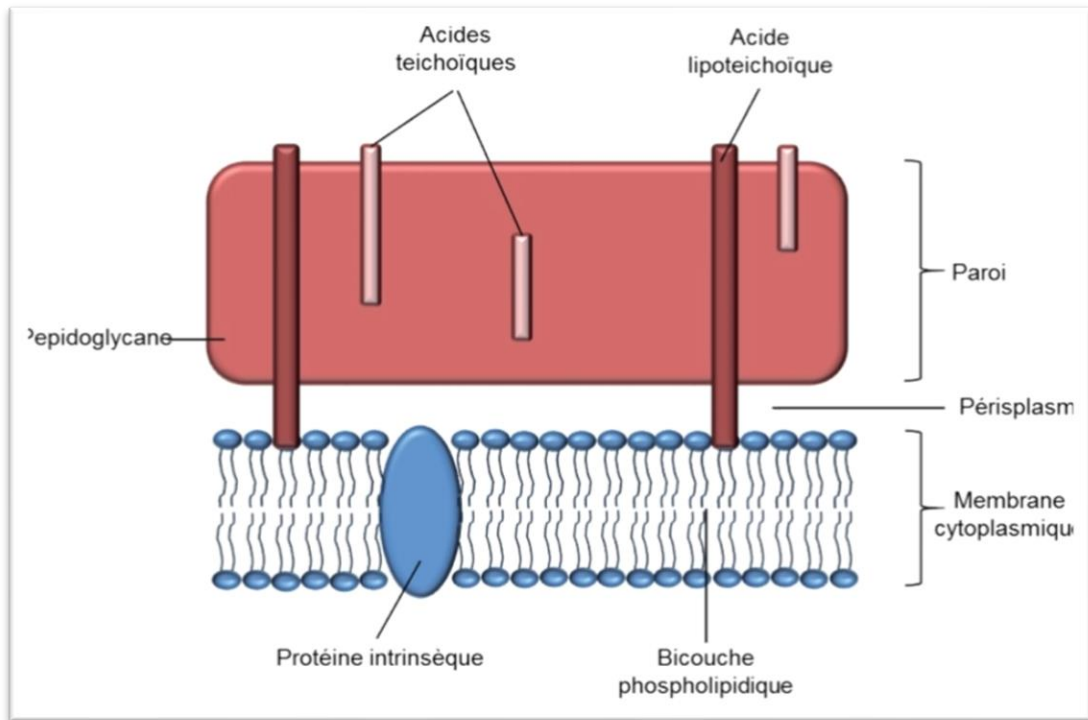


Figure 11 : structure de la paroi des bactéries Gram positives (G+)

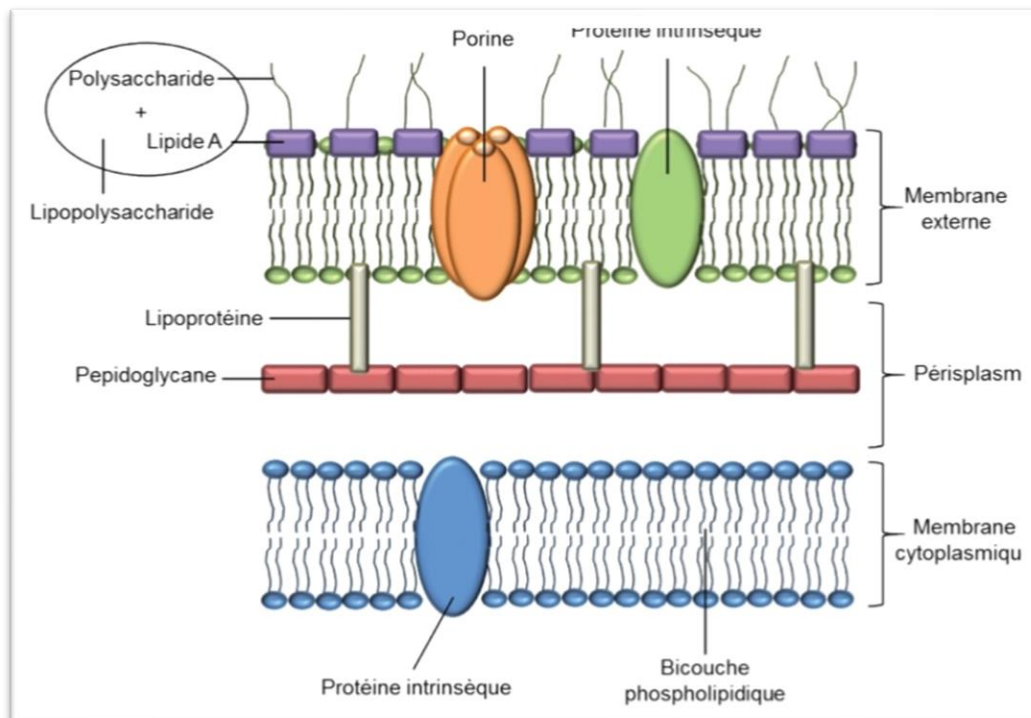


Figure 12 : Structure de paroi des bactéries Gram négatives (G-)

5. Résistance bactériennes

5.1. Définition et origine

Dès le début de l'utilisation clinique des antibiotiques, des souches bactériennes résistantes à ces molécules sont apparues. En effet, Fleming lançait déjà un avertissement face à une utilisation excessive de la pénicilline des 1945 lors de son discours d'acceptation du prix Nobel. Pour chaque nouvelle classe d'antibiotique développée et commercialisée des souches bactérienne résistantes ont émergé (**Muller, 2017**).

Les bactéries en tant que groupe ou espèce ne sont pas nécessairement uniformément sensibles ni résistances à un agent antimicrobien particulier. Les niveaux de l'résistance peuvent varier considérablement dans les groupes bactériens liés. La susceptibilité et la résistance sont généralement mesurées en fonction de la concentration inhibitrice minimal (CMI), la concentration minimale de médicament qui empêchera la croissance des bactéries. La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique (**Muylaert et al., 2012**).

Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans un élément mobile. Comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (extra-chromosomique). Les résistances soit naturelle, soit acquise (**Carl, 2009**).

Aujourd'hui, d'une part en essayant de développer de nouveaux médicament, d'autre part, il existe des difficultés de traitement en raison du développement rapide d'une résistance à ces médicaments (**Cesur, 2013**).

5.2. Types de résistance bactérienne

5.2.1. Résistance naturelle

La bactérie est d'emblée résistance à un antibiotique donné. Elle ne fait pas partir du spectre d'action de cet antibiotique. La résistance naturelle est spécifique d'espèce c'est-à-dire qu'elle concerne toutes les bactéries de la même espèce. Les mécanismes de la résistance naturelle peuvent être l'imperméabilité de la paroi bactérienne ou la synthèse d'enzyme naturelle chromosomique. Exemples : *Pseudomonas* et ampicilline, *Proteus* et Ampicilline, *Klebsiella* et Ampicilline, *Anaérobies* et Aminositides ces bactéries sont naturellement résistantes à ces antibiotique (**Benslimani et al., 2009**).

5.2.2. Résistance croisée

Il s'agit de la résistance à un antibiotique spécifique par des micro-organismes spécifiques qui fonctionnent avec les mécanisme identiques ou apparentés et qui sont également résistance à d'autres antibiotiques. Ceci est généralement observe lorsque les antibiotiques ont des structures communes telles que la résistance aux céphalosporines et aux pénicillines (**Thulfakar et al., 2020**).

5.2.3. Résistance acquise (Yala, 2001)

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotique. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmide conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent).

-Plasmide : L'information génétique est portée par des plasmides transférable à d'autres bactéries par conjugaison, transduction ou transformation.

-Transposons : Ce sont des fragments d'ADN « sauteurs » qui peuvent s'intégrer soit dans le chromosome soit dans plasmides, en allant de l'un autre.

- **Résistance acquises d'origine chromosomique**

Cette catégorie de résistance ne représente que 10% de cas est caractérisé par une modification de chromosome qui s'acquiert progressivement au cours du temps et peut être facilement combattue par l'association de plusieurs antibiotiques (**Delay, 2018**).

- **Résistance Acquisition de gènes**

La résistance par acquisition de matériel génétique mobile (plasmide, transposon...) est un modèle fréquemment observé chez les différentes populations bactérienne. Cette forme de résistance est transférable même à des bactéries d'espèce distinctes (**Boerlin et al., 2013**).

Ce phénomène d'échanges et de transfert horizontal du matériel génétique est généralement réalise selon trois manières différentes (**Figure 13**) (**Boerlin et al., 2013**) :

- Transfert d'ADN (Acide Désoxyribonucléique) d'une bactérie à un autre par bactériophage (transduction),
- Transfert des gènes via des plasmides (conjugaison),
- Intégration par une bactérie des fragments d'ADN étrangère libérés dans l'environnement par d'autre bactérie (transformation).

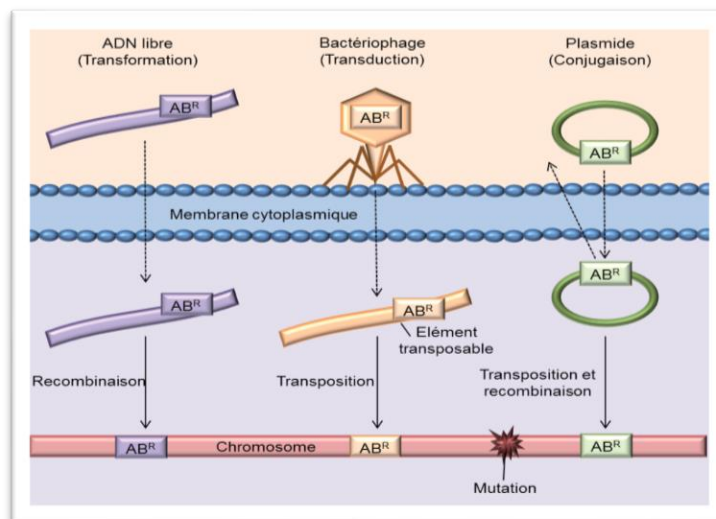


Figure 13 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques (ABR : gène de résistance à un antibiotique) (Muylaert et al., 2012)

5.2.4. Multirésistance

Les organismes multi-médicament : sont généralement des bactéries qui sont devenues résistantes aux antibiotiques utilisés pour les traiter. Cela signifie qu'un médicament particulier n'est plus capable de tuer ou de contrôler les bactéries. L'utilisation inappropriée des antibiotiques pour la thérapie a permis de sélectionner des bactéries pathogènes résistantes aux médicaments multiples. La résistance multipliée en bactérie peut être produite par l'un des deux mécanismes. 1^{er} ces bactéries peuvent accumuler plusieurs gènes, chaque codage de la résistance à un seul médicament. Ce type de résistance se produit généralement sur les plasmides de résistance. 2^{ème} type de résistance nommé résistance multi-multi-chaines peut également se produire par l'augmentation de l'expression de gènes qui code pour les pompes d'efflux, inactivation enzymatique, les changements dans la structure de cible etc. (Cesur, 2013).

5.3. Mécanismes de résistance bactérienne

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobienne, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule (**Figure 14**) (Muylaert *et al.*, 2012).

On distingue quatre mécanismes de résistance aux antibiotiques bêta-lactamines :

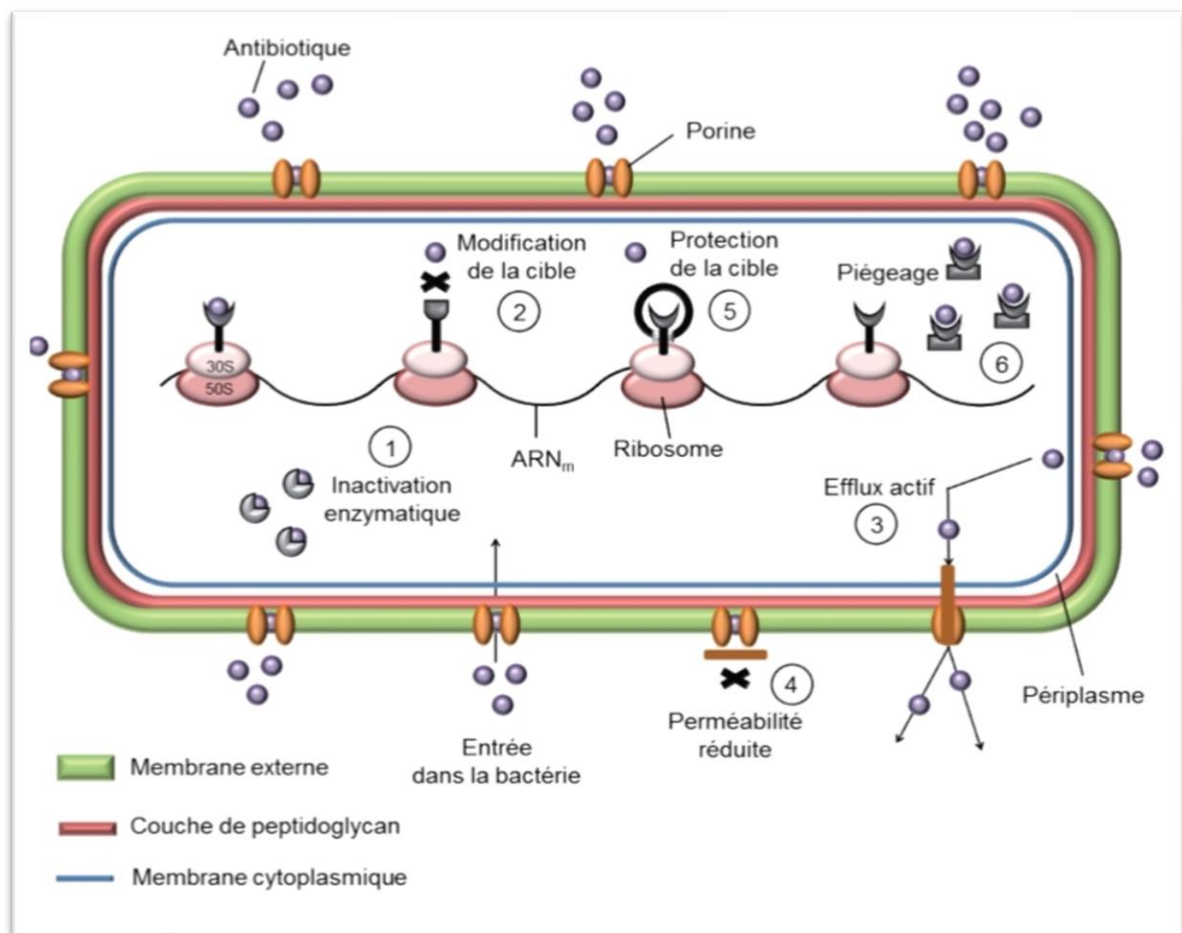


Figure 14 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries Gram négatives (Muylaert *et al.*, 2012)

5.3.1. Résistance non enzymatique

5.3.1.1. Modification des cibles

Les modifications que se produisent dans le récepteur lié au médicament et localisation des régions cibles de la relation avec les antibiotiques sont distinctes, il peut

s'agir d'enzyme complexes et de ribosome la résistance la plus fréquemment identifiée compatible avec les variations de la cible ribosomale est dans les macrolides antibiotiques (**Thulfakar et al., 2020**).

Les cibles des B-lactamines sont des protéines enzymatiques (Protéine de liaison aux pénicillines) insérées dans la surface externe de la membrane cytoplasmique. Les Protéines de liaison aux pénicillines (PLP) interviennent dans la synthèse du peptidoglycane le constituant principal de la paroi bactérienne. Ce mécanisme de résistance est très rare chez les entérobactéries (**Robin, 2012**).

5.3.1.2. Mécanisme d'efflux actif

Les bactéries à Gram négatif (G^-) qui sont pratiquement imperdables pour une grande variété de composés possèdent différents canaux portiques impliqués dans leur transport. Parallèlement aux porines qui permettent aux nutriments de pénétrer dans la cellule, les bactéries utilisent des pompes à efflux qui contribuent à diminuer la concentration intracellulaire de composés toxiques comme les médicaments, les détergents et sont donc impliqués dans le contrôle de la sensibilité aux antibiotiques. (**Leulmi, 2015**).

La plupart des bactéries possèdent nombreux types différents de pompes à efflux. Il existe 5 grandes familles de pompes à l'efflux chez les bactéries classées en fonction de leur structure et de source et de source d'énergie : l'ATP-binding cassette (ABC), la family, the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family the small multidrug resistance (SMR), family, the major facilitator superfamily (MFS), et the family resistance-nodulation-cell division (RND). La plupart de ces familles de pompes à efflux sont des pompes à un seul composant qui transportent des substrats à travers la membrane cytoplasmique, la famille RND sont des pompes multi composants (**Figure 15**) (**Cygaert, 2018**).

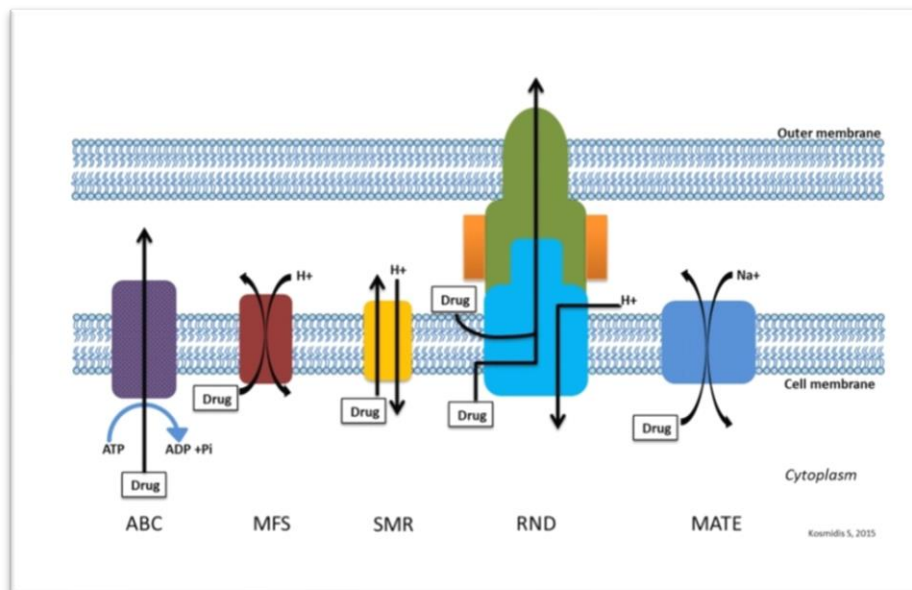


Figure 15 : Structure générale des familles des pompes à efflux (ABC: L'ATP-binding cassette, MFS: The major facilitator super family, SMR: Family the small multidrug résistance, family, RND: The family resistance-nodulation-cell division, MATE: The multidrug a

5.3.1.3. Modification de la perméabilité de membrane

Les bactéries sont des Micro-organismes unicellulaires : une membrane cytoplasmique sépare leur cytoplasme du milieu externe. Les bactéries à gram négatif sont également munies d'une enveloppe additionnelle, la paroi externe qui sert de barrière et protégé les protéines de liaison aux pénicilline (PLP) du milieu externe. Les nutriments et les antibiotiques doivent traverser cette enveloppe pour pénétrer dans les bactéries. Le passage se fait par diffusion passive à travers les canaux que forment les protéines canaliculaire nommées porines. La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'ATB sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactéries (Carle, 2009).

5.3.2. Résistance enzymatique

Le micro-organisme produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique. La production enzymatique peut être induite par un facteur externe (autre antibiotique) ou constante (non affectée par stimuli externes) (Carle, 2009).

5.3.2.1. Production de Bêta-lactamase

Définition de B-lactamases

Les Bêta-lactamases sont des enzymes produites par certaines bactéries qui confèrent une résistance aux antibiotiques bêta-lactamines comme les pénicillines, les céphamycines et les carbapénèmes, bien que les carbapénèmes soient relativement résistants aux bêta-lactamases. Les bêta-lactamases fournissent une résistance aux antibiotiques en brisant la structure des antibiotiques. Ces antibiotiques ont tous un élément commun dans leur structure moléculaire : un cycle à quatre atomes appelé bêta-lactame. Par hydrolyse l'enzyme lactamase brise le cycle B-lactame désactivant les propriétés antibactériennes de la molécule (Lyevhobu Kenneth, 2023).

Mode d'action de β -lactamases

Le mécanisme d'hydrolyse se déroule en trois étapes (**Figure 16**) :

- A). Liaison non covalente et réversible entre la B-lactamase et la B-lactamine
- B). Rupture du noyau B-lactame par acétylation covalente avec la serine du site actif (formation d'un complexe acyl-enzyme intermédiaire avec les B-lactamine)
- C). Intervention d'une molécule d'eau permettant l'hydrolyse de l'acyl-enzyme pour réactiver la Bêta-lactamase et libérer la molécule d'antibiotique inactivée (Leulmi, 2015).

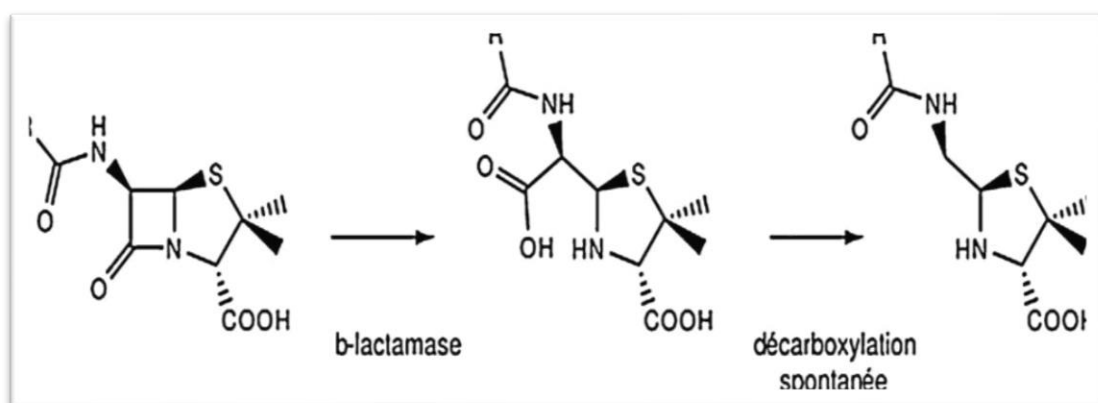


Figure 16 : Mécanisme d'hydrolyse d'une B-lactamine par B-lactamase

Classification des β -lactamases

Les β -lactamases sont évaluées par deux classifications de base. La classification moléculaire proposée par Ambler en 1980 (**Dogan et al., 2018**).

Il convient de préciser que quatre classes moléculaires de bêta-lactamases ont été identifiées dès les années 1980 : la classe A comprenant des pénicillinases, la classe B des carpénèmases, la classe C des céphalosporinases et enfin la classe D des Oxacillinases (**Philippon, 2013**).

Les classes A, C et D regroupent les bêta-lactamases de type sérine protéase et la classe B regroupe les bêta-lactamases de type métalloprotéase à zinc (**Cesur, 2013**). La deuxième est nommée comme une classification fonctionnelle de Bush, Jacoby et Medeiros, qui regroupe différentes bêta-lactamases en fonction de leur profil de substrat et de leurs profils d'inhibiteur, a été d'abord découverte en 1989 puis améliorée en 1995 (**Tableau 04**) (**Dogan et al., 2018**).

A. Classification d'Ambler

Classe A : Cette classe a été observée pour la 1^{ère} fois chez *E. coli* en 1963 et a été appelée TEM : elle a été nommée d'après la personne dont elle a été isolée. Cette classe d'enzymes présente un niveau de sensibilité à de nombreux inhibiteurs de B-lactamses disponibles dans le commerce (**Zango et al., 2019**).

Classe B : correspond aux métallo-enzyme dépendants de la présence d'ions zinc ou magnésium. Ces enzymes peuvent être inhibées *in vitro* par la présence de chélateur d'ions comme l'Éthylène Diamine Tétra Acétique (EDTA), cependant l'acide clavulanique est inefficace. Phénotypiquement les métallo-enzymes confèrent la résistance aux pénicillines, aux C3G, aux carbapénèmes ou encore aux Céphamycines (**Faure, 2010**).

Classe C : Concerne les Céphalosporinases chromosomiques retrouvées particulièrement chez *Enterobacter*, *Serratia*... Pour ces espèces bactériennes, ces bêta-lactamases jouent un rôle important dans la résistance aux céphalosporines de troisième génération (**Labia et al., 1988**).

Classe D : Les enzymes de cette classe sont capables de dégrader les isoxazolyl B-lactamine comme oxacilline... Ainsi, ils sont également appelés Oxacillinases. Cependant leur activité est inhibée par l'acide clavulanique (**Zango et al., 2019**).

B. Classification de Bush, Jacoby (Bonomo, 1999)

Groupe 1 : Sont des Céphalosporinases codées chromosomiquement et sont mal inhibées par l'acide clavulanique.

Groupe 2 : Sont un groupe diversifié de bêta-lactamase composées de pénicillinases, de Céphalosporinases, d'oxacillinases et de carbapénémases. Ce sont des plasmides codés chromosomiquement. En général les enzymes du groupe 2 sont inhibées par l'acide clavulanique.

Groupe 3 : sont des métallos-enzymes généralement trouvés chez *Pseudomonas Spp*, *Bacteroides Spp*.

Groupe 4 : Représentent une collection non caractérisée. Plusieurs sous-classification. Les bêta-lactamases de classe A résistante aux inhibiteurs est classée comme groupe 2b.

***Chapitre III : Entérobactéries et
Infections Urinaires***

3. Entérobactéries

1. Historique

La naissance de la famille des *Enterobacteriaceae* remonte à 1937, lorsqu'Otto Rahn proposa le genre *Enterobacter* pour regrouper les microorganismes présentant des propriétés biochimiques et morphologiques communes. Les Entérobactéries sont très hétérogènes pour ce qui est de leur pathogénicité. Les espèces qui composent cette famille sont, en effet, soit parasites, soit commensales (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*), ou encore saprophytes (*Serratia sp.*, *Enterobacter sp.*) (Pierre, 2003 ; Bakhoum, 2004).

2. Définition

Les entérobactéries, également appelées *Enterobacteriaceae*, sont une famille de bactéries gram-négatives courantes dans l'environnement, cette famille est composée d'environ 40 genres et plus de 200 espèces. Elles ont été nommées ainsi parce qu'elles ont été initialement isolées à partir d'échantillons intestinaux. Les entérobactéries se trouvent dans divers environnements, tels que les sols, les plantes, les animaux et les humains (Tortora *et al.*, 2017).

Les entérobactéries ont une grande importance médicale en raison de leur implication dans les infections nosocomiales, telles que les infections urinaires, les infections pulmonaires, les infections de la plaie, les infections du sang et les infections gastro-intestinales. Les entérobactéries pathogènes les plus courantes chez les humains comprennent *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Shigella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.* et *Proteus spp.* (Ryan *et al.*, 2015).

La famille des *Enterobacteriaceae* (Figure 17) comprend de nombreux genres bactériens répondant à la définition suivante :

- Ce sont des bacilles à Gram négatif
- Mobiles par une ciliature péritriche ou immobiles
- Aéro ou anaérobie facultatifs
- Fermentent le glucose avec ou sans production de gaz
- Réduisent les nitrates en nitrites
- Possédant une catalase à l'exception de l'espèce *Shigella dysenteriae*

- Ne possèdent pas d'oxydase
- Ne forment pas de spores
- Possèdent un antigène commun appelé antigène de Kunitz ou ECA (*enterobacterial* Common antigen).

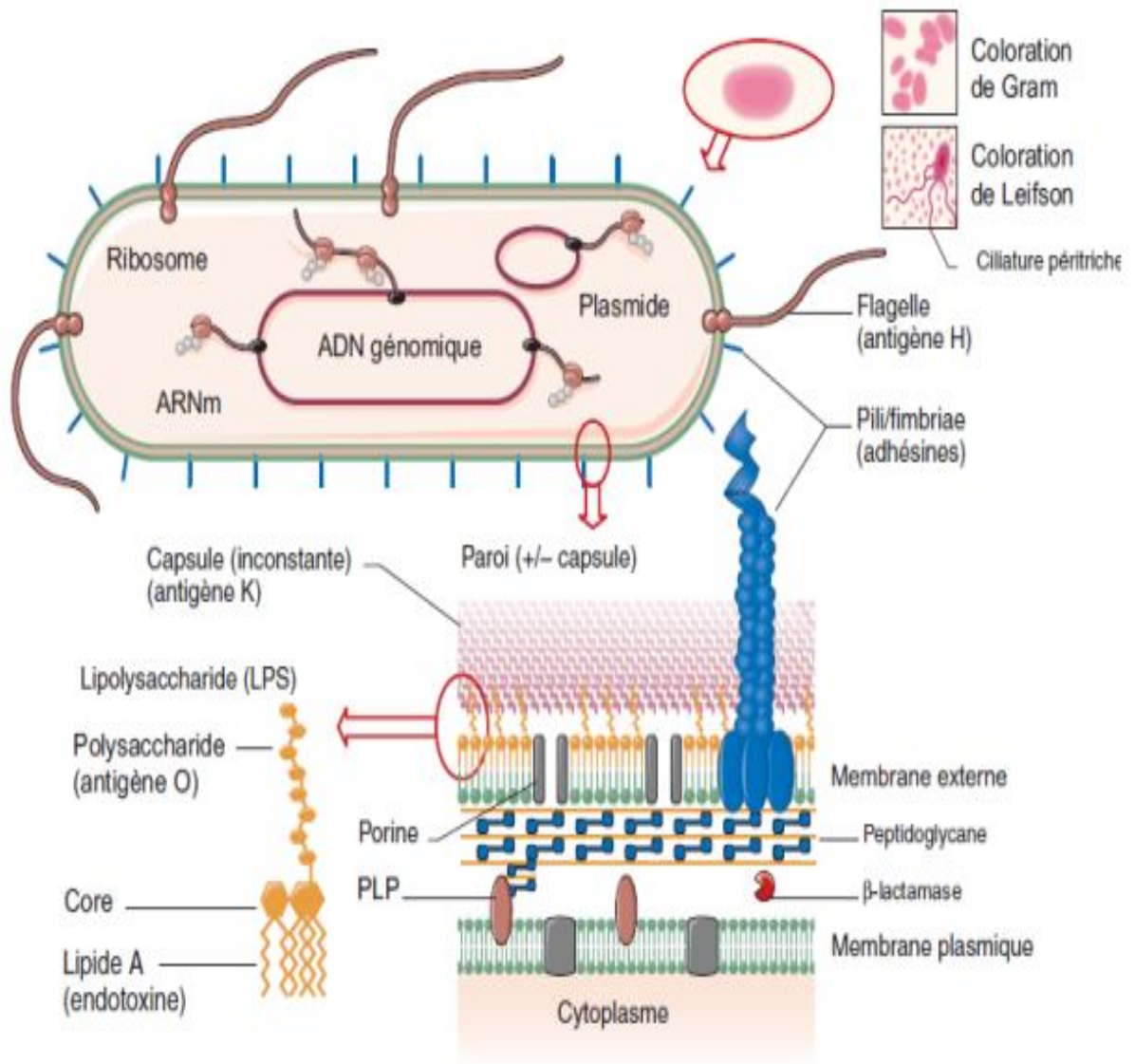


Figure 17 : Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae

Les différences entre les nombreux genres et espèces viennent de critères plus précis (**Tableau 5**), comme la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, la production d'indole, la production d'uréase, la présence ou l'absence d'enzymes du métabolisme (désaminases, décarboxylases) ...etc. (**Delarras, 2014**).

Tableau 4 : Caractères d'identification biochimiques des genres les plus fréquemment rencontrés (Minor et al., 1989)

	<i>Salmonella</i>	<i>citrobacter</i>	<i>levinea</i>	<i>E.coli</i>	<i>shigella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Hafnia alvie</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus morganii</i>	<i>Proteus rettgeri</i>	<i>providencia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia</i>	<i>pseudotuberculosis</i>
Mobilité	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	+ou (+)	-	+ou (+)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	-	+	+	+	D	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
H2O	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
LDC	+	-	-	D	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
ODC	+	-	+	D	D	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-
ADH	-	-	D	D	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Uréase	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+
TDA.PDA	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
Indole	-	-	+	+	D	-	-	-	-	+	-	+	+	D	-	-
Citrate de simmons	+	+	+	-	-	+	D *	+	D	D	-	+	+	-	-	-
Malonate	-	-	D	-	-	+	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	+	+	+	-	D	-	-	-	D *	-	-
Gélatinase	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Gaz/glucose	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	D	D	-	-	-
Mannitol	+	+	+	D	D	+	+	+	-	-	-	+	D	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	D	D	+	+	-	-	-	-	D	-	-	+	+
Saccharose	-	D	D	D	-	+	-	+	+	D	D	-	D	+	-	-
Arabinose	+	+	+	+	D	+	+	-	-	-	-	-	-	+	D	D
Inositol	D	-	-	-	-	+	-	D	-	-	-	+	D	-	-	-
Aldonitol	-	-	D	-	-	+	-	D	-	-	-	+	D	-	-	-
Galacturonate	-	+	+	+	D	+	+	+	-	-	-	-	-	+	D	D

+ : résultat positif

- : résultat négatif

+* et D* positif à 22°C négatif à 37°C

D : différents types biochimiques

+* : positif lent (uréase+ en 18-24 heures)

(+) : positif en 3 à 7 jours

3. Habitat

Les Entérobactéries sont ubiquitaires avec un habitat très diversifié. On les trouve dans le sol, dans l'eau, dans certaines denrées alimentaires (Salah, 2009) et aussi dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux. Ce sont des hôtes normaux ou pathogènes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux

(Fauchère *et al.*, 2002). Dans l'intestin terminal, ces bactéries représentent plus de 10% de la flore totale (Guiraud, 2012). Pour cela elles sont nommées entérobactéries (Fauchère et Avril, 2002).

4. Taxonomie

4.1. Classification traditionnelle

La classification traditionnelle des entérobactéries est basée sur des caractéristiques phénotypiques telles que la morphologie cellulaire, la capacité à fermenter certains sucres et la production de certains enzymes. Cette classification est basée sur le système de Kluyver et van Niel, qui a été développé dans les années 1930. Selon ce système, les entérobactéries sont divisées en quatre groupes : les coliformes lactose-fermentant, les non-lactose-fermentant, les entérobactéries à Gram négatif oxydase négative et les bactéries lactose-négatives à Gram négatif oxydase positive (Howard *et al.*, 2010).

- **Lactose-fermentant**

Sont des entérobactéries qui peuvent fermenter le lactose pour produire de l'acide et du gaz. Ces bactéries sont souvent utilisées comme indicateurs de contamination fécale, car elles sont normalement présentes dans l'intestin des mammifères. Les coliformes lactose-fermentant comprennent des genres tels que *Escherichia*, *Klebsiella* et *Enterobacter*. (Garrity, 2005).

- **Non-lactose-fermentant**

Sont des entérobactéries qui ne peuvent pas fermenter le lactose pour produire de l'acide et du gaz. Ces bactéries comprennent des genres tels que *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Stenotrophomonas*. Ces bactéries peuvent être responsables d'infections opportunistes chez les patients immunodéprimés. (Garrity, 2005).

- **Entérobactéries à Gram négatif oxydase négative**

Sont des bactéries qui sont capables de fermenter le glucose, le lactose et d'autres sucres. Ces bactéries comprennent des genres tels que *Citrobacter*, *Salmonella* et *Shigella*. Ces bactéries peuvent être responsables d'infections gastro-intestinales, d'infections urinaires et d'autres infections. (Garrity, 2005).

- **Bactéries lactose-négatives à Gram négatif oxydase positive**

Sont des bactéries qui sont capables de fermenter le glucose et d'autres sucres, mais qui ne peuvent pas fermenter le lactose. Ces bactéries comprennent des genres tels que *Pseudomonas* et *Acinetobacter*. Ces bactéries peuvent être responsables d'infections opportunistes chez les patients immunodéprimés. (**Garrity, 2005**).

4.2. Classification phylogénétique

La taxonomie des entérobactéries est basée sur leur classification phylogénétique, qui est déterminée par l'analyse de leur séquence d'ADN. Cette classification repose sur des caractéristiques moléculaires telles que la séquence de l'ARN ribosomique 16S et la séquence des gènes de la sous-unité de l'ADN polymérase III. Cette classification a conduit à la division des *Enterobacteriaceae* en six groupes phylogénétiques : le groupe A (*Escherichia*), le groupe B (*Salmonella*), le groupe C (*Shigella*), le groupe D (*Citrobacter*), le groupe E (*Enterobacter*) et le groupe F (*Klebsiella*) (**Tableau 6**) (**Garrity, 2005**).

Tableau 5 : Principaux groupes d'Entérobactéries (Perriere, 1992)

Groupes	Familles	Genres	Espèces
GROUPE I	<i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>S. paratyphi</i> <i>S. enteritidis</i>
GROUPE II	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
	<i>Levineae</i>	<i>Levinea</i>	
GROUPE III	<i>Klebsielleae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxymore</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogen</i> <i>Enterobacter cloaceae</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
		<i>Erwinia</i>	
GROUPE IV	<i>Proteae</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus rettgerii</i>
		<i>Providencia</i>	
GROUPE V	<i>Yersinieae</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i> <i>Y. pseudotuberculosis</i>

5. Caractères morphologiques

5.1. Morphologie cellulaire

Les entérobactéries sont des bactéries en forme de bâtonnets, qui peuvent avoir une longueur allant de 0,5 à 5 microns et une largeur de 0,2 à 1 micron (Willey *et al.*, 2017 ; Madigan *et al.*, 2018).

5.2. Mobilité

Certaines entérobactéries sont mobiles grâce à la présence de flagelles, tandis que d'autres sont immobiles (Murray *et al.*, 2016).

5.3. Capsules

Les entérobactéries peuvent former des capsules, qui sont des couches de polysaccharides autour de la cellule bactérienne. Les capsules peuvent jouer un rôle important dans la virulence des bactéries pathogènes (**Willey *et al.*, 2017 ; Madigan *et al.*, 2018**).

5.4. Spores

Les entérobactéries ne forment généralement pas de spores, mais certaines espèces, comme les espèces du genre *Clostridium*, peuvent former des spores résistantes à la chaleur et à la dessiccation (**Murray *et al.*, 2016**).

5.5. Fermentation

Les entérobactéries sont connues pour leur capacité à fermenter différents sucres, ce qui peut être utilisé pour les identifier (**Willey *et al.*, 2017 ; Madigan *et al.*, 2018**).

6. Caractères culturels

6.1. Croissance sur gélose ordinaire

Les entérobactéries sont généralement cultivées sur des milieux de culture tels que la gélose ordinaire, qui contiennent des nutriments de base tels que des peptones, des extraits de viande et des sucres. Ces bactéries sont capables de croître sur ces milieux de culture et forment souvent des colonies rondes, lisses et convexes (**Murray *et al.*, 2016 ; Willey *et al.*, 2017**).

6.2. Croissance sur milieux sélectifs

Certains milieux de culture sont conçus pour favoriser la croissance de certaines entérobactéries et inhiber la croissance d'autres bactéries. Par exemple, la gélose de MacConkey contient des cristaux de violet et des sels biliaires qui inhibent la croissance de la plupart des bactéries gram-positives, mais favorisent la croissance des entérobactéries (**Murray *et al.*, 2016 ; Willey *et al.*, 2017**).

6.3. Fermentation des sucres

Les entérobactéries peuvent fermenter différents sucres pour produire des acides organiques et des gaz tels que le dioxyde de carbone et l'hydrogène. La production de ces acides et de ces gaz peut être utilisée pour identifier les entérobactéries en utilisant des milieux de culture spécifiques tels que la gélose de TSI (**Murray et al., 2016 ; Willey et al., 2017**).

6.4. Réaction oxydase

Les entérobactéries sont généralement négatives pour la réaction oxydase, ce qui signifie qu'elles ne produisent pas l'enzyme cytochrome c oxydase. Cette propriété peut être utilisée pour les distinguer des autres bactéries qui sont positives pour cette réaction (**Murray et al., 2016 ; Willey et al., 2017**).

6.5. Croissance en anaérobie

Certaines entérobactéries peuvent croître en anaérobie, tandis que d'autres sont strictement aérobies ou facultativement anaérobies. La croissance anaérobie peut être observée en utilisant des milieux de culture spécifiques tels que la gélose de thioglycolate (**Murray et al., 2016 ; Willey et al., 2017**).

7. Caractères antigéniques

- **Antigène O** : L'antigène O est un polysaccharide présent sur la surface de la membrane externe des entérobactéries. Il est produit par les gènes liés à l'antigène somatique de la bactérie et est utilisé pour classer les entérobactéries en sérogroupes. Plus de 180 sérogroupes d'*Escherichia coli*, par exemple, ont été identifiés en fonction de leur antigène O. Les antigènes O sont également utilisés pour diagnostiquer les infections entériques causées par des entérobactéries (**Poole, 2005 ; Tang et al., 2014**).

Ce sont des antigènes sont thermostables à 100°C et résistent à l'alcool ou l'acide. Les réactions d'agglutination se produisent lentement et sont constituées d'agglutinats granulaires difficilement dissociables par agitation. La spécificité O est perdue par les souches R qui sont auto-agglutinables en eau distillée (**FERRON, 1993**).

- **Antigène H** : L'antigène H est un flagelle présent à la surface de certaines entérobactéries. Il est produit par les gènes de phase de la bactérie et est utilisé pour classer les entérobactéries en sérotypes. Les antigènes H sont importants pour la virulence des entérobactéries, car ils sont impliqués dans la motilité et la colonisation des tissus hôtes (**Kim et Gadd, 2008 ; Wilson, 2010**). Sont présents que chez les souches d'Entérobactéries mobiles. Constitués d'une protéine, la flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool. Les réactions d'agglutination se produisent rapidement et sont constituées d'agglutinats floconneux, facilement dissociables par agitation (**FERRON, 1993**).
- **Antigène K** : L'antigène K est un polysaccharide capsulaire présent sur la surface de certaines entérobactéries. Il est utilisé pour classer les entérobactéries en sérotypes et est souvent associé à la virulence et à la résistance aux antibiotiques. Les antigènes K protègent les entérobactéries contre les attaques du système immunitaire de l'hôte et sont impliqués dans la formation de biofilms (**Poole, 2005 ; Wessels et al., 2018**). Ce sont des antigènes solubles et thermolabiles détruits par une ébullition de 2 heures. Les antigènes d'adhérence ou adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (K88, K99) (**Ferron, 1993**).

8. Caractères biochimiques

Les caractères d'identification des *Enterobacteriaceae* sont essentiellement "biochimiques" et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose etc..), la capacité d'utiliser le citrate comme seule source de carbone, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz (**Murray et al., 2016**).

L'identification se produit dans des tubes, assurant à la fois la croissance et la réaction biochimique. De nouvelles approches à cette méthode notamment par l'élaboration des galeries API 20E, premières galeries mises au point pour les Entérobactéries et aussi la création d'automate comme le MINI API (**Bébéar et al., 2006**).

Ces caractéristiques biochimiques sont souvent utilisées pour identifier les entérobactéries en laboratoire en utilisant des tests biochimiques spécifiques (**Tableau 3**) (**Murray et al., 2007**).

- **Fermentation du glucose** : Les entérobactéries fermentent le glucose pour produire de l'acide lactique ou de l'acide formique, ainsi que du dioxyde de carbone et de l'éthanol.
- **Oxydase** : Les entérobactéries sont négatives pour l'oxydase, c'est-à-dire qu'elles ne produisent pas l'enzyme oxydase.
- **Réduction du nitrate** : Les entérobactéries peuvent réduire le nitrate en nitrite.
- **Utilisation de l'urée** : Certaines entérobactéries peuvent utiliser l'urée comme source de carbone et d'azote.
- **Production d'indole** : Certaines entérobactéries produisent de l'indole à partir du tryptophane.
- **Hydrolyse de l'urée** : Certaines entérobactéries sont capables d'hydrolyser l'urée en ammoniac.

Tableau 6 : Caractères biochimiques de quelques Entérobactéries (Murray et al., 2016)

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

Glu : Glucose ; **Lac** : Lactose ; **ONPG** : Orthonitrophénol-bêta-galactosidase ; **VP** : Voges-Proskauer ; **Cit** : Citrate ; **Mob** : Mobilité ; **H₂S** : Sulfure d'hydrogène.

9. Pouvoir pathogène

Les Entérobactéries sont à l'origine de maladies de gravité très variable, en raison de mécanismes pathogéniques on distingue habituellement deux catégories de bactéries pathogènes :

- Les bactéries pathogènes spécifiques provoquent des troubles quel que soit l'état de santé du patient (à l'exception des porteurs asymptomatiques).
Exemples : *Salmonella Typhi*, *Vibrio cholerae*, *Mycobacterium tuberculosis*.
- Les bactéries pathogènes opportunistes provoquent des troubles lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies (on parle aussi de sujets immunodéprimés).
Exemples : *Pseudomonas aeruginosa*, nombreuses Enterobactéries, *Enterococcus*...

10. Etudes de quelques genres et espèce particulier

10.1. Escherichia coli (E. coli)

Est une bactérie gram-négative commune qui peut être trouvée dans le tractus intestinal des humains et des animaux. La plupart des souches d'*E.coli* sont non pathogènes et ont des fonctions bénéfiques pour la santé humaine. Cependant, certaines souches d'*E. coli* sont pathogènes et peuvent causer des infections chez les humains. Voici quelques exemples de l'impact pathogène d'*E. coli* (Garrity, 2005) :

- ***E. coli* entérotoxigène (ETEC)** : ETEC est une cause courante de diarrhée du voyageur chez les personnes qui visitent les régions en développement du monde. Les symptômes incluent la diarrhée, les crampes abdominales, la nausée et la fièvre (Garrity, 2005).
- ***E. coli* entérohémorragique (EHEC)** : EHEC est une souche pathogène d'*E. coli* qui peut causer une maladie appelée syndrome hémolytique et urémique (SHU). Les symptômes incluent la diarrhée sanglante, les crampes abdominales, la fièvre et l'anémie. Le SHU peut entraîner des complications graves, telles que des dommages rénaux permanents (Garrity, 2005).
- ***E. coli* uropathogène (UPEC)** : UPEC est une souche pathogène d'*E. coli* qui est la cause la plus courante d'infections urinaires chez les femmes. Les symptômes incluent des douleurs ou des brûlures lors de la miction, des envies fréquentes d'uriner et des douleurs abdominales (Garrity, 2005).

- ***E. coli entéropathogène (EPEC)*** : EPEC est une souche pathogène d'*E. coli* qui peut causer une diarrhée infantile sévère chez les nourrissons. Les symptômes incluent la diarrhée aqueuse, la fièvre, les vomissements et la déshydratation (**Garrity, 2005**).

10.2. Salmonella

Est une bactérie pathogène responsable de diverses maladies chez les humains et les animaux, notamment la fièvre typhoïde, la gastro-entérite, la septicémie et d'autres infections graves. Il existe plus de 2 600 sérotypes différents de *Salmonella*, mais les deux principaux sérotypes responsables d'infections chez les humains sont *Salmonella enterica serovar Typhi* (*S. Typhi*) et *Salmonella enterica serovar Enteritidis* (*S. Enteritidis*) (**Ryan et al., 2015**).

- ***S. Typhi*** : est la principale cause de fièvre typhoïde, une maladie grave qui se manifeste par une forte fièvre, des maux de tête, des douleurs abdominales, une diarrhée et parfois des éruptions cutanées. Cette souche de *Salmonella* est transmise par l'eau ou les aliments contaminés, souvent dans des régions où les normes d'hygiène sont faibles. La fièvre typhoïde est rare dans les pays développés grâce à des mesures préventives efficaces telles que la vaccination, les tests de dépistage et le traitement des patients (**Mandell et al., 2015**).
- ***S. Enteritidis*** : est une cause fréquente de gastro-entérite chez les humains, qui se manifeste par des nausées, des vomissements, de la diarrhée, de la fièvre et des douleurs abdominales. Cette souche de *Salmonella* est souvent transmise par des aliments contaminés, en particulier les œufs, les viandes et les produits laitiers, ainsi que par la contamination croisée des aliments lors de la préparation des repas (**Barrow et al., 1993**).

Il existe également d'autres souches de *Salmonella* qui peuvent provoquer des infections chez les humains, comme *Salmonella Newport*, *Salmonella Heidelberg*, *Salmonella Javiana*, etc. (**Barrow et al., 1993**).

10.3. Klebsiella

Les infections les plus courantes causées par *Klebsiella* sont les infections des voies urinaires, les infections pulmonaires, les infections des plaies et des brûlures, ainsi que les infections sanguines, également connues sous le nom de septicémies. Les patients atteints de maladies chroniques telles que le diabète, le cancer ou les maladies cardiaques sont plus

susceptibles de contracter une infection à *Klebsiella* (Pomakova *et al.*, 2012 ; Lin *et al.*, 2021).

- ***Klebsiella pneumoniae*** : est l'une des souches pathogènes les plus courantes. Elle est responsable de diverses infections, notamment les infections nosocomiales, les infections pulmonaires, les infections urinaires, les infections des plaies et des brûlures, ainsi que les infections sanguines. Cette souche de *Klebsiella* peut également causer une infection appelée pneumonie de Friedländer, qui se caractérise par des crachats épais et visqueux, une toux persistante et une fièvre élevée (Pomakova *et al.*, 2012 ; Lin *et al.*, 2021).
- ***Klebsiella oxytoca*** : est une autre souche pathogène qui peut causer des infections nosocomiales, notamment des infections des voies urinaires et des infections sanguines. Elle est également associée à des infections de la plaie et des brûlures chez les patients hospitalisés (Pomakova *et al.*, 2012 ; Lin *et al.*, 2021).

10.4. Proteus- Providencia

Les bactéries *Proteus* et *Providencia* sont des hôtes naturels du système digestif chez les humains et les animaux. Cependant, certaines souches pathogènes peuvent provoquer diverses infections telles que des entérites, des cystites, des otites moyennes et des méningites. De plus, ces bactéries ont la capacité de développer rapidement des traits de résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques, ce qui explique leur choix fréquent dans le tractus gastro-intestinal des patients sous antibiothérapie (Berche *et al.*, 1988).

11. Infections urinaires

L'infection urinaire (IU) correspond à l'agression d'un tissu de l'arbre urinaire par un ou plusieurs micro-organismes générant une réponse inflammatoire et des symptômes de nature et d'intensité variable selon le terrain. Le germe le plus en cause est *Escherichia coli* (*E. coli*), en particulier dans les infections communautaires. L'importance de cette pathologie tient de sa fréquence qui en fait, après les infections respiratoires, la deuxième indication de prescription d'antibiotiques. Malheureusement, la fréquence de plus en plus élevée à travers le monde de la résistance bactérienne aux antibiotiques complique la conduite thérapeutique de cette pathologie, et justifie une surveillance régionale périodique de l'efficacité de ces médicaments (Benhiba *et al.*, 2015).

Le diagnostic d'IU repose sur l'examen cytbactériologique des urines (ECBU). Seule la présence de germes dans des urines récoltées stérilement signe le diagnostic d'IU (**Iacobelli et al., 2009**).

De nombreux micro-organisme peuvent infecter les voies urinaires, mais les agents les plus fréquents sont : *E. coli* qui est majoritaire (70-95%), *Staphylococcus saprophyticus* (5%).

Les autres germes comme : *Klebsiella*, *Proteus* ou les *entérocoques*, *Staphylocoque* doré sont rares, les levures sont identifiées à 2% et retrouvés essentiellement chez les patients immunodéprimés (**Lobel et Soussy, 2007**).

Dans certaines circonstances des levures représentent une infection réelle des voies urinaire, les deux principaux organismes pathogènes sont *le Candida albicans* et plus rarement *le Candida tropicalis*. Ce type de champignon ou levure se rencontre habituellement chez des malades sondés et ayant reçu une antibiothérapie prolongée (**Chartier, 2002**).

11.1. Définition des infections urinaires

L'IU est une agression par un ou plusieurs microorganismes de tout ou partie de l'arbre urinaire qui génèrent une réaction inflammatoire et des manifestations cliniques. Elle se définit donc par des signes cliniques évocateurs et l'existence d'une bactériurie et d'une leucocyturie considérées comme significatives (**Raghu, 2016**).

11.2. Appareil urinaire

L'appareil urinaire c'est l'ensemble des organes qui permettent d'éliminer les déchets liquides de l'organisme sous forme d'urine et ceci après une filtration, et ce, afin de réguler la composition chimique, le volume, et la balance électrolytique du sang, et participe au maintien de l'équilibre acido-basique de l'organisme. L'urine qui est fabriquée par les reins va être transportée par les uretères vers la vessie où elle est stockée.

La miction permet l'évacuation de l'urine de la vessie, qui passe par l'urètre en débouchant sur le méat urinaire (**Figure 18**) (**Luce, 2006**).

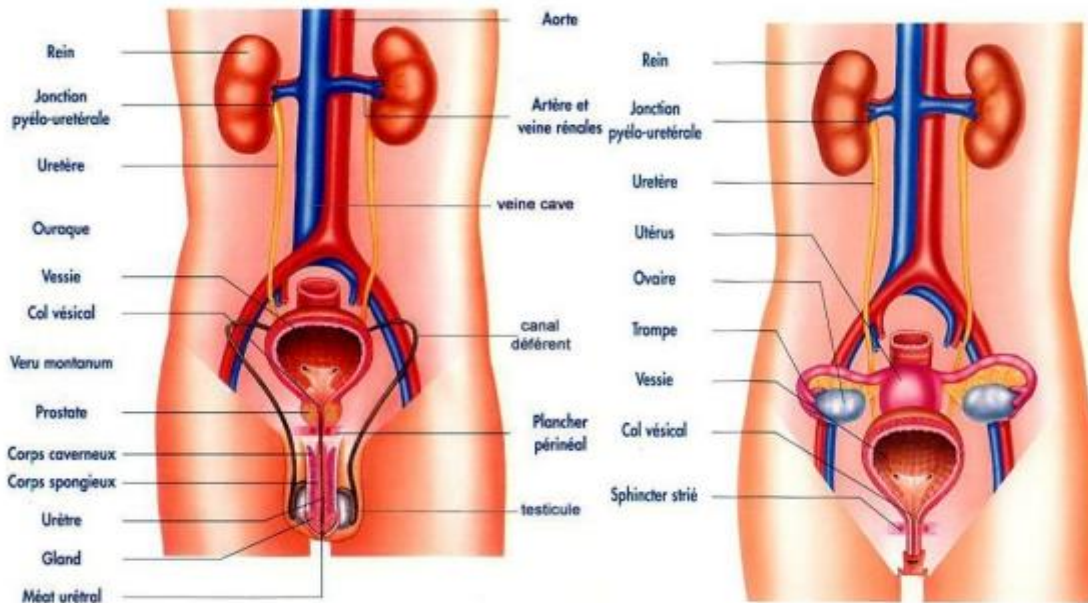


Figure 18 : Appareil urinaire de l'homme et de femme (Dougnon, 2011)

11.2.1. Éléments du système urinaire

Le système urinaire est constitué par un haut appareil urinaire (reins, urètre), et un bas appareil urinaire (vessie, urètre) (Nevers, 2017).

- **Reins**

Sont deux glandes en forme d'haricot de chaque côté de la colonne vertébrale, qui assure de nombreuses fonctions comme l'élimination des déchets de l'organisme (urée, créatine, acide urique) et des substances chimiques exogènes (toxiques, médicaments). Ils assurent aussi l'équilibration des sels minéraux et de l'acidité sanguine (Brizon, 1998 ; Nevers, 2017).

- **Uretères**

Sont deux conduits qui relient chaque rein à la vessie ; ils assurent le transport des urines vers la vessie (Brizon, 1998 ; Marieb, 2008).

- **Vessie**

La vessie est une poche rétractile musculo-membraneux, très élastique et extensible, elle a un rôle principal qu'est l'accumulation et le stockage de l'urine temporairement dans

l'intervalle des mictions, leur capacité est variable 500 ml en moyenne ; cette poche est fermée par un muscle en forme d'anneau appelée Sphincter, qui commande l'ouverture et la fermeture de la vessie (Lansnier *et al.*, 2002 ; Prygiel, 2012).

- **Urètre**

L'urètre est un canal qui permet l'expulsion de l'urine vers la vessie puis vers l'extérieur du corps humain ; sa position et sa longueur sont différentes chez les deux sexes, il est très court chez la femme contrairement à l'homme où il joue une double fonction : l'extraction des spermatozoïdes et l'urine à la fois (Lansnier *et al.* 2002 ; lamare, 2015).

11.3. Origine des infections urinaires

11.3.1. Infections endogènes

Les infections endogènes ou auto-infections sont celles où le malade fait une infection à ses propres germes qui sont souvent d'origine digestive et dont le risque est d'autant plus important lorsqu'il existe une incontinence anale ou une diarrhée, ou au décours d'une procédure invasive de soins (sondage vésical, cathétérisme...), ou en raison d'une fragilité particulière. Ces cas ne peuvent qu'être majorés au cours de l'alitement à l'hôpital du fait de l'immobilisation et de la situation de dépendance du patient (**Ait Miloud, 2011**).

11.3.2. Infections exogènes

Les infections d'origine exogène sont celles où le malade fait une infection à partir d'un germe qui lui a été transmis soit par manuportage (via le personnel de soins ou plus rarement, directement d'un patient à un autre), soit par du matériel ou des instruments mal désinfectés, ou bien par l'environnement hospitalier (eau, air, surface, alimentation...). En réalité, la majorité de ces infections sont évitables (**Ait Miloud, 2011**).

11.4. Mécanisme de l'infection urinaire

L'appareil urinaire est un système clos, normalement stérile et protégé par des moyens de défense efficaces contre les pathogènes. La pénétration des germes se fait par voie canalaire plus souvent qu'hématogène ou lymphatique (**Lobel *et al.*, 2007**).

11.4.1. Infections communautaires

L'arbre urinaire est normalement stérile, seulement les derniers centimètres de l'urètre qui sont colonisée par une flore multiple, digestive, cutanée ou génitale (Lobel, 2007).

Les germes atteignent l'appareil par différentes voies : principalement la voie ascendante, mais peut être par une voie hématogène ou lymphatique ou par extension à partir d'un autre organe (Lobel, 2007).

11.4.1.1. Voie ascendante

L'infection par voie ascendante à point de départ urétral est la cause la plus fréquente de l'infection urogénitale de l'homme et de l'IU de la femme Il s'agit d'une contamination spontanée. La flore fécale étant la source habituelle des germes, les bactéries d'origine intestinale colonisent la région périnéale, la cavité vaginale et la partie distale de l'urètre. (Ait Moloud, 2011).

Les germes pénètrent dans l'urètre, et remontent jusqu'à la vessie s'il peut surmonter les mécanismes de défense et causer une cystite. Parfois il peut également atteindre les voies urinaires hautes (uretère, rein) en cas de l'absence d'une réponse immunitaire de l'hôte et la présence des facteurs de risques. Les IU cause par cette voie peut-être des infections iatrogènes (liées à la pose urinaire de sonde), des infections spontanées (à partir de flore périnéale) ou à cause d'examen endovésical (Lobel, 2007).

11.4.1.2. Voie hématique

Cette voie moins fréquente, due à une pénétration des bactéries dans la circulation sanguine qui atteint la vessie et le rein au cours des maladies chronique (la tuberculose, les abcès de rein et les abcès périnéaux) (Lobel, 2007).

11.4.1.3. Voie lymphatique

Cette voie est rare, les germes atteignent la vessie et la prostate par les lymphatiques du rectum et du colon chez le sexe féminin, et les voies urogénitales par les lymphatiques utérins (Perronne, 1999 ; Lobel, 2007).

11.4.1.4. Extension à partir d'un autre organe

L'extension directe des germes provienne à partir des abcès intra péritonéaux vers l'appareil urinaire (suppuration pelvienne aigue chez la femme) (**Johnson, 1991 ; Sekhsokh et al., 2008**).

11.4.2. Infection nosocomiale

L'infection urinaire représente environ 40% des infections nosocomiales, ce sont un grand problème de la santé publique acquise dans une structure de soin au cours de l'hospitalisation ou la période qui la suite, ou en manière plus générale reliée à la prise en charge du patient en cause des germes nosocomiaux principalement endogènes (flore de patient) (**Ait Miloud, 2011**).

11.5. Germes causant les infections urinaires

Les germes responsables de l'infection urinaire appartiennent souvent à la flore bactérienne naturelle (**Tableau 18**). Il existe trois types en cause : les germes d'origines intestinales, comme les colibacilles (surtout *Escherichia coli* qui reste la principale bactérie responsable des IU dans 80% des cas), les germes existant sur la peau (comme le staphylocoque), et les germes vaginaux (**Mohammedi, 2013**).

Tableau 7 : Principales espèces bactériennes responsables de l'infection urinaire.
(Pourrat et Guibert,1993)

Espèces Bactériennes	Origines	Rôle infectieux	Types d'IU
Entérobactéries	<i>E. coli</i> <i>Proteus mirabilis.</i> <i>Providencia.</i> <i>Klebsiella.</i> <i>Enterobacter.</i> <i>Serratia.</i>	Iléon terminal, colon Voies génitales basses, urètre antérieur. Environnement hospitalier	C, BA, PN, P. C, BA, PN. BA, PN, P.
Cocci à Gram Positif	Enterocoques. Streptocoques du groupe D.	Iléon terminal, colon Voies génitales basses L'urètre antérieur et postérieur	C, BA, PN.
	Staphylocoques : <i>S.aureus,</i> <i>S.epidermidis,</i> <i>S.saprophytica</i>	Voies génitales basses Urètre antérieur Peau (commensaux) Environnement hospitalier	C, BA, PN.
Bacilles à Gram Négatif aérobie	<i>Pseudomonas</i>	Environnement hospitalier	C, BP.

C : cystite ; **BA** : bactériurie asymptomatique ; **PN** : pyélonéphrite ; **P** : prostate

Partie pratique

Matériel et Méthodes

4. Matériel et Méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire d'analyse bactériologique de l'hôpital maghlaoui de la wilaya de Mila ; durant une période de 15 jours, allant du 12/02/2023 au 26/02/2023. Les échantillons pathologiques, provenant de sujet d'âge et de sexes différents hospitalisés, ont été collectés sur 93 patients (**Tableau 08**). Les prélèvements sont accompagnés d'une fiche de renseignements qui comporte : nom, prénom, âge, sexe, service.

L'objectif principal de cette étude est de détecter les germes causals des infections urinaires et d'évaluer leur résistance aux antibiotiques.

Tableau 8 : Distribution d'échantillons étudié selon le sexe et le service

Service	Maternité	Pédiatrie	Médecine interne		Total
Sexe	Femmes	Enfants	Femmes	Hommes	/
Nombre de prélèvements	50	15	9	19	93
Effectifs %	53.76%	16.12%	9.67%	20.43%	100%

Les conditions de recueil de l'urine doivent être optimales pour que le résultat de l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) soit fiable ; la qualité du prélèvement conditionne la qualité et l'interprétation de l'examen

1. Prélèvement des urines

Les urines, doivent être recueillies de façon à éviter sa contamination par la flore commensale de l'urètre et, chez la femme, de la région génitale externe.

-Le prélèvement doit de préférence être réalisé au moins 4h après la miction précédente, afin de permettre une stase suffisamment longue dans la vessie.

-Se laver les mains avec une solution hydro-alcoolique

-Réaliser une toilette soignée au savon de la région vulvaire chez la femme ou du méat urinaire chez l'homme.

-Rincer à l'eau puis réaliser une antiseptie de la zone uro-génitale à l'aide d'une compresse stérile imbibée d'antiseptique. Essuyer l'excès d'antiseptique à l'aide d'une compresse stérile.

-Éliminer le premier jet (20 ml) d'urines pour ne recueillir dans le flacon stérile à bouchon bleu que les 20-30 ml suivants en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du récipient.

-Recueillir les urines dans le flacon stérile. Fermer hermétiquement le flacon et nettoyer l'extérieur du pot.

-Identifier le tube et le porter immédiatement au laboratoire accompagné de sa prescription et de l'heure de prélèvement.

2. Transport et conservation

- Elle doit être acheminée rapidement au laboratoire.
- Elle ne doit pas rester plus de 2 heures à température ambiante.

3. Méthodes

3.1. Examen macroscopique (direct)

L'examen macroscopique commence par une homogénéisation du tube par retournement, ensuite l'aspect de l'urine est noté comme suit :

- Trouble /légèrement trouble /clair.
- Odeur
- Couleur (majoritairement des urines va du jaune-vert au rouge brun) (**Figure19**)

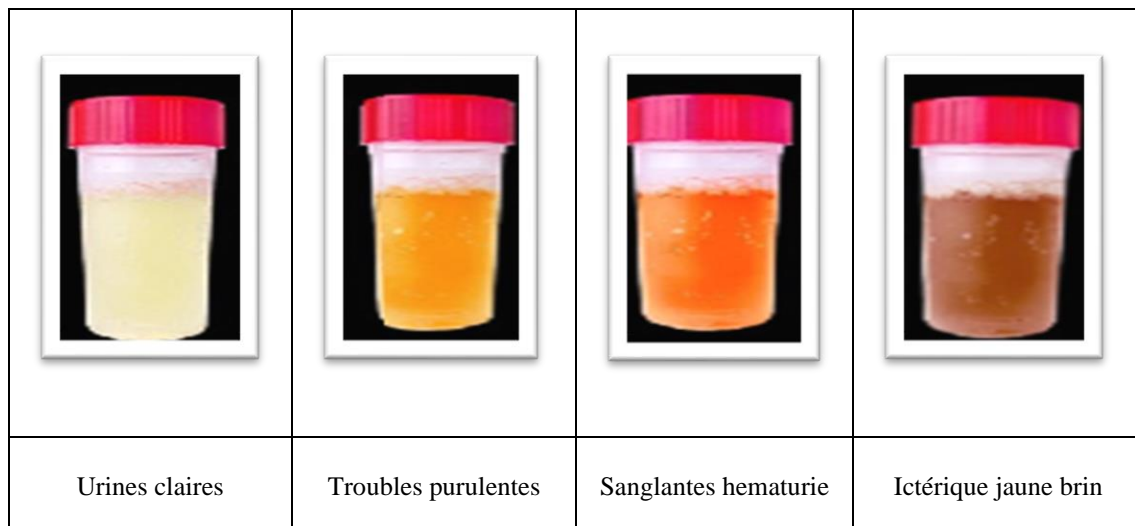


Figure 19 : Prélèvements urinaires

3.2. Chimie des urines (bandelette urinaire)

La chimie des urines est un test d'orientation réalisé par bandelettes réactives qui permettent une détection rapide des changements de multiples paramètres biologiques facilitant ainsi le diagnostic (Moulin et Peraldi, 2016).

Il s'agit d'une languette comportant plusieurs carrées de papier buvard imprégnés de réactifs changeant de couleur en fonction de la présence de certains composants dans l'urine.

Les bandelettes réactives détectent :

- Le leucocyte estérase produite par les polynucléaires neutrophiles présents dans l'urine ; le seuil de sensibilité est de 10^4 leucocytes /ml.
- Les nitrites qui témoignent de la présence de bactérie, essentiellement les entérobactéries, qui expriment une nitrate réductase capable de transformer les nitrates en nitrites ; le seuil de détection des nitrites est assez élevé, correspondant très approximativement à 10^5 unités formant colonie (UFC) /ml (plus bas sur certaines bandelettes urinaires) ceci explique donc que les nitrites puissent être absents en cas de faible bactériurie.
- Le pH urinaire est acide ; donc une variation vers l'alcalinisation indique une croissance bactérienne
- Les protéines qui révèlent un dysfonctionnement rénal
- Le glucose

La bandelette urinaire ne peut pas être utilisée pour le dépistage d'une bactériurie chez un patient porteur de sonde par contre son utilisation chez des patients non sondé reste une méthode fiable sous réserve de respect des conditions d'utilisation de la bandelette.

Si tous ces résultats sont négatifs, la probabilité d'une infection urinaire est très faible. La bandelette peut être définie comme un support plastique rigide sur lequel sont fixées les zones réactives distinctes.

Son principe est la détection dans les urines des substances dont la présence est pathologique. La présence se révèle par une modification de la couleur de la zone réactive correspondant à ce paramètre.

L'interprétation des résultats est basée sur le changement des couleurs par comparaison avec celle donnée par le fabricant.

▪ **Mode d'utilisation**

La bandelette doit être trempée dans l'urine fraîchement émise (**Figure 20**), dans un récipient propre mais pas nécessairement stérile ; on laisse agir quelques secondes puis on lit en comparant les carrés de papier buvard imprégnés avec l'échelle colorimétrique (tableau 02 et annexe 1).

Tableau 9 : Le temps de lectures des paramètres analysés par les bandelettes urinaires

Temps de lecture	30 secondes	40-45 secondes	60 secondes	120 secondes
Paramètres	ASC, GLU, BIL	KET, SG	BLO, PH, PRO, URO, NIT	LEU

ASC: Acide ascorbique ; **GLU:** Glucose ; **BIL:** Bilirubine ; **KET:** Cétone ; **SG :** Densité ; **BLO:** Sang ;

PRO: Protéine; **URO:** Urobilinogène; **NIT:** Nitrite; **LEU:** Leucocytes



Figure 20 : Utilisation des bandelettes réactives

4. Examen cytobactériologique des urines

4.1. Examen cytologique

- **Observation microscopique à l'état frais**

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon de l'urine, une goutte est déposée à l'aide d'une pipette Pasteur au centre d'une lame de verre propre, puis une lamelle est placée au-dessus, l'observation est faite au microscope à l'objectif $\times 40$.

Cet examen permet d'observer et d'apprécier plusieurs éléments présents dans les urines tels que : les leucocytes, les hématies, les cellules épithéliales, les formes anormales « cristaux », ainsi que la présence ou l'absence des cellules bactériennes, la mobilité, la forme et disposition bactérienne.

4.2. Examen quantitatif « Dénombrement »

Sur urine homogénéisée : Numération des leucocytes, les hématies, les leucocytes et les bactéries sur cellule Malassez (Ou à défaut de ces cellules (entre lame et lamelle)).

4.2.1. Description de cellule Malassez (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2012).

La cellule de Malassez ou encore hématimètre de Malassez (**Figure 21**) est une lame de verre creusée selon des dimensions bien précises, elle est composée de 100 rectangles dont 25 sont quadrillés. Elle permet de faire la numération d'éléments, essentiellement des cellules dans un volume de 1mm^3 soit $1\ \mu\text{L}$.

Le quadrillage est divisé en 10 bandes, que l'on aille dans le sens horizontal ou vertical. 5 de ces bandes sont subdivisées en bandes plus petites. Et les cinq autres ne le sont pas. C'est pourquoi les bandes, divisées ou non, ont un volume de $1/10 \text{ mm}^3$.

Le quadrillage en lui-même est également divisé en 100 petits rectangles dont 50 sur 100 sont subdivisés en 20 petits carrés. C'est pourquoi les rectangles ont chacun un volume de $1/100 \text{ mm}^3$. Qu'ils soient subdivisés ou pas.



Figure 21 : Lame de Malassez

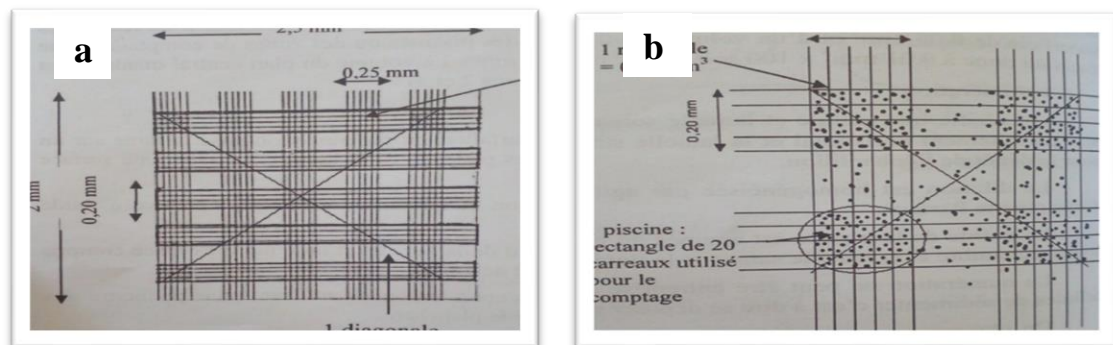


Figure 22 : a) Hématimètre comporte 25 chambres ; b) Quadrillage de l'hématimètre

4.2.2. Numération (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2012)

Il s'agit tout simplement de mettre l'échantillon à diluer entre une lamelle et le quadrillage de la cellule de Malassez.

S'il est nécessaire de diluer l'échantillon dont nous voulons compter les éléments, il faudra tenir compte du facteur de dilution au moment du calcul du nombre de ces éléments.

- On vérifie que cellule et lamelle soient parfaitement propres et on pose la cellule sur une surface plane et la lamelle sur les plateaux de la lame, en laissant un espace pour le dépôt de l'échantillon.
- Poser la lamelle sur le quadrillage car lorsqu'on va mettre la suspension, celle-ci va faire adhérer la lamelle à la cellule.
- Remettre en suspension les cellules à compter.
- Grâce à une pipette Pasteur ou une micropipette, déposer une goutte de la suspension entre la lamelle et la cellule. Le liquide va entrer par capillarité dans l'espace entre l'espace entre la cellule et la lamelle.
- Attendre que les éléments sédimentent pendant au moins 5 minutes avant de réaliser le comptage.
- On observe au faible grossissement, en faisant une mise au point pour distinguer le quadrillage, puis on passe au grossissement plus fort.
- On observe : hématies, leucocytes, bactéries, levures, les cellule épithéliales, parasites et cristaux. Est calculer le nombre moyen de cellule par case.
- Les règles de comptage stipulent qu'il faut compter les cellules qui se trouvent à l'intérieur du quadrillage et uniquement celles qui sont sur les lignes supérieures et gauches.

La formule veut que nous comptions dans 5 bandes subdivisées par exemple, ou pas et nous faisons la moyenne par bande. Puis il faudra multiplier cette moyenne par 10 et par l'inverse de notre facteur de dilution. Ainsi nous trouvons la numération par mm^3 .

$$n = N/b \times 10 \times d$$

- **n** : nombre d'éléments par mm^3 ;
- **d** : coefficient de dilution (inverse du facteur de dilution),
- **N** : nombre d'éléments comptés dans les bandes

- **b** : nombre de bandes dans lesquelles on a compté

4.3. Etude bactériologique

L'examen cytobactériologique des urines permet d'affirmer le diagnostic d'infection urinaire qui signifie la présence ou l'absence des germes dans les urines.

La manipulation de l'échantillon s'effectue à proximité du bec bunsen à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, cela en déchargeant en stries serrées l'échantillon sur toute la surface du milieu gélosé préalablement coulé en boîte de Pétri. L'ensemencement est réalisé selon la technique des quadrants de façon à isoler les colonies. Les boîtes ainsi ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24h excepté les boîtes de gélose au sang frais et au sang cuit qui sont incubés en étuve en atmosphère enrichie en CO₂ (anaérobiose).

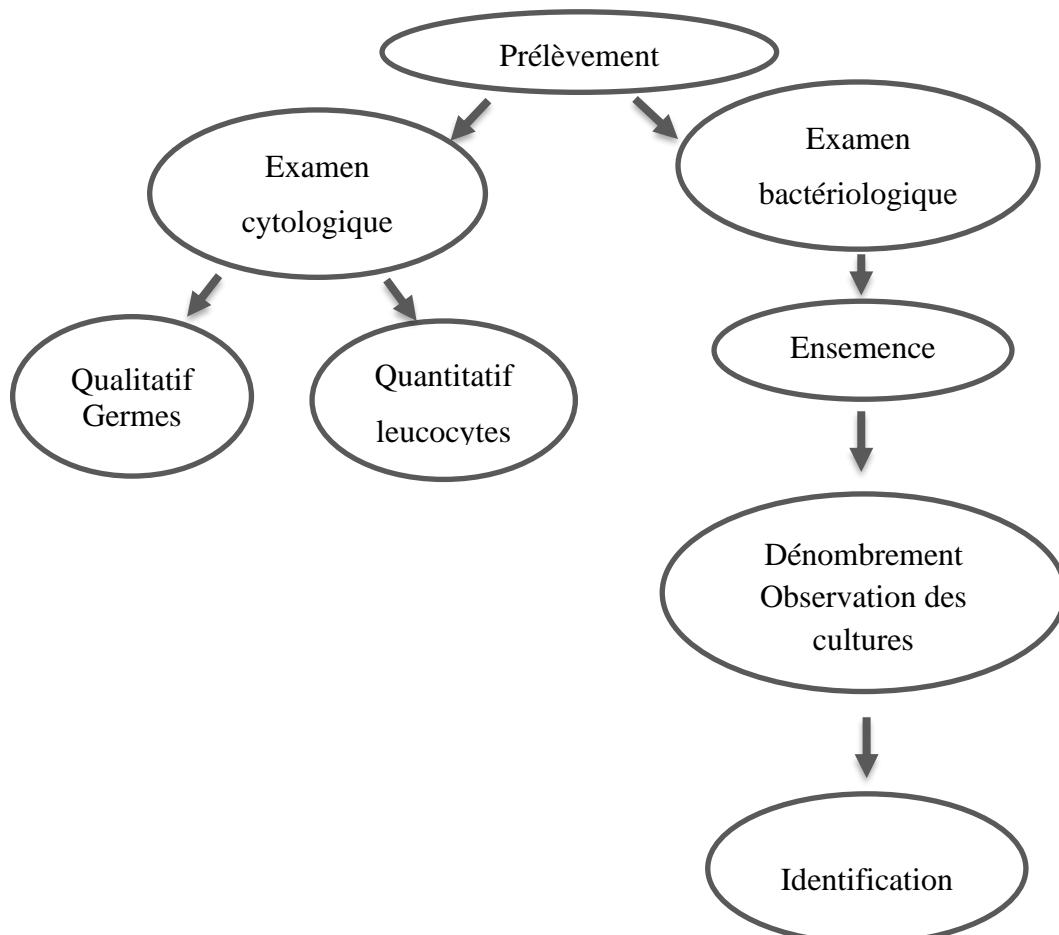


Figure 23 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'ECBU (Remic, 1998)

4.3.1. Observation microscopique après coloration de Gram

Elle nécessite d'avoir un frottis fixé, plus classiquement en effectuant une fixation simple à la chaleur sur une lame, déposer une goutte d'eau stérile (ou directement le

prélèvement s'il est liquide). Ajouter à la goutte une colonie isolée (dans le cas où un isolement a été fait). Étaler et fixer à la chaleur d'un bec bunsen à environ 40 °C. Poser la lame séchée sur le portoir reposant sur un bac de coloration.

Voici succinctement les différentes étapes de cette coloration (**Figure 24**) :

- 1). Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute, puis rincez à l'eau ;
- 2). Mordançage au lugol (solution iodo-iodurée) : recouvrez de lugol et laissez agir le même temps que le violet de gentiane ; rincez à l'eau ;
- 3). Décoloration (rapide) à l'alcool ; cette l'étape est la plus importante de la coloration. Verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration qui doit être rapide. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincez abondamment avec de l'eau déminéralisée pour stopper la décoloration. Attention, l'utilisation abusive de l'alcool aura pour conséquence de rendre toutes les bactéries Gram négatif ;
- 4). Recoloration à la safranine ou à la fuchsine. Mettez de l'eau distillée sur la lame et quelques gouttes de fuchsine. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute. Lavez doucement à l'eau. Séchez la lame sur une platine chauffante à 50 °C ;
- 5). Observez avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$).

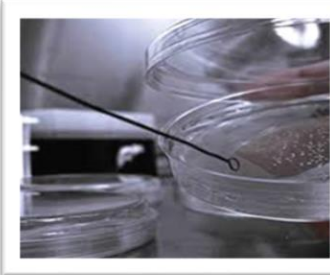





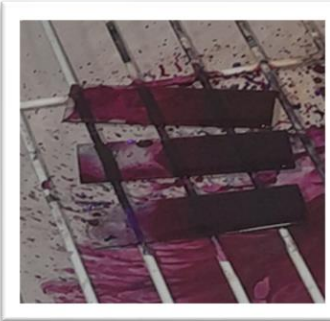

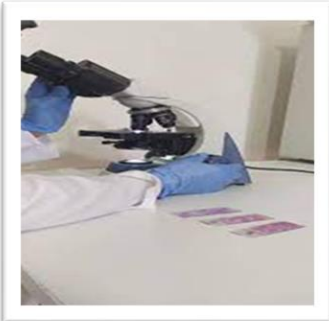
		
<p>Colonie bactérienne</p>	<p>Dilution</p>	<p>Fixation du frottis</p>
		
<p>Coloration avec le violet de gentiane</p>	<p>Recouvrir avec Lugol</p>	<p>Rinçage avec l'alcool</p>
		
<p>Recouvrir de la Fuschine</p>	<p>Lavage</p>	<p>Observation microscopique</p>

Figure 24 : Etapes de la coloration de Gram

Les bactéries à Gram négative sont colorées en rose. Les bactéries à Gram positive sont colorées en violet (**Figure 25**). La coloration de Gram détermine le choix des milieux de culture et d'identification.

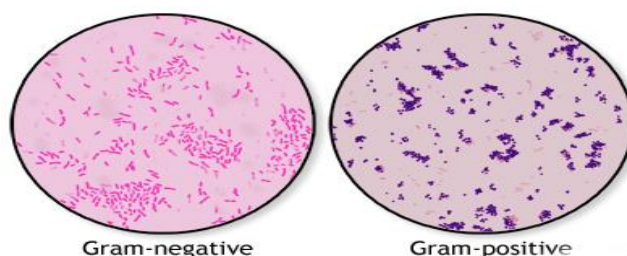


Figure 25 : Différence entre Gram positive (violet) et Gram négative (rose)

4.3.2. Coulage du milieu de culture gélosé en boîtes de Pétri (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2012)

De nombreux milieux de culture doivent être pour leur utilisation, coulés en couche mince au fond des boîtes de pétri (**Figure 26**). Le délai de conservation des milieux ainsi présence n'excède pas trois aux quatre jours, aussi leur répartition doit-elle précéder de peu leur emploi.

- Débloquer éventuellement le bouchon du flacon contenant le milieu gélosé en surfusion (45°C-50°C).
- Tenir le flacon obliquement et on l'ouvre dans le périmètre de stérilité en maintenant le bouchon contre la paume de la main droite avec le petit doigt pour éviter de le poser sur la paillasse.
- Entrouvrir la boîte de Pétri à couler, placée à gauche du bec bunsen, avec la main gauche.
- Passer l'ouverture du flacon dans la flamme du bec bunsen et on verse entre 10 et 20 ml du milieu fondu dans la boîte de manière à couvrir le fond.
- Laisser la boîte à moitié ouverte en direction de la flamme pendant quelques instants pour permettre l'évacuation de la vapeur d'eau. On passe l'ouverture du flacon dans la flamme du bec bunsen une deuxième fois, puis on coule les boîtes suivantes de la même manière avant de fermer le flacon définitivement.

- Déplacer les boîtes par glissement doux sur une zone plus froide de la paillasse et on les referme dès qu'elles sont complètement solidifiées.
- Retourner les boîtes pour empêcher l'eau de condensation accumulée sous le couvercle de retomber sur le milieu. Leur stockage se fait dans cette position.
- Si les milieux doivent être utilisés immédiatement, on les fait sécher à l'étuve à 37°C.
- Enfin on ensemence les boîtes de pétri. Selon les techniques de l'ensemencement.



Figure 26 : Coulage des boîtes de Pétri

4.3.3. Ensemencement des urines

Avant chaque ensemencement une homogénéisation des tubes contenant l'urine est obligatoire, ensuite une mise en culture de l'urine par la méthode de l'anse calibrée est effectuée (**figure 27**). Cette technique est basée sur l'utilisation d'une anse calibrée à 10 μ l pour ensemencer les géloses nutritives (GN) et sélectives (Hektoen) ; le prélèvement de la goutte avec l'anse est fait verticalement. Une fois la goutte est prélevée un ensemencement par stries sur la boîte est effectué. Dans un premier temps une strie centrale est ensemencée puis perpendiculairement un isolement de haut en bas de la boîte est réalisé où les dernières stries sont légèrement desserrés. Une fois l'ensemencement est terminé, les boîtes de Pétri sont incubées à l'étuve réglée à 37°C/24 heures (**figure 28**) (**Djennane et al., 2009**) .

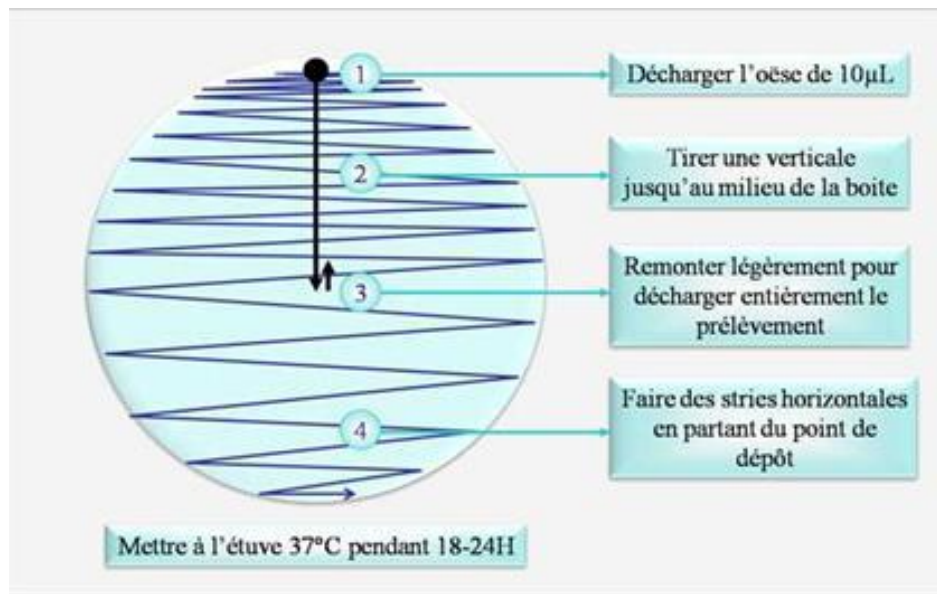


Figure 27 : Ensemencement d'une urine par la méthode de l'anse calibrée (Delsarte, 2010)

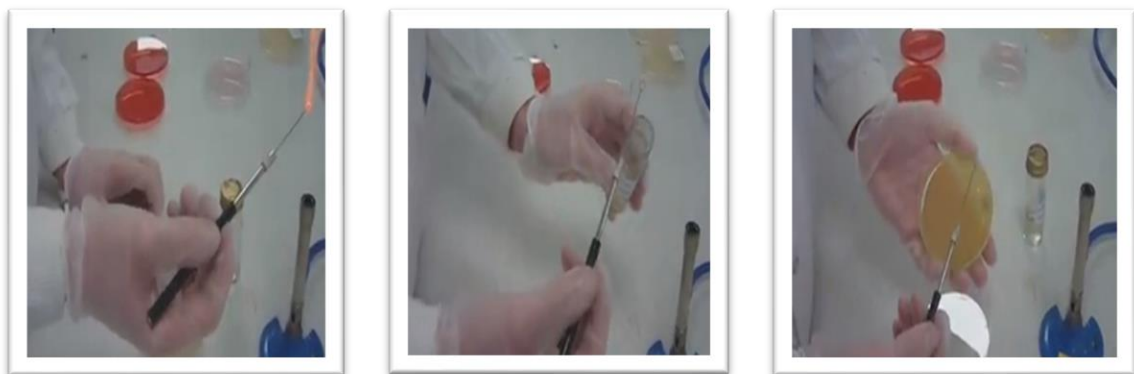


Figure 28 : Mise en culture (ensemencement)

Après incubation, quelques paramètres doivent être notés tels que : la présence ou l'absence des colonies, l'aspect des colonies, l'émission des pigments et le virement de couleur du milieu de culture (généralement à cause de la dégradation des sucres qui acidifie le milieu en présence d'un indicateur de pH).

L'observation macroscopique des cultures se fait en décrivant la forme et la taille des colonies, l'opacité et l'aspect de la surface, ainsi que la consistance et la pigmentation des colonies.





4.3.4. Identification bactérienne

L'identification de la bactérie est menée en fonction de la morphologie des colonies, et des premiers caractères biochimiques d'orientation, propres à chaque espèce (production d'une catalase, d'une oxydase, fermentation de certains sucres, etc.) (**Leroy *et al.*, 2004**).

4.3.4.1. Galerie biochimique (galerie classique)

L'identification des souches est réalisée par l'étude de quelques paramètres biochimiques sur différents milieux (**Tableau 11**).

Tableau 10 : Galerie biochimique utilisée

Milieu	Principe	Milieu avant l'ensemencement	Mode d'ensemencement	Lecture
TSI (milieu triple sucre)	Permet d'étudier la fermentation de trois sucres (glucose, lactose, saccharose), d'apprécier la production ou non de l'H ₂ S et de noter la production au non de gaz à partir du glucose.		La pente est ensemencée par des stries serrées et le culot par pique centrale à l'aide d'une pipette pasteur, incubation à 37°C pendant 18 à 24h. il est important de ne pas oublier de dévisser partiellement le bouchon afin de permettre les échanges gazeux.	-Fermentation (+) de lactose : virage au jaune de la pente. -fermentation (+) de saccharose : virage au jaune de le région médiane. -fermentation (+) de glucose : virage au jaune fond du tube. -production de gaz : présence de bulle d'air -production d'H ₂ S se traduit par un précipité noir.
Citrate de Simmons	Un milieu solide qui permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de Carbon et d'énergie.		L'ensemencement se fait à ensemencée par des stries serrées à la surface de la gélose. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24h.	-Virage de l'indicateur de pH du vert au bleu : il y a une alcalinisation du milieu et le test citrate (+) - pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y pas une alcalinisation : la souche est citrate (-).
Mannitol mobilité	C'est une gélose molle conditionnée en tube et qui permet simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité.		L'ensemencement se fait par pique centrale jusqu'au fond du tube à l'aide d'une pipette pasteur, incubation 37°C pendant 18 à 24h.	-Fermentation de mannitol positive : virage au jaune du milieu. -Présence d'une mobilité : diffusion de part et d'autre de la piquer centrale.
Urée indole	Il contient de l'urée comme seule source de carbone. Il permet la recherche de deux activités enzymatiques : l'uréase, et la production d'indole grâce à au tryptophane.		L'ensemencement se fait par l'ajout de quelques gouttes de la suspension bactérienne à l'urée après une incubation à 37°C pendant 24h on ajoute quelques gouttes de réactif de kovax après on fait la lecture des résultats.	-Production d'une uréase : coloration rose violette. -Production d'indole : apparition d'un anneau rouge à la surface.

4.3.4.2. Antibiogramme

L'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en gélose (méthode des disques), c'est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne *vis-à-vis* d'un ou plusieurs antibiotiques (Clsi-Ipa, 2014).

- **Principe**

C'est l'étude de la concentration minimale inhibitrice en milieu gélosé. Le principe de l'antibiogramme par diffusion permet de déterminer la sensibilité des bactéries à croissance rapide *vis-à-vis* d'une gamme d'antibiotique. Des disques d'antibiotique à tester sont disposés à la surface d'une gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée avec une culture pure de la souche à étudier. Dans l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque.

- **Préparation d'un inoculum**

L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18h sur milieu gélosé. Préparer une suspension d'une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de Mac Farland en prélevant si possible plusieurs colonies dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile.

- **Méthode d'ensemencement par écouvillon**

1). Plonger un écouvillon dans cette suspension et éliminer l'excès de liquide en tournant et pressant l'écouvillon contre la partie haute de la paroi du tube (la pression exercée est plus forte sur la partie haute sinon la tige de l'écouvillon se plie).

2). Ensemencer, en stries serrées, avec l'écouvillon, la totalité de la surface du milieu dans trois directions (faire tourner la boîte d'1/3 de tour entre chaque passage).

3). Déposer les disques avec un distributeur ou bien à la pince en s'assurant qu'ils sont bien plaqués contre la gélose.

4). Incuber à l'étuve à 37°C/ 24h en respectant les préconisations du CA-SFM : température et durée.

- **Application de disques d'antibiotique**

Placer les disques d'antibiotiques (**Tableau 11**) individuellement sur la gélose avec des pinces stériles (**Figure 29**). Ensuite laissées à température ambiante pendant 30 minutes pour permettre la diffusion de l'antibiotique dans la gélose puis incubées à 37°C/24 heures.



Figure 29 : Antibiogramme

Le **tableau 12** résume la liste des antibiotiques testés durant notre étude pour les différents groupes bactériens.

Tableau 11 : Antibiotiques utilisés

Antibiotiques Utilisés	Amoxicilline acide clavulanique (AUG)	Céfotaxime (CTX)	Céfazoline (Cz)	Ciprofloxacine (CIP)	Amikacine (Ak)	Triméthoprim +sulfamide (STX)
	acide nalidixique (NA)	Pénicilline (PC)	Chloramphénicol (C)	Tétracycline (TC)	Aztréonam (ATM)	Céfotaxime (CT)

- **Lecture**

La lecture se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition obtenu autour des disques d'antibiotique à l'aide d'une règle et les résultats sont exprimés en millimètre et les

comparer aux diamètres critiques (**Tableau 12**) fixés par le CA-SFM afin de déterminer la catégorie clinique :

-Sensible (S) :si le diamètre d'inhibition est inférieur au diamètre de la concentration critique.

-Intermédiaire (I) :le diamètre d'inhibition (correspondant à la CMI) supérieur au diamètre de la concentration critique.

-Résistante (R) :si le diamètre d'inhibition est compris entre les diamètres de concentrations critiques.

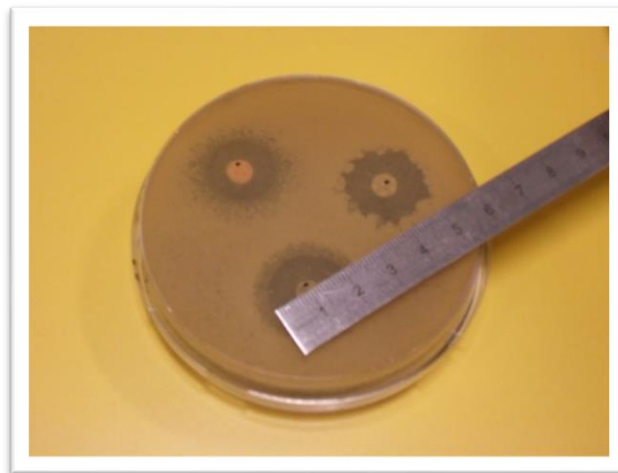


Figure 30 : Lecture de l'antibiogramme

Tableau 12 : Tableau des valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition pour les entérobactéries (Walliang, 2021)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)			CMI critiques (µg /ml)		
		R	I	S	R	I	S
Amoxicilline	10 µg	<13	14-16	>17	>32	16	<8
Amoxicilline + Acide Clavulanique	20/10 µg	<13	14-17	>18	>32 /16	16/8	<8/4
Céfazoline	30 µg	<19	20-22	>23	>8	4	<2
Céfoxitine	30 µg	<14	15-17	>18	>32	16	<8
Céfotaxime	30 µg	<22	23-25	>26	>32	16	<8
Imipénème	10 µg	<19	20-22	>23	>4	2	<1
Amikacine	10 µg	<14	15-16	>17	>64	32	<16
Gentamicine	10 µg	<12	13-14	>15	>16	8	<14
Acide nalidixique	30 µg	<13	14-18	>19	>32	/	<16
Ciprofloxacine	5 µg	<15	16-20	>21	>4	2	<1
Chloramphénicol	30 µg	<12	13-17	>32	>32	16	<8
Furane	300 µg	<14	15-16	>17	>128	64	<32
Fosfomycine	200 µg	<12	13-15	>16	>256	128	<64
Triméthoprim	1.25/23.75 µg	<10	11-15	>16	>4/76	/	<2/38

Résultats et Discussions

5. Résultats et Discussions

Le nombre de prélèvements reçus au niveau du laboratoire d'analyse médicale frères Maghlaoui (wilaya de Mila), durant la période d'étude qui est de 15 jours pendant le mois de Février 2023, était de 93 échantillons urinaires qui sont illustrés dans le (**Tableau 09**).

1. Etude biochimique (chimie des urines)

Ce test permet la recherche qualitative et semi quantitative de différents paramètres dans l'urine, comme les leucocytes qui sont un témoin de la réaction inflammatoires de l'hôte a l'infection (leucocyturie), et les nitrites qui est un signe de la présence de bactérie (bactériurie) (**Borghini et al., 2013**).

La lecture peut se faire visuellement en comparant la bandelette avec la gamme colorimétrique indiquée sur l'emballage (**Figure 31**).

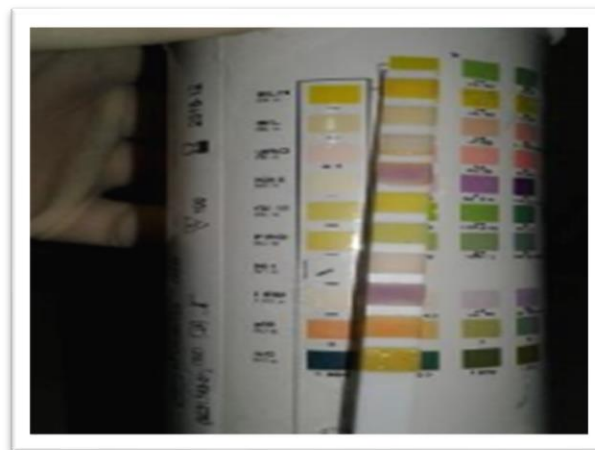


Figure 31 : Lecture du résultat d'un examen par bandelette urinaire

- Une bandelette urinaire (BU) est dite « négative » si elle ne montre ni leucocytes, ni nitrites ; chez la femme en absence d'immunodépression grave, une BU négative a une très bonne valeur prédictive négative ; chez l'homme une BU négative n'élimine pas le diagnostic.
- La bandelette est dite « positive » si elle détecte des nitrites et /ou des leucocytes ; chez la femme une BU positive suffit au diagnostic de cystite aigue simple ; chez l'homme une BU positive renforce le diagnostic d'infection urinaire mais doit être confirmé par un ECBU.

2. Examen macroscopique des urines

Dans les conditions normales l'urine est stérile est de couleur jaune clair, Cet aspect habituel peut varier en fonction de différentes circonstances, L'aspect macroscopique permet de donner une idée préliminaire.

Sur les échantillons analysés, deux types d'aspects macroscopiques ont été détectés : trouble et claire (**Figure 32**).

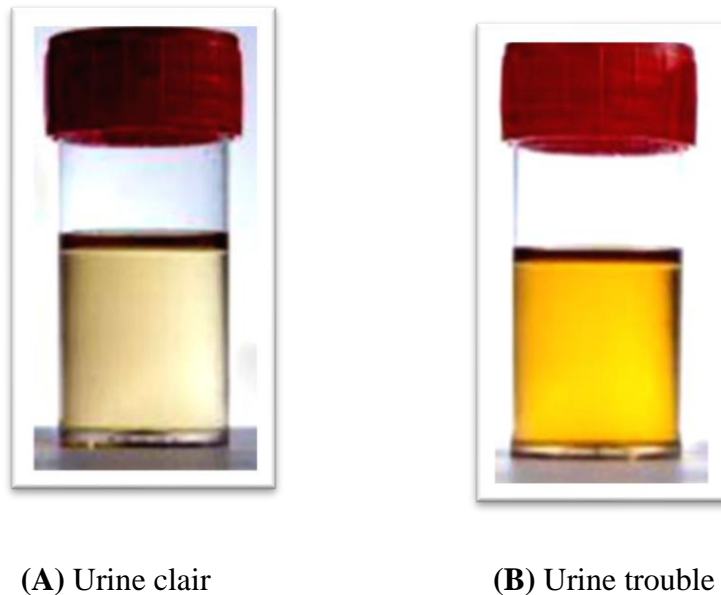


Figure 32 : Aspects macroscopiques des urines

- Urine claire : due à une bonne hydratation du patient ce qui indique souvent que la personne est en bonne santé.
- Urine légèrement trouble /trouble : est un symptôme et non une maladie. Elles ne traduisent d'ailleurs pas forcément un problème nécessitant un traitement ; elles peuvent êtres dues à une alimentation riche en phosphates (fromages, charcuteries, saucisses, etc.), tandis qu'elles peuvent être liées à une IU basse (cystite) ou bien une IU haute (pyélonéphrite).

3. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

L'Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) représente l'examen clé qui permet de poser le diagnostic de certitude de l'infection urinaire (en dehors d'un traitement antibiotique en cours) (**Benammar et al., 2021**).

3.1. Examen cytologique

- **Observation microscopique à l'état frais**

C'est une observation directe d'un échantillon au grossissement (400), dans le but de voir les éléments présents dans l'urine dans leurs morphologies d'origine, il permet l'observation de la mobilité bactérienne et la numération des leucocytes par exemple, avec une appréciation semi quantitatives (rares, peu nombreux, nombreux, très nombreux...), ou mieux quantitatives exprimées par nombre d'éléments/mm ou ml ou par champ.

Exemple d'utilisation de cellule de Malassez pour les urines (**Djrboua, 2018**).

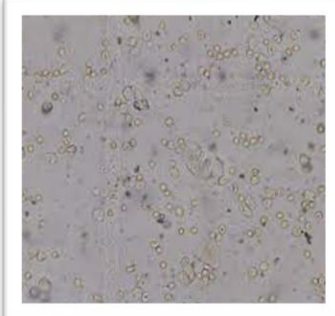
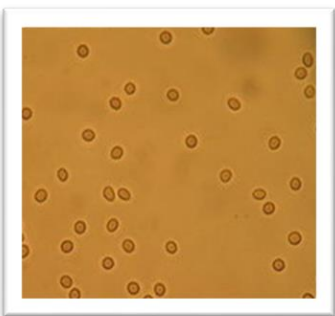
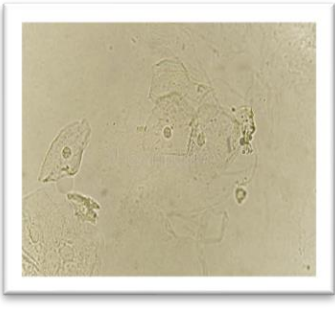
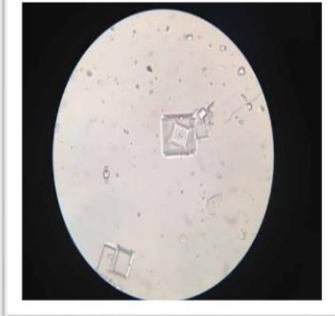
L'analyse microscopique des échantillons étudiés a permis de révéler la présence significative des leucocytes et des hématies ainsi que la présence de certains germes (bacilles) qui sont des signes d'IU.

D'autre part, la présence de cristaux semble être d'origines diverses mais pourrait être essentiellement liée à la prise de certains médicaments ou à la nature de l'alimentation.

La présence des cellules épithéliales est normale ; sont les cellules qui tapissent et protègent la paroi interne de la vessie. Elles sont évacuées par la miction. Dans notre étude, la présence des cellules épithéliales est observée aussi bien chez les sujets infectés que les sujets sains (**Figure 33**).

L'analyse cytologique à l'état frais à l'aide du microscope optique nous a permis d'observer et confirmer la présence ou l'absence de :

Tableau 13 : Résultat de l'examen cytologique

	Nombre de patients	Observation microscopiques	Interprétation
Leucocytes	24		La présence en grand nombre de leucocytes dans les urines est souvent le signe d'une infection urinaire caractérisée par la présence d'un agent pathogène. Si cet organisme est une bactérie, la leucocyturie s'accompagne alors d'une bactériurie
Hématies	13		Peut indiquer la présence d'une tumeur, d'une infection ou d'une inflammation.
Cellules épithéliales	15		Peut signifier qu'il y a une infection, une inflammation ou un cancer.
Cristaux	13		Les cristaux ne sont pas pathologiques lorsqu'ils sont constitués de substances présentes habituellement dans l'urine, comme l'acide oxalique, l'acide urique ou les sels de calcium. En revanche, les cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien peuvent révéler une infection urinaire causée par une bactérie uréasique

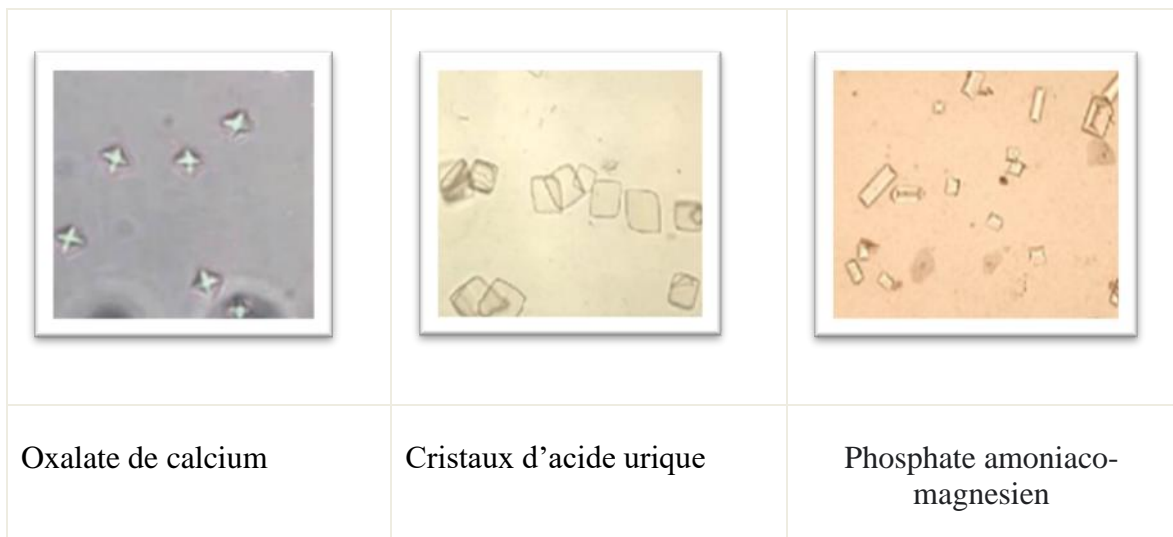


Figure 33 : Aspect de quelques cristaux sous microscope optique rencontrés chez quelques patients (microscope optique objectif X40)

La figure 34 montre le pourcentage de la présence des éléments cellulaires dans l'examen cytologique pour les ECBU.

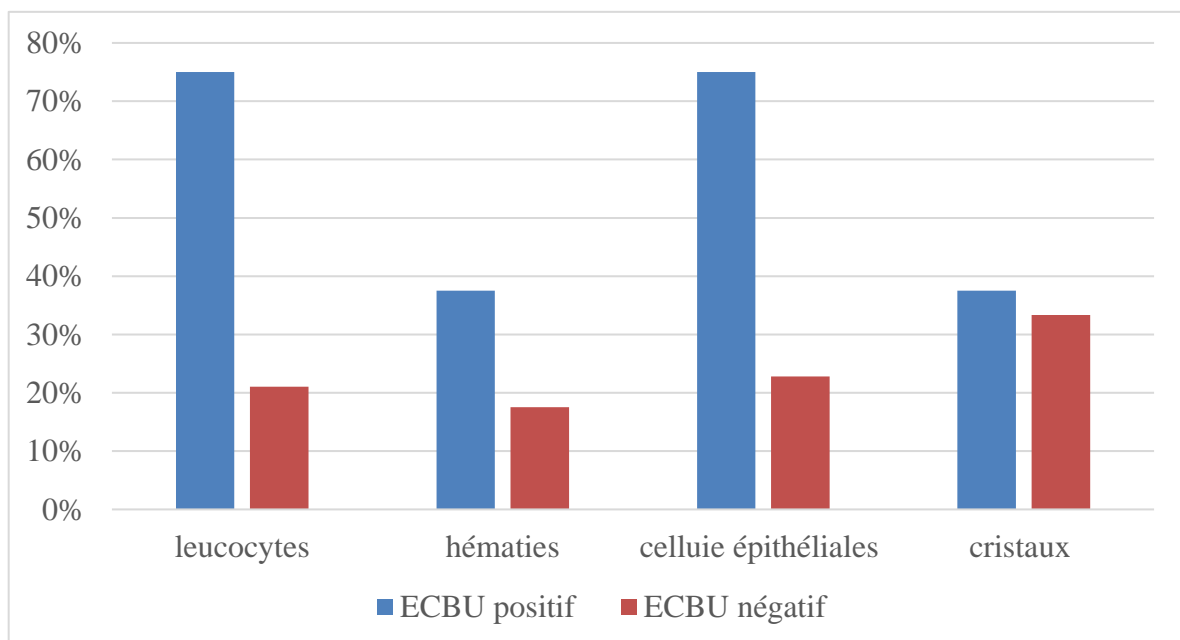


Figure 34 : Pourcentage des différents éléments de l'examen cytologique

L'analyse cytologique à l'état frais à l'aide du microscope optique nous a permis d'observer et confirmer la présence ou l'absence de :

- Leucocytes : En cas d'infection urinaire, les leucocytes sont très souvent rencontrés en grand nombre, car la multiplication bactérienne s'accompagne d'une levée des défenses immunitaires.

- Hématies : une forte hématurie peut même être repéré à l'oeil nu. Les traumatismes, les calculs, les cystites hématuriques, la tuberculose, les tumeurs de l'appareil urinaire, les troubles de la coagulation (à la suite par exemple de traitements anticoagulants) peuvent en être à l'origine.
- Cellules épithéliales : La présence de ces cellules est sans signification car elle correspond à une perte tout à fait normale des cellules superficielles du tissu des voies urinaires basses.
- Formes anormales « cristaux » : Les cristaux ne sont pas pathologiques lorsqu'ils sont constitués de substances présentes habituellement dans l'urine comme le cas des cristaux d'oxalate de Ca^{2+} (le seul type de cristaux répété est observé durant notre stage).
- Bactéries : la présence des bactéries dans les urines ne signifie pas une présence d'IU, car ça peut être dû soit à une contamination de l'échantillon urinaire ou bien à la présence de la flore résidante.

4. Identification des souche isolées

4.1. Observation macroscopique

- **Aspect des colonies**

La description macroscopique des colonies isolées est la première étape du diagnostic bactérien et du biotype d'une souche. Après ensemencement des échantillons d'urines sur gélose nutritive et Hektoen, plusieurs aspects des colonies ont été apparues sur les boîtes, la **(Figure 35)** présente quelques exemples des différents aspects des colonies qui sont apparues. Les caractères morphologiques des souches isolées, après culture sur le milieu gélosé, sont donnés dans **le tableau 15** suivant :

Tableau 14 : Caractères macroscopiques des colonies des souches d'entérobactéries

Bactéries isolées	Caractères cultureux
<i>E Coli</i>	Ronde, Bombée, Opaque, Lisse, Crémeuse, Non pigmentée
<i>Klebsiella sp.</i>	Colonies Moyenne, Bombé, Muqueuse
<i>Citrobacter sp.</i>	Colonies grosses, Opaques, Blanches
<i>Enterobacter sp.</i>	Opaque, Crémeuse, lisse brillantes, Colonies petites et translucides

Différents caractères cultureux ont été observés après 24h d'incubation à 37°C sur la gélose nutritive et Hektoen. La figure 09 montre les aspects des colonies de quelques espèces.

Après culture, on a observé des souches *Escherichia coli*, *Enterobacter* et *Klebsiella* avec des colonies de grande taille, de couleur jaune à saumon et acidification du milieu due à l'utilisation du lactose, à part le genre *Klebsiella* est caractérisé par des colonies volumineuses, bombées, brillantes et très visqueuses.



Figure 35 : Aspect des colonies sur la gélose nutritive et hektoen

4.2. Observation microscopique

4.2.1. Examen à l'état frais

L'observation des cellules à l'état frais indique que certaines souches sont mobiles et d'autres sont immobiles.



Figure 36 : Observation microscopique à l'état frais (objectif X40)

4.2.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram permet d'étudier la morphologie et le Gram des germes.

L'observation des souches étudiées après coloration de Gram au « G 1000 », nous a révélé que ces dernières sont à Gram négatif et ont une forme en bacilles ou coccobacilles. Elles peuvent être isolées, en paires ou regroupées en amas (**Figure 37**).

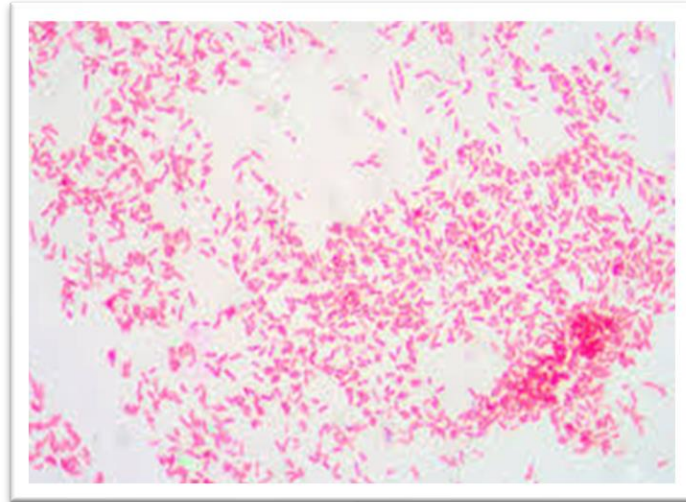


Figure 37 : Observation microscopique après coloration de Gram

4.2.3. Identification biochimique

L'identification bactérienne par la galerie classique a permis de trouver 4 espèces bactériennes qui ont provoqué les infections urinaires chez 8 personnes : *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp.* et *Citrobacter sp.*

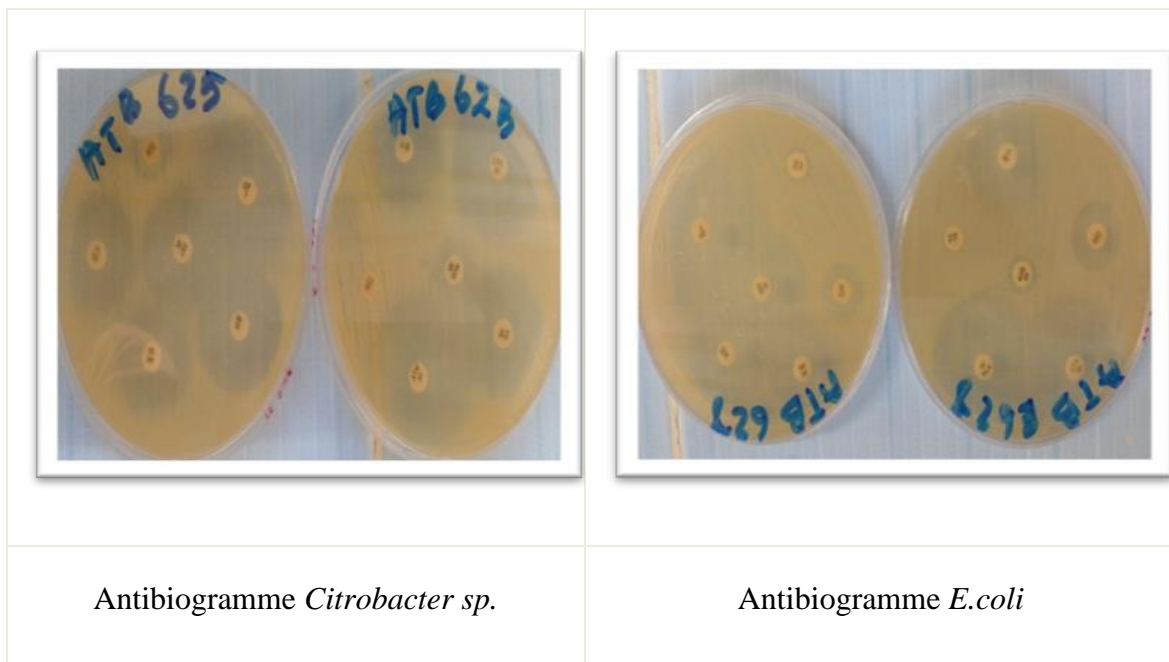
Tableau 15 : Identification bactérienne des souches isolées à partir des urines

Bactéries Isolées	Caleries biochimiques			
	Mobilité	TSI	Urée -Indole	Citrate de simmons
<i>E. Coli</i>	Mob +	Glu + Lac + H2S - Gaz +	Urée - Indol +	Cit -
<i>Klebsiella sp.</i>	Mob -	Glu + Lac + H2S - Gaz+	Urée + Indole+	Cit +
<i>Citrobactersp.</i>	Mob +	Glu + Lac + H2S - Gaz +	Urée - Indole -	Cit +
<i>Enterobactersp.</i>	Mob+	Glu + Lac + H2S – Gaz +	Urée – Indole -	Cit +

4.3. Antibiogramme

Ce test est capital, il permet de choisir un antibiotique adéquat pour le traitement. La détermination de l'activité des antibiotiques est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose (Mueller Hinton), et l'interprétation a été faite selon les normes du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM).

Notre étude consiste à tester et évaluer la sensibilité des microorganismes : *E. coli*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Citrobacter sp.* isolés avec différents types d'antibiotiques.



Antibiogramme *Citrobacter sp.*

Antibiogramme *E.coli*

Figure 38 : Antibiogramme par méthode de diffusion en gélose MH

La résistance, et la sensibilité des entérobactéries *vis-à-vis* des antibiotiques testés sont présentés dans le **tableau 16**.

Tableau 16 : Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées

ATB B ^{ie} Isolées	AU G	T C	C Z	C Z	CT X	AT M	P C	C T	N A	A K	SX T	CI P
<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S
<i>Klebsiellasp.</i>	I	R	S	R	R	R	R	S	S	S	R	S
<i>Citrobactersp.</i>	S	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	S
<i>Enterobactersp</i>	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S

AUG : Amoxicilline acide clavulanique ; **TC** :Tétracycline ; **C** :Chloramphénicol ; **CTX** : Céfotaxime ; **ATM** : Aztréonam ; **PC** :pénicillines ; **CT** :Céfotaxime ; **NA** : acide nalidixique ; **AK** :Amikacine ; **SXT** :Triméthoprim + sulfaméthoxazol ; **CIP** :Ciprofloxacine ; **CZ** :Céfazoline ; **R** : Résistante ; **I** : intermédiaire ; **S** : sensibles

5. Résultats épidémiologiques

5.1. Répartition des échantillons selon les résultats d'ECBU

Un nombre de 93 prélèvements d'urines ont été analysés au laboratoire de l'hôpital. Leur répartition selon les résultats d'ECBU est illustrée dans la **figure 39**.

Parmi ces prélèvements, seulement 8 ECBU ont répondu aux critères de positivité (07 cas féminins et 01 cas masculin) avec un taux de 9 %, 85 d'ECBU ont été déclarés négatifs (absence d'infection urinaire) avec un taux de 61%, et un nombre de 30% d'ECBU était contaminés (renferment une flore poly-microbienne) représentant 30%.

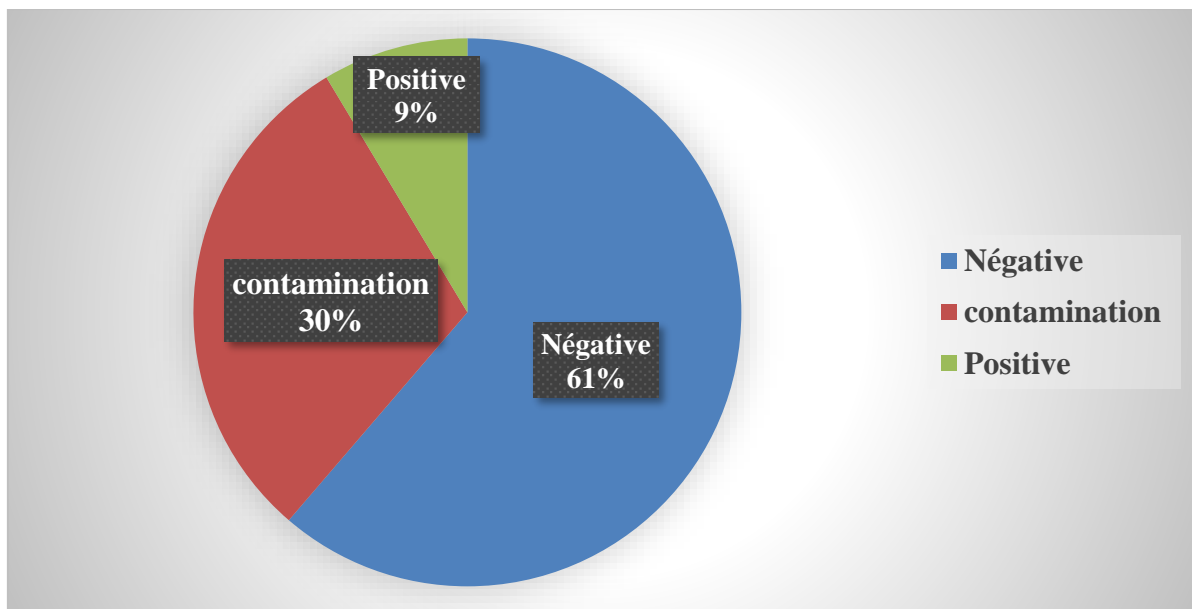


Figure 39 : Répartition des échantillons selon les résultats d'ECBU

On parle d'infection urinaire en présence d'un germe pathogène dans l'urine en présence d'une symptomatologie compatible. Les infections urinaires (IU) peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite, épидидymite) ou hautes (pyélonéphrite ou pyélite). Ce sont les infections bactériennes les plus communes chez la femme : 50% des femmes souffriront d'au moins un épisode symptomatique au cours de leur vie.

Un tiers de femmes ayant eu un premier épisode d'IU souffrira d'infections urinaires récidivantes. Les infections urinaires surviennent dans 20% des cas chez l'homme (**François et al., 2013**).

Il existe plusieurs facteurs anatomiques de risque qui jouent un rôle important dans la cause des infections urinaire.

- Flux urinaire Le lavage des voies urinaires par le flux urinaire est le principal mécanisme de défense contre les germes. Tous les états qui provoquent une stase urinaire, favorisent donc les infections : sténose urétérale ou urétrale, grossesse (par diminution du péristaltisme urétéral), vessie neurologique, hypertrophie prostatique.
- Longueur de l'urètre Un urètre court favorise la remonter des germes vers la vessie, ce qui explique la fréquence des infections chez la femme.
- Autres facteurs anatomiques favorisant les infections - Les massages urétraux par les rapports sexuels, les vêtements trop serrés favorisent la remontée des germes dans l'urètre. - Les corps étrangers (lithiase), calcifications (bilharziose) ou tumeurs des voies urinaires. - Les malformations urologiques : méats urétraux en position ectopique, reflux vésico-urétéraux (**Anglaret et al., 2003**).

5.2. Répartition des infections urinaires selon le sexe

Les résultats de la répartition des infections urinaires selon le sexe sont représentés dans la (**figure 40**) qui montre la prédominance du sexe féminin avec un pourcentage de 87,50% contre 12,50% pour le sexe masculin.

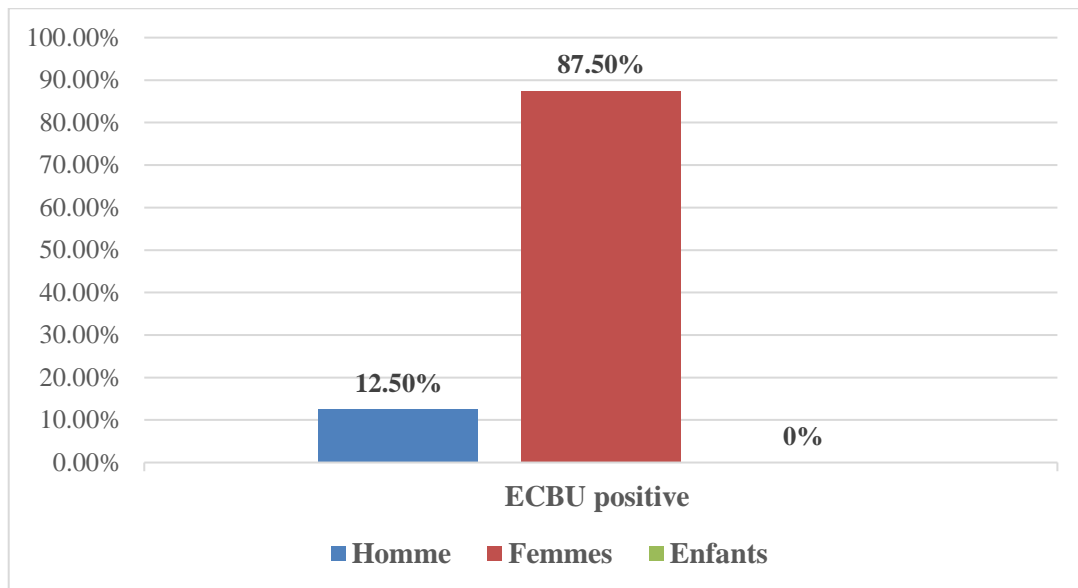


Figure 40 : Répartition des infections urinaires selon le sexe

La fréquence des IU selon le sexe est représentée dans la figure 18, les résultats obtenus indiquent que dans l'ensemble des cas, la prédominance est du sexe féminin avec un pourcentage de 87,50% et 12,50% pour le sexe masculin, ce résultat est semblable à celui retrouvé par **Sbiti *et al.* (2017)** et **Fortune Djimabi *et al.* (2020)**. Contrairement à l'étude menée par **Garba *et al.* (2020)**.

Nous pouvons rapporter cette prédominance féminine aux caractéristiques anatomiques de l'appareil urinaire où l'urètre est un court canal est proche de la région péri-anal et la grossesse (**Benhiba *et al.*, 2015 ; karim et benzeghadi, 2015**) et l'orifice anal, génital et urinaire chez la femmes sont très proche ce qui favorise l'IU (**Carlet et Loup, 1998**).

5.3. Répartition selon les germes responsables des infections urinaires

Les résultats de pourcentage des germes identifiés sont illustrés dans la figure suivante (**figure 41**)

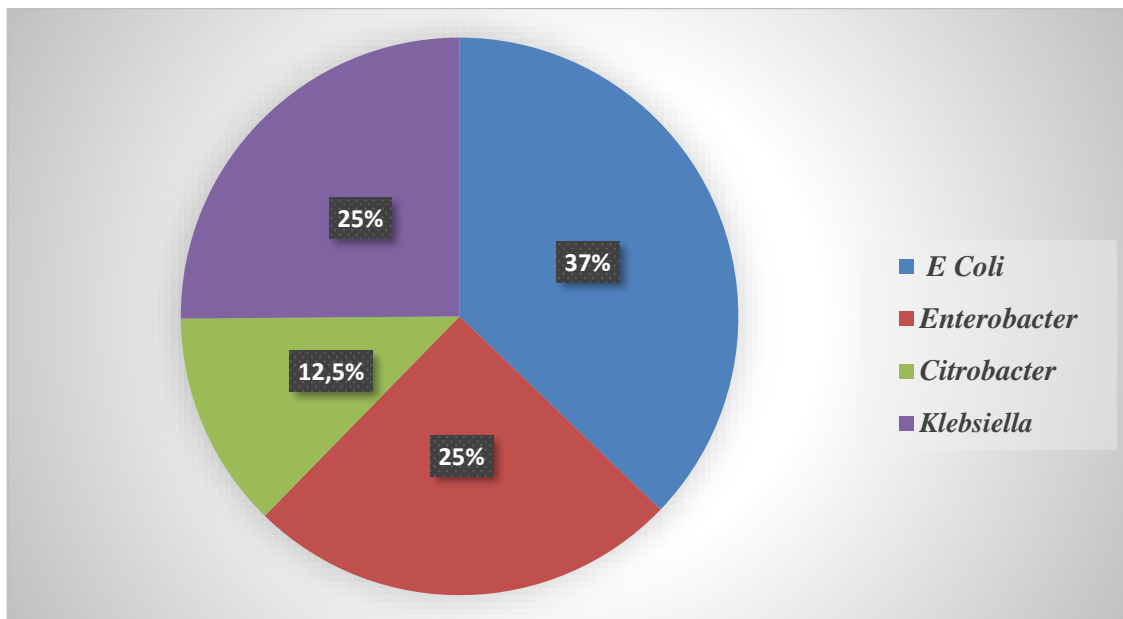


Figure 41 : Répartition des germes responsable de IU

Dans notre étude, plusieurs espèces bactériennes ont été incriminées dans les infections urinaires. D'après leur répartition dans la **figure 41**, on constate que les entérobactéries sont la catégorie majoritaire dont *E. coli* représente le taux le plus élevé (37 %), suivie par *Enterobacter sp.*(25%), *Klebsiella sp.* (25%), *Citrobacter sp.* (12,5%).

L'IU est le plus souvent secondaire à une colonisation du tractus urinaire par voie ascendante, par les germes provenant de la flore intestinale, *E. coli* est le germe le plus souvent rencontré (60–90 % selon les séries). Parmi les autres germes responsables d'IU, citons *Proteus mirabilis*, les entérocoques (*Streptococcus faecalis* et autres), *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les IU à *Candida* sont moins fréquentes, mais d'autant plus inquiétantes qu'elles sont souvent (Iacobelli *et al.*, 2009).

6. Discussion générale

Les infections urinaires représentent le deuxième site infectieux en infectiologie. Elles sont la première cause d'infections en médecine de ville justifiant un traitement antibiotique (**Bentroki et al., 2012 ; Rossignol et al., 2013**).

Le profil des bactéries uropathogènes est dominé par les entérobactéries partout dans le monde. Ce constat est dû à la proximité anatomique du tube digestif terminal à l'appareil urogénital (**Benhiba et al., 2015**).

Notre étude a montré que les souches d'Entérobactéries représentaient la majorité des souches bactériennes isolées au laboratoire de bactériologie. *E. coli* était l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée, essentiellement responsable d'infections urinaires. La même observation a été également faite dans une étude réalisée par **Fortune Djimabi et al. (2020)** et par **Romli et al. (2011)**. Ce qui concorde parfaitement avec nos résultats. Ceci ne peut s'expliquer que par le fait que cette espèce est la plus dominante de la flore intestinale et qu'elle peut migrer vers l'intestin puis vers l'appareil urinaire. Par ailleurs *E. coli* fait partie des coliformes fécaux, donc un mauvais nettoyage de la partie intime peut facilement provoquer l'entrée de la bactérie dans la vessie (**Fortune Djimabi et al., 2020**). À cela s'ajoutent des facteurs spécifiques d'uropathogénicité. *E. coli* possède des adhésines, capables de lier la bactérie à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales (**Sbiti et al., 2017 ; Fortune Djimabi et al., 2020**). *Klebsiella* et *Proteus* secrètent une uréase qui alcalinise l'urine, dont le pH naturellement acide empêche la prolifération des germes (**Sbiti et al., 2017 ; Fortune Djimabi et al., 2020**). Des espèces couramment rencontrées dans les infections comme *Citrobacter*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia* et *Shigella* ont également été isolées en faible proportion comme retrouvé dans d'autres études (**Fortune Djimabi et al., 2020**).

Les β -lactamines ont une bonne diffusion dans les voies urinaires. De ce fait, ils étaient depuis longtemps couramment utilisés dans le traitement de première intention de l'IU communautaire non compliquée. Actuellement, l'augmentation de la résistance à cette famille d'antibiotiques est de plus en plus inquiétante (**Benhiba et al., 2015**).

Les souches isolées présentent une résistance à la plupart des antibiotiques testés (**tableau 16**). Cette résistance retrouvée dans notre étude est dû probablement à la prescription massive et à l'usage souvent abusif des antibiotiques aussi bien en milieu

hospitalier qu'en milieu communautaire qui est responsable de la pression de sélection. En plus, les antibiotiques se procurent en vente libre et s'utilisent en automédication dans différentes situations pathologiques comme le rhume, la toux et la diarrhée (**Garba et al., 2020**).

L'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques exposent à un risque accru d'échec thérapeutique. Elles entraînent une prolongation des durées d'hospitalisations, une augmentation du coût des traitements, une morbi-mortalité élevée compromettant la lutte contre les maladies infectieuses (**Fortune Djimabi et al., 2020**).

Conclusion

Conclusion

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.

Cette étude rétrospective a permis d'avoir une idée sur les taux de résistance aux antibiotiques des principales bactéries impliquées dans les infections urinaires.

L'écologie bactérienne n'a pas beaucoup changée ces dernières années avec *E. coli* qui continue d'occuper le premier rang des uropathogènes. En revanche la connaissance des bactéries responsables constitue un outil précieux pour le choix de l'antibiothérapie de première intention qui nécessite d'être adaptée au site de l'infection et au terrain sous-jacent.

L'apparition de résistances de plus en plus fréquentes au sein des classes d'antibiotiques prescrits en première intention, notamment les bêta-lactamines, est à l'origine de prescription large d'autres molécules souvent plus récentes et/ou à spectre plus étendu, favorisant ainsi l'émergence de germes multirésistants.

L'isolement de ces bactéries multi résistantes conduit le clinicien à un choix thérapeutique de plus en plus limité. Ainsi, ce constat alarmant de multirésistance doit conduire les praticiens à une prescription rationnelle des antibiotiques, guidée de préférence par les résultats d'un antibiogramme correctement réalisé et interprété.

La mise en place d'un antibiogramme ciblé pour les IU à Entérobactéries permet l'amélioration de la prescription antibiotique. Ainsi les recommandations sont davantage respectées et la traçabilité de la réévaluation est meilleure.

La Sensibilisation de la population est fondamentale afin d'éviter l'automédication qui constitue un risque des échecs thérapeutiques et facilite l'émergence des résistances bactériennes.

L'amélioration de l'hygiène hospitalière est aussi un paramètre à prendre en compte pour éviter l'éclosion d'épidémies hospitalières.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- Ait Miloud K. (2011). L'infection urinaire : Expérience du laboratoire de microbiologie de l'hôpital des spécialités du Rabat. Thèse Doctorat en pharmacie. Université Mohammed V, Rabat).
- Anglaret X et Mortier E. (2003). Maladies infectieuses 3ème édition. Pp :109-110.

B

- Bakhoun I. (2004). Contrôle de qualité et validation de différentes méthodes d'identification bactérienne. Université Cheikh Anta diop de Dakar. Faculté de médecine, de pharmacie. Et d'odontostomatologie.
- Bambeke V. Pharm Sc. Tulkens P. (2008). Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse Syllabus national belge de pharmacologie. Pp :1,3,4
- Barrow GI. Feltham R. (1993). Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. 3rd Edition. Cambridge University Press
- Bébéar C. Bébéar C. (2006). Bactériologie médicale. Flammarion Medicine-Sciences.
- Bedrane R. Delleci H. Kehloul K. Labaci A. (2020). Antibiorésistance des souches d'Escherichia coli chez les patients hospitalisés au niveau du service de réanimation polyvalente du CHU Nedir Mohamed Tizi-Ouzou Unité Balloua -). Thèse de Docteur en Pharmacie. Université Mouloud Mammeri Faculté de Médecine. Pp: 20
- Belguith J. Hadji R. Benyoussef. S. (2016). Les Beta-lactamines en Médecine Vétérinaire, Ecole Nationale de médecine vétérinaire Sidi Thabet. Pp : 6,8,9,30
- Benammar S. Aithmouda R. Segueni A. (2021). Infections urinaires du sujet âgé : aspects cliniques et facteurs de risque d'infection à Enterobactéries résistantes aux fluoroquinolones. Hospitalo-Universitaires en Microbiologie, CHU Benflis Touhami, route de Tazoult, Batana, Algérie. Pp : 327
- Benhiba I. Bouzekroui T. Zahidi J. *et al.* (2015). Epidémiologie et antibiorésistance des infections urinaires à enterobactéries chez l'adulte dans le CHU Marrakech et implication thérapeutiques. Marco.

- Benslimani A. Seghier M. Ramadani Bougusssa. N. Belouni R. (2010). Manuel d Microbiologie 3ème Edition à l'usage des étudiants en année Médecine, Office des publications universitaire. Pp: 96
- Bontroki A. Gouri A. Yakhlef A.*et al.* (2012). Résistance aux antibiotiques de souches isolées d'infection urinaires communautaires entre 2007et 2011 à Guelma (Algérie). Laboratoire de microbiologie, Laboratoire de Biochimie Médical, Service de maladies infectieuses, Hopital Ibn Zohr, Guelma, Algérie.
- Berche P. Gaillard JL. Simonet M. (1988). Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1 ère édition. Médecine-sciences Ed Flammarion. Pp:660
- Boerlin P. White D. (2013). Antimicrobial resistance and its epidemiologie. Pp:6
- Bonomo R, A. Rice L, B. (1999). Inhibitor resistant class A beta-lactamases. Department of Medecine, Veterans Affairs Medical Centre, Celveland, Ohio. Pp:35
- Bouchандаud D. (1986). Bêta-lactamine : Structure et nomenclature, Bactériologie, Médecine et maladies infectieuse. Pp:641
- Bourama K. (2020). Rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques, Thèse de Docteur en Pharmacie. Université des Sciences des Techniques et des Technologie de Bamako. Pp :31
- Brizon H. (1998) DPAS : un an pour réussir sa formation, Paris : Heures de France : P163-168

C

- Carle S. (2009). La résistance aux antibiotiques : en enjeu de santé publique important. (Article 1). Centre université santé MCGILL. Pp:9,10,12
- Carlet J. et LoupJ. (1998) Infection urinaire nosocomiale et leur prevention, Edition Ellipse.
- Cesur S. Demiroz A. (2013). Antibiotic and the mechanism resistance to Antibiotics. Review article Pharmacology. Medical journal of Islamic world academy of science. Pp: 140.139
- Chartier E. (2002). Urologie. 4ème édition. Paris. Pp :82.

- Cohen R. Gillet Y. Faye A. (2012). Synthèse de la prise en charge de infections urinaires de l'enfant. *Synthesis of management of urinary tract infections in children. Archives de Pédiatrie*, 19 (3): S124-S128.
- Cygaert W. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. University William Beaumont School of Medicine. Pp : 485, 491

D

- Delarras C. (2014). *Pratique en Microbiologie de Laboratoire. Recherche de Bactéries et de levures-moisissures.* Edition Lavoisier. Paris. Pp : 257- 235.
- Dellay A. (2018). Contribution du Pharmacien d'officine apportée au bon usage des antibiotiques grâce aux interventions Pharmaceutiques Exemple des Pénicillines. Thèse de Docteur en Pharmacie. Université de Rouen. Pp : 25, 37
- Demore B. (2018). *Pathologie infectieuse partie VIII.* Pp :755,762
- Denis F. Ploy M. Martin C. Bingene E. Quentin R. (2007). *Bactériologie médicale : Techniques usuelles.* Ed. Elsevier Masson SAS. Pp :335-401
- Dogan M. Ugrakh S. (2018). Overview of B-lactamases and current techniques for detecting beta-lactamases mediated resistance. Department of Microbiology, Necmettin Erbakan university, Turkey. Pp :1,2
- Dougnon Y. (2011). *Lithiases infectées de l'appareil urinaire : Etude clinique, paraclinique et thérapeutique au service d'urologie du CHU Gabriel Toure de Bamako.* Thèse Doctorat en Médecine. Université de Bamako, Mali.

E

- Etebu E. Arikekpar I. (2016). *Antibiotics: classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives.* Department of biological sciences, Niger Delta University, Amassoma, Wiberforce Island, Nigeria. Pp :93

F

- Fauchère J. Avril J. L. (2002). *Bactériologie générale et médicale.* Ed Ellipses. Paris. Pp :368

- Faure S. (2010). Transfert d'un gène de résistance aux bêta-lactamine blaCTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries. Thèse de Doctorat de Université de Rennes. Pp : 53
- FERRON A. (1993). Bactériologie médicale, 15ème édition. C et R. Pp : 157-163.
- Fortune D. Sadjı A. Koffi A. (2020). Augmentation de la résistance aux antibiotiques des Entérobactéries isolées à l'institut National d'hygiène de Lomé de 2010 à 2017. Laboratoire de bactériologie Togo.
- Francois H. Brandstaller A. Bréchet C. et Huttner A. (2013) Infections urinaires service de médecine de premier recours. Genève. Pp :7-10.
- Frogerais A. (2015). Les origines de la fabrication des antibiotiques en France. Pp :3

G

- Garrity G.M. (2007). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 2, Part B, The Gammaproteobacteria.
- Graba A. Douchi M. Maman L. Dioungole H. *et al.* (2020). Etude Bactériologie des infections urinaires chez l'Adulte au laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital national de Zinder. Faculté des Sciences de la santé, Université de Zinder, Niger
- Greenwood D. (2016). Antimicrobial agents: Antibacterials and antifungals. Elsevier. Pp: 161.
- Gregoire M. (2014). Optimisation de l'utilisation : pharmacologie des céphalosporines en curatif et préventif d'infections bactériennes à partir de données PK/PD, de la pharmacocinétique de population, de simulations et d'une analyse du microbiote intestinal. Thèse de Doctorat. Université Nantes. Pp :4
- Guiraud P J. (2012). Microbiologie alimentaire. Les presses ISBN ; 22 : 80- 171

H

- Hamdani S. Mokrani S. (2017). Evaluation de la consommation des antibiotiques au service de réanimation Médecine du CHU de Tizi-Ouzou. Thèse de Docteur en Pharmacie. Université Mouloud Mammeri Faculté de Médecine Tizi-Ouzou. Pp :5
- Howard R G. Barer M R. Gillespie S H. (2006). Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Volume 2, 10th Edition, Bacteriology.

I

- Iacobelli S. Bonsante F. Guignard J.-P. (2009). Infections urinaires en pédiatrie Urinary tract infections in children. Archives de Pédiatrie, 16 (7). Pp : 1073-1079.

J

- Jaques T. (2000). Antibiotiques antibactériens: Donnée générales sur les modes
- Jean-Noel J. Leyral G. (2009). Microbiologie Technique Tome 1 Dictionnaire des technique Sous la direction de Jean Figarella et Guy Leyzal Collection biologie technique. Pp : 15-16
- Johnson JR. (1991). Virulence factors in Escherichic coli urinary tract infection. Clin microbial ; 4 :80-128.

K

- Karim K.et Benzaghadi H. (2015) les infections uriniars chez les nourrissons.Mémoire de fin d'étude ;médecine .Tlemcen université Abou Baker Bel kaid p84.
- Khan F. Pharm M. (2018). Antibiotic classification and visual target sites for bacterial inhibition. Departement of pharmaceutical technology; India. Pp :1
- Kim B H. and Gadd G M. (2008). Bacterial Physiology and Metabolism. 1st edition, Cambridge University Press.

L

- Labia R. Barthelemy M. Pedduzzi J. et al (1988). Propriété des nouvelles bêta-lactamases psalmodiques actives sur les Céphalosporines de 3éme génération position dans la classe A des B-lactamases. Médecine et Maladies infectieuse. Pp :28
- Lammar (2015). L'ABRÉGÉ d'anatomie et de physiologie humaine. 7 EÉdition, dans l'appareil urinaire, Pp155-163.
- Lansier F. Crouzols G. Lechaud M. (2002). Livre d'hgiène et biologie humaines, éditeur Delagrave, France.
- Legrand O. (2017). Implication du Pharmacien hospitalier dans la prise en charge des infections a Bactéries Muli résistance : Revue de pertinence des prescriptions de

Piperacilline/Tazobactam et épargne des antibiotiques à large spectre au centre Hospitalier d'Aubagne, Thèse de Docteur en Pharmacie. Université d'Aix-Marseille. Pp :93

- Leulmi Z. (2015). Les Porteurs incriminés dans les infections communautaires et hospitalières : étude moléculaire de la résistance aux antibiotiques. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université Constantine. Pp :23
- Levinson W. (2018). Review of Medical Microbiology and Immunology. McGraw-Hill Education. Pp :181-182.
- Lin C. *et al.* (2021). *Klebsiella pneumoniae*-induced Friedländer's pneumonia: Clinical features, diagnosis, and outcomes. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 54(2). Pp :258-265.
- Lobel B et Claud J-S. (2007). Les infections urinaires, 2ème édition – France. Pp :75.
- Lobel B et Soussy C. (2007). Livre des infections urinaires. Paris. Pp :82
- Lobel B. (2007). Prise en charge des cystites chez la femme. In Lobel B, soussy cJ. Les infections urinaires. Paris : Springer. Verlag. Pp :73-87.
- Luce Péliissier et Simard MD. (2006). M.sc. épidémiologie, Chaire Lucie et André Chagnon pour l'enseignement d'une approche intégrée en prévention. Université de Sherbrouke. Révision médicale Janvier.
- Lyevhobu K. (2023). A Review on Penicillinase production and Beta-lactamase activity on commonly isolated Bacteria. University of Nigeria. Uromi. Pp :3

M

- Madigan M.T. Bender K.S. Buckley D.H. Sattley W.M. Stahl D.A. (2018). Brock Biology of Microorganisms. Pearson Education.
- Malviya V N. Upmanyu N. (2020). Antibiotic: Mechanisms of action and modern challenges. Institutue for Veterinary- physiology and Biochmistry Gieben, Germany. Pp :369
- Mandell GL. Bennett JE. Dolin R. Mandell. Douglas. Et Bennett's (2015). Principles and Practice of Infectious Diseases, 8th Edition, Elsevier Saunders.
- Marieb E. (2008) Biologie humaine : principes d'anatomie et de physiologie. 8ème édition. Paris : Pearson. P 549-555.

- Maurin M. (2023). Antibiotiques, antibiorésistance et environnement. Université Grenoble Alpes. Pp : 2
- Minor L. et Veron M. (1989). Bactériologie médicale. 2e édition. Edition Flammarion Médecine-Sciences. Paris. Pp:312,459.
- Moaitti N. (1987). Les nouvelle bêta-lactamine, Médecine et maladies infectieuse. Pp :43
- Mohammedi S. (2013). L'infection urinaire, chez l'enfant. Santé-MAG. 15. Pp : 10-11
- Muller A. (2017). Bon usage des Antibiotiques : résultats d'action dans différents types d'établissement de santé. Thèse de Docteur de l'Université de Bourgogne Franche-Comté. Pp :20
- Murray P. R. Rosenthal K. S. Pfaller, M. A., & Jorgensen, J. H. (2020). Medical Microbiology E-Book. Elsevier Health Sciences. Pp: 202-203
- Murray P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., & Pfaller, M. A. (Eds.).
- Murray P. Rosenthal K. and Pfaller M. (2016). Medical Microbiology. 8th edition, Elsevier,
- Muylaert A. Mainil J. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». Université de liège. Pp :112,114,115

N

- Nataro JP, Kaper JB. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. ;11(1):142-201
- Neuhauser M. Danziger L. (2001). Béta-Lactam Antibiotics, infectieuse Disease: Drug Interactions in infectieuse Disease, second Edition. Pp :255
- Nevers P. (2017) Sémiologie des altérations de l'état de santé. 1ère édition. De Boeck supérieur. P 137-138.

P

- Perriere G. (1992). Application d'une présentation par objet des connaissances de modélisation de certains aspects de l'expression des gènes chez *E. coli* UCBL. Thèse de Doctorat : Lyon, France : Université de Lyon I. Pp :14, 77.
- Perronne (1999). Maladies infectieuses 1. Ed.Doin ; p 88-387

- Philippon A. (2013). Les bêta-lactamases à spectre élargie ou étendu (BLSE). Faculté de Médecine Paris, France. Pp : 288
- Pierre MARIE CURIE. (2002-2003). Bactériologie. DCEM1. Université Paris-VI. Faculté de médecine Pitié-Salpêtrière.
- Pomakova, D. *et al.* (2012). Clinical and microbiological characteristics of infections caused by *Klebsiella oxytoca*. Journal of Medical Microbiology, 61(2), 250-255.
- Poole R.K. (2005). The Enterobacteria. ASM Press.
- POURRAT. GUIBERT. 1993- Bilan urinaire en pratique médicale quotidienne, biologiste et praticien, N° 93, Paris
- Prygiel O. (2012). ANATOMIE, PHYSIOLOGIE : Système urinaire. Céfal, p162-171.

R

- Raghu F. (2016). Epidémiologie de la résistance chez les entérobactéries isolées sur les ECBU réalisés dans un service d'urgence. Thèse Doctorat en Médecine. Université (Paris Diderot- Paris 7).
- Robin F. Bonnet R. Gibold L. (2012). Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? Revue Francophone Des Laboratoires. Pp :53
- Romli A. Derfoufi O. Chbouki O.Hajjam Z. Zouhdi M. (2011). Les entérobactéries BLSE des infection urinaires : épidémiologie et résistance. (Article). Maroc Médical
- Rossignol L.(2013). Epidémiologie des infection urinaires communautaires. Thèse Doctorat. Paris
- Rupée E. (2010). Epidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M, Infection bactérienne-Antibiotiques. Pp :4,5
- Ryan K. Ray C. (2015). Sherris Medical Microbiology, 6th Edition, McGraw Hill Education.

S

- Salah H. (2009). Etude de la Métallo-résistance et de l'Halo-tolérance des Entérobactéries Isolées des Eaux de Surface de la Région de Sétif. Thèse du doctorat : Microbiologie. Université : ferhat Abbas. Pp :102
- Savard.P. (2008). Caractérisation structurale et dynamique de la Beta-Lactamase TEM-1 de la bactérie Escherichia coli par RMN liquide. Thèse Doctorat en biochimie. Université Laval
- Sbiti M. Lahmadi K. Louzi L. (2017). Profil épidémiologique des enterobactéries uropathogènes productrices de beta-lactamases à spectre élargi. Maroc
- Sekhsokh Y et al (2008). Frequence et sensibilite aux antibiotiques des bacteries isolees dans les urines. *Medicine et Maladies infectieuse* ; vol 36, n°6, Pp :73-24

T

- Tang Y. Sussman M. (2014). *Molecular Medical Microbiology*. Academic Press.
- Thualfakar H. Al-Harmoosh R. (2020). Mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. University College, Najaf, Iraq. Pp :817
- Tortora G. Funke B. Case C. (2017). *Microbiology: An Introduction*. 12th edition. Pearson Education, Inc.

V

- Vanessa J. (2010). Evaluation de l'antibiothérapie au Centre Hospitalier de Neuf château (France) et à la Polyclinique du Sud de Marrakech (Maroc) [Thèse]. [France]: Université HenriPoincare-Nancy1
- Verdino A. Sorient A. Marabotte A. (2021). The odd couple(s): An overview of Beta-lactam Antibiotics bearing more than one Pharmacophoric group, Department of Chemistry and Biology "A. Zambelli", University of Salerno. Pp: 1

W

- Wessels M.R. and Nahm M.H. (2018). *Bacterial Capsules*. ASM Press.
- Willey J. Sherwood L. Woolverton C. (2017). *Prescott's Microbiology*. New York: McGraw-Hill Education.

- Wilson B. (2010). Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach. 3rd edition, ASM Press.
- Wolff M. Joly-Gullaor L. Pajot O. (2009). Les Carbapénèmes, Comparative review of carbapenemes. France. Pp: 200

Υ

- Yala D. Merad S. Mohamed M. Ouar korich N. (2001). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb 91. Pp: 13
- Yala D. Merad S. Mohamed M. Ouar korich N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. Medicine du Maghreb 91. Pp : 5
- Yategué Yalcouye E. (2020). Prescription des antibiotique dans le service d'Accueil des Urgences du CHU Gabriel Touré. Thèse de Docteur Médecine .Université des science des Techniques et des Technologie de Bamako. Pp :8.10

Z

- Zango U. Tbrahim M. et al. (2019). Areview on B-lactam antibiotic drug resistance. Department of Biology Nigeria. Pp :55

Annexe

Annexe 01

Matériel et milieux utilisés

				
Microscope optique	Bec benzène	Pipettes pasteurs	Boîtes de Pétri	Ance de platine
				
Lames lamelles	Etuve	Tubes à essai	Réfrigérateur	Pince en métallique
				
Bandelettes urinaires	Portoirs	Disque des antibiotique	Ecouvillons	Autoclave

Figure 42 : Matériel utilisés


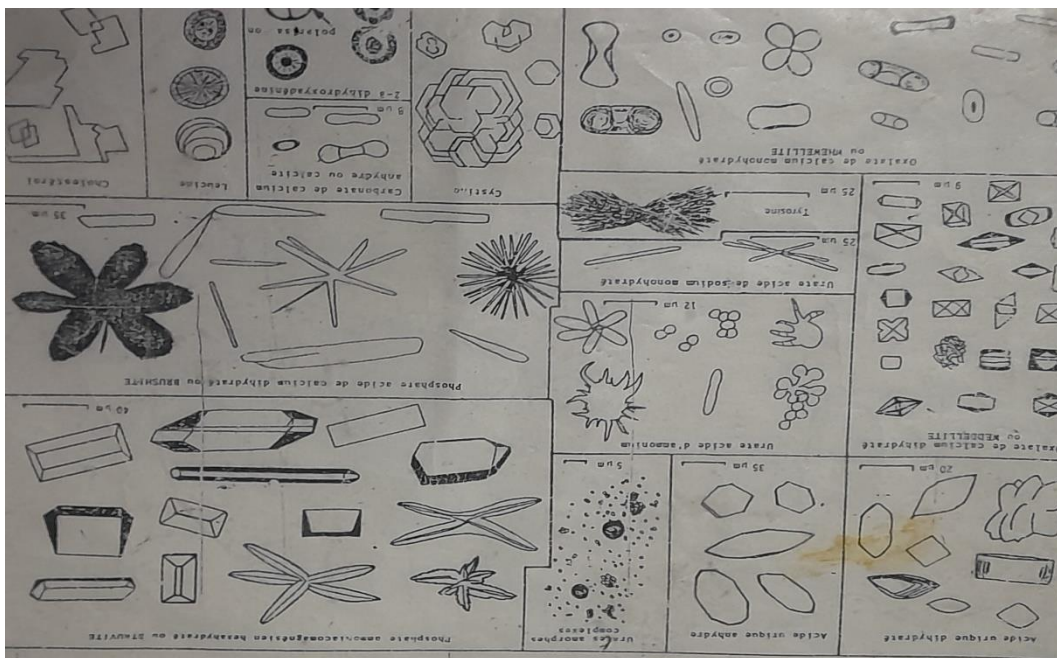
				
Gélose Nutritive	Gélose Hektoen	Gélose Chapman	Gélose au chocolat	Gélose Mueller Hinton

Figure 43 : Milieux des cultures

Annexe 02



Annexe 03

Tableau 17 : Caractères biochimiques de quelques Entérobactéries (Murray et al., 2016)

	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsielle</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigelle</i>	<i>Prpteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
Glu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lac	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
Cit	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mob	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
H₂S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

Glu: Glucose; **Lac:** Lactose; **ONPG:** Orthonitrophénol-bêta-galactosidase; **VP:** Voges-Proskauer; **Cit:** Citrate; **Mob:** Mobilité; **H₂S:** Sulfure d'hydrogène.

Résumé

Les infections urinaires (IU) sont le deuxième site infectieux en infectiologie. La part de l'antibiothérapie pour traiter les infections urinaires est de 12 % des prescriptions d'antibiotiques (ATB). Cette situation représente un impact écologique très important car responsable d'une pression de sélection de souches bactériennes résistantes. L'objectif de cette étude est de déterminer le profil bactériologique et la sensibilité aux antibiotiques d'isolats de culture d'urine au laboratoire de microbiologie de l'Hôpital Maghlaoui, Mila. L'étude est réalisée au laboratoire de microbiologie incluant les patients ayant réalisé un examen cyto bactériologique des urines (ECBU) du 12 au 27 février 2023. L'identification des bactéries est basée sur des caractères morphologiques, culturels et biochimiques, la sensibilité des souches est réalisée selon la technique de diffusion en milieu gélosé par le biais de l'antibiogramme.

Sur 93 échantillons d'urine analysés provenant des patients hospitalisés dont 19 (20,43%) hommes et 59 (63,44%) femmes, 9% étaient positifs avec une prédominance féminine (87,5%). L'incidence de souches d'entérobactéries était de 100% et parmi les espèces identifiées, *E. coli* était l'espèce majoritaire avec une fréquence de 37 % suivi d'*Enterobacter sp.* (25%), *Citrobacter sp.* (12,5%) et *Klebsiella sp.* (12,5). Dans cette étude *E. coli* est l'uropathogène prédominant avec un taux de résistance aux antibiotiques alarmant d'où la nécessité d'une surveillance étroite de l'épidémiologie de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Au terme de cette étude nous rappelons les recommandations d'hygiène individuelle et collective et l'utilisation rationnelle des antibiotiques pour éviter l'émergence de nouvelles résistances.

Mots clés : Antibiogramme, Entérobactéries, Infection urinaires, ECBU, résistance aux antibiotiques, sensibilité.

Abstract

Urinary tract infections (UTIs) are the second most common infectious site in the field of infectious diseases. The use of antibiotics to treat UTIs accounts for 12% of antibiotic prescriptions. This situation has a significant ecological impact as it leads to the selection pressure of resistant bacterial strains. The objective of this study is to determine the bacteriological profile and antibiotic sensitivity of urine culture isolates at the microbiology laboratory of Maghlaoui Hospital in Mila. The study is conducted at the microbiology laboratory and includes patients who underwent a cytobacteriological examination of urine (ECBU) from February 12th to 27th, 2023. Bacterial identification is based on morphological, cultural, and biochemical characteristics, and strain sensitivity is determined using the agar diffusion technique through antibiogram testing.

Out of 93 urines samples analyzed from hospitalized patients, including 19 (20.43%) males and 59 (63.44%) females, 9% tested positive with a predominance among females (87.5%). The incidence of enterobacterial strains was 100%, and among the identified species, *E. coli* was the predominant species with a frequency of 37%, followed by *Enterobacter* sp. (25%), *Citrobacter* sp. (12.5%), and *Klebsiella* sp. (12.5%). In this study, *E. coli* was the predominant uropathogen with an alarmingly high antibiotic resistance rate, highlighting the need for close surveillance of bacterial antibiotic resistance epidemiology. Based on the findings of this study, we emphasize the importance of individual and collective hygiene recommendations and the rational use of antibiotics to prevent the emergence of new resistances.

Keywords : Antibiogram, Enterobacteria, Urinary infections, ECBU, antibiotic resistance, sensitivity.

ملخص

تعتبر عدوى المسالك البولية ثاني أكثر موقع للعدوى شيوعاً في مجال الأمراض المعدية. يعتبر استخدام المضادات الحيوية لعلاج عدوى المسالك البولية 12٪ من وصفات المضادات الحيوية. وتؤثر هذه الحالة بشكل كبير على البيئة حيث تؤدي إلى الضغط الانتقائي على سلالات البكتيريا المقاومة. يهدف هذا الدراسة إلى تحديد الملف البكتيريولوجي وحساسية المضادات الحيوية لعزلات زرع البول في مختبر علم الأحياء المجهرية في مستشفى المغلاوي بميلة. تم إجراء الدراسة في مختبر علم الأحياء المجهرية وتشمل المرضى الذين أجروا فحصاً سيتوباكترولوجياً للبول (ECBU) من 12 إلى 27 فبراير 2023. يعتمد تحديد البكتيريا على الخصائص المورفولوجية والزراعية والبيوكيميائية، وتحدد حساسية السلالة باستخدام تقنية انتشار الزرع على وسط الأغار من خلال اختبار الحساسية للمضادات الحيوية.

تم تحليل 93 عينة بول من المرضى المستشفين، بما في ذلك 19 ذكراً (20.43٪) و59 أنثى (63.44٪)، وتبين أن 9٪ منها كانت إيجابية بنسبة تفوقت فيها الإناث (87.5٪). كانت نسبة حدوث سلالات البكتيريا المعوية 100٪، ومن بين الأنواع المحددة، كانت E. Coli هي النوع السائد بتكرار 37٪، تليها 25٪ Enterobacter sp. (، Citrobacter (12.5) sp. (، و12.5) Klebsiella sp. (في هذه الدراسة، كانت E.coli هي مسبب العدوى البولية الرئيسي بنسبة عالية ومقلقة للغاية في مقاومته للمضادات الحيوية، مما يؤكد ضرورة مراقبة قريبة لوبائية مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية. استناداً إلى نتائج هذه الدراسة، تؤكد أهمية التوصيات الصحية الفردية والجماعية للنظافة الشخصية والجماعية والاستخدام العقلاني للمضادات الحيوية لمنع ظهور مقاومات جديدة.

الكلمات الدالة: اختبار الحساسية للمضادات الحيوية، الإنتروباكتيريا، العدوى البولية، ECBU، مقاومة المضادات الحيوية، الحساسية.