

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Scientifique
et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMERI
FACULTE DE MEDECINE
TIZI-OUZOU



وزارة التعليم العالي
و البحث العلمي
جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو

U.M.M.T.O

Département de pharmacie
N°D'ORDRE /DP/...../2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Présenté et soutenu publiquement
Le : 02/07/2019

En vue de l'obtention de diplôme docteur en pharmacie.

THEME :

*Profil de résistance aux antibiotiques des bacilles Gram négatif
isolés à partir des urines au laboratoire de microbiologie au CHU
Nedir Mohammed de Tizi-Ouzou durant l'année 2018.*

Réalisé par :

Mlle : CHOUEH Fatma

Mlle : CHATER Amina

Mlle : SIAD Rafia

Promoteur : Dr BOUBRIT Fella

Co-promoteur : Dr LARIBI Taous

Membre de jury :

Dr IBOUKHOULAF.S

MAHU

Faculté de Médecine UMMTO

Présidente de jury ;

Dr BOUBRIT Fella

MAHU

Faculté de Médecine UMMTO

Promotrice ;

Dr CHERIFI Lynda

AHU

Faculté de Médecine UMMTO

Examinatrice ;

Dr CHENNAFI Yasmine

Assistance EHS/DBK

Examinatrice .

Promotion : 2018/ 2019.

Remerciement

El hamdoulillah, nous remercierons Dieu, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce travail.

Nous remercierons notre Promotrice Dr F. BOUBRIT, chef de service de Microbiologie au CHU de Tizi-Ouzou et Mettre assistante en Microbiologie, pour avoir accepté de diriger ce travail. Son soutien, ses conseils, son encouragement et ses compétences.

Notre remerciement s'adresse également à notre copromotrice Dr T. LARIBI, de nous avoir accueillis dans son équipe et d'avoir accepté de co-encadrer ce travail. Sa rigueur scientifique, sa disponibilité et ses qualités humaines nous ont profondément touchées.

Nos vifs remerciements pour les membres du jury à commencer par Dr S. IBOUKHOULEF qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

A Dr L. CHIRIFI et Dr Y. CHENAFI d'avoir acceptés d'examiner ce modeste travail.

Enfin nous remercierons chacune des personnes qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.





Dédicace

A Dieu, LE MISECORDIEU

*En toi, je remets toute mon existence. Tu es là au début de ce travail
Tu as guidé mes pas selon ta volonté, rien ne me manquera et je
ne crains rien.*

*Accepte mon DIEU, DIEU de Mohamed, cet humble et modeste fruit de
ta grande bonté et de ton amour.*

Pour mes très chers et adorables parents ZAHRA et ABDELKADER

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous
mérites pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis
ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge d'adulte.*

*Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à vous. Que dieu vous donne longue
vie et vous protège pour moi.*

Pour ma chère Jumelle Amina, et chères sœurs Samira, Razika et Meriem

*qui m'ont toujours encouragé et aidé dans tous mes recherches de
mon parcours avec beaucoup de dévouement de tendresse et
surtout d'amour et d'affection, qui ont toujours éclairé mon chemin.
Pour mes frères, belles sœurs et mes baux frères.*

A mes chères amies Siham, Khadidja et Amira

*Au souvenir des moments qu'on a passé ensemble.
Vous m'avez offert ce qu'il y a de plus cher : l'amitié.
Je vous souhaite beaucoup de succès, de réussite
et de bonheur.*

Fatma



Dédicace

*A ma chère maman, mon amie, ma confidente, ma force,
qui m'encourage toujours dans ma vie et son soutien tout au
long des années d'étude. Tu représentes beaucoup pour moi,
Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi. Que dieu te donne
longue vie et te protège pour moi.*

*A mon cher père, qui a été et sera toujours un exemple pour moi
par ses qualités humaines, son honnêteté et sa responsabilité. Mon héros ;
même si je ne le dis pas toujours, saches que mon cœur est rempli
d'amour pour toi.*

*A ma sœur Nafissa et mes deux frères, Mahdi et Khaled je vous
remercie pour tous, que dieu vous préserve pour moi.*

*A tous mes amis je les remercie de m'avoir accompagné
tout au long de mon parcours.*



Rafia



Dédicace

Je dédie cette mémoire

A ma mère Fatma,

Ma douce et tendre maman. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi. Que dieu te donne longue vie et te protège pour moi.

A ce qui m'a donné la vie, mon père Ahmed « Allah Yarahmo »

A mes très chers frères : Mohamed et Omar

Je vous souhaite une longue vie pleine de succès, de santé et de joie.

Mon très cher fiancé Hamza,

Ton confiance et ton encouragement m'ont toujours donné de la force pour persévérer et continuer toujours vers l'avant.

A mes très chères sœurs : Houria, Hafida, Samia et Souad

Avec mon grand amour et toute ma tendresse, je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et surtout de santé.

A mes meilleures ami(e)s et toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin a la réalisation de ce travail



Amina

Table des matières

Liste des abréviations.....	iv
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures.....	ix
Introduction.....	1

Partie I : Revue bibliographique

CHAPITRE I : Généralité sur les infections urinaires

1 Rappel anatomique	2
2 Définition/Classification.....	2
2.1 Définition.....	2
2.2 Classification.....	3
3 Agents étiologiques.....	5
4 Physiopathologie.....	6
4.1 Les voies de pénétration des germes.....	6
4.2 Facteurs favorisant l'infection urinaire.....	6
4.3 Moyens de défense de l'hôte.....	8
5 Diagnostic bactériologique des infections urinaires.....	9
5.1 Bandelette urinaire (BU).....	9
5.2 Examen cytotactériologique des urines (ECBU).....	10

CHAPITRE II : Les Bacilles à Gram Négatif responsables des infections urinaires

1 Les bacilles à gram négatif fermentaires (entérobactéries).....	19
1.1 Généralité/Classification.....	19
1.2 Les entérobactéries uropathogènes.....	19
2 Les bacilles à gram négatif non fermentaires.....	27

2.1 Généralités.....	27
2.2 Genre <i>Pseudomonas</i>	27
2.3 Genre <i>Acinetobacter</i>	29

CHAPITRE III : Traitement antibiotiques des infections urinaires et profils de résistance des Bacilles à Gram Négatifs aux antibiotiques

1 Traitement antibiotique des infections urinaires.....	31
1.1 Généralité sur les antibiotiques.....	31
1.2 Antibiothérapie des infections urinaires.....	33
2 Profil de résistance des Bacilles à Gram Négatif aux Antibiotiques.....	36
2.1 Généralité sur la résistance aux antibiotiques.....	36
2.2 Résistance des BGNs aux antibiotiques.....	39

Partie II : Partie pratique

Matériels et méthodes

1 Objectif principal.....	50
2 Matériels et méthodes.....	50
2.1 Cadre de l'étude.....	50
2.1.1 Souches bactériennes étudiées.....	50
2.1.2 Matériels et milieux de cultures.....	50
2.2 Méthodologie.....	51
2.2.1 Analyse microbiologiques.....	51
2.2.2 Analyse statistique.....	59

Partie III : Résultats

1	Taux de BGNs isolés des urines chez les patients hospitalisés et externes durant l'année 2018.....	60
2	Répartition des BGNs isolés des urines en fonction des services d'hospitalisation.....	63
3	Nombre et pourcentage des différentes espèces des BACILLES 0 Gram Négatif isolés des urines durant l'année 2018.....	65
4	Résistance aux antibiotiques des BGNs isolés des urines durant l'année 2018.....	67
4.1	Les entérobactéries.....	67
4.1.1	<i>Escherichia coli</i>	67
4.1.2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	69
4.1.3	<i>Proteus sp</i>	71
4.1.4	<i>Enterobacter sp</i>	73
4.2	Les BGNs non fermentaires.....	75
4.2.1	<i>Pseudomonas aeruginosae</i>	75
4.2.2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	77
5	Tests complémentaires.....	79
5.1	Résistance des BGNs par production de BLSE.....	79
5.2	Résistance des BGNs par production de CHN.....	81
	Discussion	84
	Conclusion	87

Annexes

Bibliographie

Résumé

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
AARN	Réseau Algérienne de surveillance de la résistance aux antibiotiques.
<i>A. baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
ADH	Arginine di hydrolase
ADN	Acide Désoxyribonucléique
AFSSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.
ARN	Acide Ribonucléique
AMC	Amoxicilline/Acide clavulanique
AMK	Amikacine
AMP	Ampicilline
AMX	Amoxicilline
ARN	Acide ribonucléique
ATB	Antibiotique
ATM	Aztréonam
API	Appareillage et Procédé d'Identification
BA	Bactériurie Asymptomatique
BCP	Bromocresol Pourpre
BGN	Bacille à Gram Négatif
BLSE	Bêta-lactamase à Spectre Etendu
β-NAD	β-nicotinamide Adénine Di nucléotide.
BU	Bandelette Urinaire
°C	Degré Celsius.
CARB	Carboxypénicilline

Liste des abréviations

C3G	Céphalosporine de 3 ^{ème} génération
C4G	Céphalosporine de 4 ^{ème} génération
CAZ	Ceftazidime
CEP	Céfalotine
CHL	Chloramphénicol
CHU	Centre Hospitalo-Universitaire
CLED	Cystine-Lactose-Electrolyte-Déficient
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
COL	Colistine
CTX	Céfotaxime
CZO	Céfazoline
Dnase	Désoxyribonucléase
DCI	Dénomination Commune Internationale
DOX	Doxycycline
ECBU	Examen Cyto-bactériologique des Urines
<i>E. Coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Ethylène diamine- tetra-acétique
EMB	Eosine bleu de méthylène
ETP	Ertapénème
FOS	Fosfomycine
FOX	Céfoxitine

Liste des abréviations

GEN	Gentamicine
Gram -	Gram négatif
Gram +	Gram positif
<i>H. influenza</i>	<i>Haemupphilus influenza</i>
H2O2	Eau Oxygéné
H2S	Sulfure d'hydrogène
I	Intermédiaire
IPM	Imipenème
IU	Infection Urinaire
KES	<i>Klebsiella- Enterobacter- Serratia</i>
LDC	Lysine Décarboxylase
LVX	Levofloxacin
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Mécicilline
Méti-S	Sensible à la Mécicilline
Méti-R	Résistant à la Mécicilline
MLS	Macrolides-Lincosamides-Streptomycines
NAL	Acide Nalidixique
NIT	Nitrofurantoin
ODC	Ornithine décarboxylase
OMS	Organisation mondiale de la santé
ONPG	Orthonitrophényl-β-D-galactopyrannoside
OXA	Oxacilline
PEN	Pénicilline
PH	Potentiel Hydrogène

Liste des abréviations

PIP	Piperacilline
PLP	Protéines Liant la Pénicilline
PPM	Proteus-Providencia_Morganella
PU-Med	Pavions d'urgence Médicale
RM	Rouge de Méthyle
S	Sensible
SXT	Trimethoprim/Sulfaméthoxazole
TCC	Ticarcilline/Acide clavulanique
TDA	Tryptophane désaminase
TIC	Ticarcilline
TOB	Tobramycine
TRI	TEM Résistant aux Inhibiteurs
TSI	Triple Sugar Iron.
UFC	Unité Formant Colonie
VP	Vosges-Proskauer

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Agents en cause dans les infections urinaires.....	05
Tableau 02 : Interprétation des principales situations selon le contexte et le type de prélèvement.....	18
Tableau 03 : Préparation des boîtes de cloxacilline (ou oxacilline).....	58
Tableau 04 : Nombre et pourcentage des BGNs isolés à partir des urines des patients hospitalisés.....	60
Tableau 05 : Nombre et pourcentage des BGNs isolés à partir des urines des patients externes	61
Tableau 06 : Répartition des BGNs selon les spécialités cliniques.....	63
Tableau 07 : Nombre et pourcentage des différentes espèces des BGNs	65
Tableau 08 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques d' <i>E coli</i> isolé des urines.....	67
Tableau 09 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolé des urines.....	69
Tableau 10 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques de <i>Proteus sp</i> isolé des urines.....	71
Tableau 11 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques d' <i>Enterobacter sp</i> isolé des urines.....	73
Tableau 12 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolé des urines.....	75
Tableau 13 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques d' <i>Acinetobacter baumannii</i> isolé des urines.....	77
Tableau 14 : Nombre et pourcentage de souches produisant une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE).....	80
Tableau 15 : Nombre de souches produisant une céphalosporinase de haut niveau.....	82

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Anatomie de l'appareil urinaire.....	02
Figure 02 : La bandelette urinaire.....	10
Figure 03 : Méthode à l'anse calibrée.....	14
Figure 04 : Cible d'action des antibiotiques.....	32
Figure 05 : Les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	38
Figure 06 : Représentation schématique de la pompe Mex AB-Opr M.....	45
Figure 07 : Culture, isolement et identification sur milieu chromogène.....	52
Figure 08 : Api 20E chez <i>E coli</i>	53
Figure 09 : Antibiogramme standard	54
Figure 10 : Détection de BLSE chez les entérobactéries par test de synergie.....	56
Figure 11 : Test espagnol positif pour <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de BLSE.....	57
Figure 12 : Taux des BGNs isolés des urines durant l'année 2018.....	60
Figure 13 : Pourcentage des BGNs isolés à partir des urines des patients hospitalisés	61
Figure 14 : Pourcentage des BGNs isolés à partir des urines des patients externes.....	62
Figure 15 : Pourcentage des BGNs en fonction des spécialités cliniques.....	64
Figure 16 : Pourcentage des différentes espèces des BGNs isolés des urines.....	66
Figure 17 : Pourcentage de la résistance (R+I) d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques.....	68
Figure 18 : Pourcentage de la résistance(R+I) de <i>K. pneumoniae</i> aux antibiotiques.....	70
Figure 19 : Pourcentage de la résistance (R+I) de <i>Proteus sp</i> aux antibiotiques.....	72
Figure 20 : Pourcentage de la résistance (R+I) d' <i>Enterobacter sp</i> aux antibiotiques.....	74
Figure 21 : Pourcentage de la résistance (R+I) de <i>P. aeruginosae</i> aux antibiotiques.....	76
Figure 22 : Pourcentage de la résistance (R+I) d' <i>A. baumannii</i> aux antibiotiques.....	78
Figure 23 : Taux des BGNs productrices de BLSE.....	79
Figure 24 : Pourcentage des souches produisant une BLSE.....	80

LISTE DES FIGURES

Figure 25 : Taux des BGNs productrices de CHN.....	81
Figure 26 : Pourcentage des souches produisant des CHN.....	83

L'infection urinaire est une pathologie fréquente qui constitue un vrai problème de santé publique. Au niveau mondial, elle est située en deuxième position après les infections respiratoires [01]. Cette infection est souvent considérée comme banale et bénigne, mais peut avoir des conséquences pathologiques sévères et entraîner des complications graves notamment des atteintes de la fonction rénale [02].

Les bactéries qui proviennent de la flore intestinale et périnéale constituent la cause habituelle de ces infections. Les Bacilles à Gram Négatif sont les germes les plus souvent isolés et sont représentés essentiellement par les Entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*,...) et par les Bacilles à gram négatif non fermentaires (*Pseudomonas aeruginosae*, *Acinetobacter baumannii*). Les Cocci à Gram Positif (*Staphylococcus aureus* ; *Staphylococcus saprophyticus* ; *Enterococcus sp*, ...) sont moins souvent en cause [03, 04].

Le diagnostic de ces infections évoqué sur l'examen clinique du malade, sera confirmé par l'analyse cyto bactériologique des urines (ECBU) [02]. Cet examen permet un diagnostic de certitude d'une infection urinaire en isolant les microorganismes responsables et en déterminant leurs profils de sensibilité ou de résistance aux antibiotiques [05].

La fréquence d'isolement de germes urinaires communautaires et nosocomiaux résistants aux antibiotiques dans les laboratoires hospitaliers est un problème de santé publique pré occupant, aboutissant parfois à un échec thérapeutique et à l'évolution de la multi-résistance [06].

La détection de cette résistance permet de prévenir et de ralentir la diffusion de souches multi résistantes et d'optimiser le choix de l'antibiothérapie [08].

Notre étude a été menée au niveau du laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalo-Universitaire de Tizi-Ouzou dans le but de connaître le profil de résistance aux antibiotiques des Bacilles à Gram Négatif isolés à partir des urines durant l'année 2018, permettant ainsi la constitution de données locales qui permettront de mieux définir les stratégies thérapeutiques au cours des infections urinaires.

1 Rappel anatomique

L'appareil urinaire est partagé essentiellement en deux parties [09] :

Le haut de l'appareil urinaire qui comprend : les deux reins (qui fabriquent l'urine) et les deux uretères.

Le bas de l'appareil urinaire qui comprend : la vessie (réservoir des urines), l'urètre (canal situé sous la vessie qui permet l'évacuation des urines), et la prostate (glande située autour de l'urètre de l'homme).

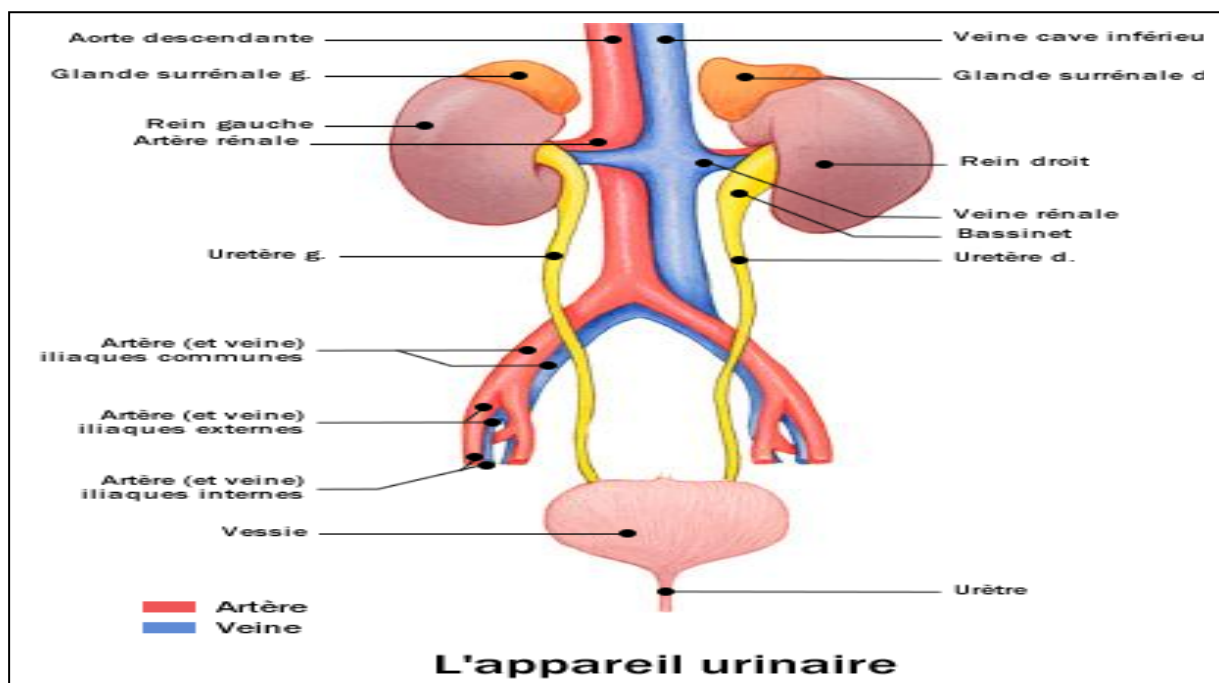


Figure 1 : Anatomie de l'appareil urinaire.

2 Définition/Classification

2.1 Définition

2.1.1 Infection urinaire (IU)

L'infection urinaire se caractérise par une multiplication de microorganismes au sein de l'arbre urinaire (bactériurie) s'accompagnant d'une réaction inflammatoire avec afflux de leucocytes (leucocyturie).

Elle se manifeste le plus souvent par des douleurs ou une sensation de brûlure lors de la miction, parfois par des douleurs abdominales et de la fièvre [10].

2.1.2 La bactériurie asymptomatique (BA)

Elle définie par la présence de germes dans l'urine en l'absence de toute symptomatologie clinique [11]. Ce type de colonisation augmente le risque de survenue d'une infection urinaire symptomatique; elle ne nécessite pas un traitement antibiotique. Par contre, le diagnostic et le traitement de la bactériurie asymptomatique sont indiqués chez les femmes enceintes [12], les diabétiques et les immunodéprimés.

2.2 Classification

Il existe plusieurs possibilités de classer les infections de l'appareil urinaire.

2.2.1 Selon la localisation

L'infection urinaire peut être localisée dans les voies urinaires basses ou hautes [14].

2.2.1.1 La Cystite

C'est l'une des formes les plus courantes des infections du bas de l'appareil urinaire. Elle touche presque uniquement les femmes. Il s'agit de l'inflammation de la vessie. La plupart du temps, l'inflammation est provoquée par la prolifération de bactéries intestinales de type *Escherichia coli* [14]. Mais elle peut être due à d'autres bactéries (*Staphylococcus*, *Proteus*, *Klebsiella*...).

2.2.1.2 La pyélonéphrite

La pyélonéphrite est un état plus grave, elle désigne l'inflammation du bassinet et du rein. Celle-ci résulte généralement d'une infection bactérienne. Il peut s'agir d'une complication d'une cystite non traitée ou mal traitée qui permet la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins[14].

2.2.1.3 La prostatite

Infection aigue ou chronique de la prostate. Une prostatite est une infection génito-urinaire, fréquente affectant les hommes de tout âge, avec une fréquence particulière chez les jeunes adultes [15].

2.2.2 Selon la complication

2.2.2.1 Infections urinaires simples (non compliquée)

Les infections urinaires simples sont des infections survenant chez des patients ne présentant pas de facteur de risque de complication. En pratique, elles ne concernent que la femme sans terrain particulier et sans comorbidité [13].

2.2.2.2 Infections urinaires à risque de complication

Il s'agit d'une infection urinaire survenant chez un patient ayant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe [13].

Les infections urinaires compliquées touchent surtout [16] :

- Les femmes enceintes ;
- Les personnes atteintes du diabète, immunosuppression, insuffisance rénale ;
- Les personnes atteintes d'infection nosocomiale, antibiothérapie récente ;
- Les patients récemment opérés.

2.2.3 Selon le lieu d'acquisition

2.2.3.1 Infections urinaires nosocomiales

Une infection nosocomiale ou une infection liée au soin est une infection qui est contractée au cours du séjour du patient dans un hôpital ou d'un autre type d'institution de soins [17].

2.2.3.2 Infections urinaires communautaires

Est une infection urinaire d'origine communautaire lorsqu'elle est acquise hors de l'hôpital c'est à dire une infections non nosocomiale [18].

3 Agents étiologiques

Les bactéries uropathogènes sont classées en trois groupes :

Groupe1: *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*. Selon les données il y a aussi *Mycobactérium tuberculosis* et les salmonelles.

Groupe 2: les autres Enterobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium urealyticum*.

Groupe 3 et 4: Streptocoque du groupe B, Staphylocoque à coagulase négative, *Acinetobacter baumannii*, et les entérocoques [19].

Des études réalisées par l'agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps) révèlent la répartition bactérienne suivante :

Tableau 1 : Agents en cause dans les infections urinaires [13].

Cystite aigue simple	Pyélonéphrite aigue simple	Pyélonéphrite aigue compliquée	Prostatite aigue
- <i>E. coli</i> 70-95% - <i>Klebsiella</i> spp, <i>Proteus</i> spp : 15 -25%. - <i>Staphylococcus saprophyticus</i> : (1-4%) en France selon Afssaps.	- <i>E. coli</i> . - Entérobactérie. - <i>Staphylococcus saprophyticus</i> (très rare)	- <i>E. coli</i> (fréquence moindre). - <i>Proteus mirabilis</i> . - <i>Enterococcus</i> sp	- <i>E. coli</i> +++ - <i>Pseudomonas</i> sp + - <i>Nitrobacter</i> spp+

4 Physiopathologie

4.1 Les voies de pénétration des germes

La colonisation de l'arbre urinaire par les germes de la flore exogène ou endogène peut se faire selon :

- La voie ascendante ;
- La voie hématogène.

4.1.1 La voie ascendante

C'est la voie la plus fréquente, les germes remontent du méat urétral dans la vessie. Soit d'une façon spontanée (chez la femme dont l'urètre est court), soit d'une façon provoquée par la mise en place d'une sonde ou la réalisation d'une cystoscopie [20].

4.1.2 La voie descendante ou hématogène

Est moins fréquente, elle survient lors d'une septicémie ou lors d'une bactériémie, surtout chez l'immunodéprimé et le diabétique [20].

4.2 Facteurs favorisant l'infection urinaire

4.2.1 Facteurs liées aux bactéries

Après leur entrée dans le tractus urinaire, pour échapper aux défenses de l'organisme, les bactéries uropathogènes vont développer de nombreux mécanismes pour adhérer et envahir les tissus de l'hôte .

Du fait que *Escherichia coli* c'est le germe le plus impliquée dans les infections urinaires ; il a souvent été utilisée comme modèle pour étudier les facteurs d'uropathogénicité.

Les adhésines des *Escherichia coli* uropathogènes ECUP

La production des adhésines qui permettent aux *Escherichia coli* de se lier aux cellules de l'hôte au niveau de tractus urinaire est considérée comme le plus important facteur de pathogénicité. Il a même été suggéré que l'absence de production d'adhésine pour une souche associée a une pyélonéphrite est une indicateur de la présence d'anomalie de l'appareil urinaire ou d'une maladie sous jacent [21].

Les autres facteurs de pathogénicité

- **Le lipopolysaccharide** : présent chez les autres bacilles à gram négatif, il a un rôle toxique.
- **La capsule** : Elle constitue un obstacle à la phagocytose et autres réactions inflammatoires.
- **L'hémolysine** : d'*Escherichia coli* à une action toxique et destructrice au niveau des cellules tubulaires rénales.
- **L'aérobactine** : L'aérobactine est une protéine bactérienne qui favorise le métabolisme oxydatif du fer. Il en résulte d'une amélioration du métabolisme aérobie de la bactérie ce qui accroît sa virulence.
- **Une uréase** : qui entraîne la production d'urine alcaline favorisant la production de calculs [21].

4.2.2 Facteurs liés à l'hôte

L'arbre urinaire est l'un des sites de l'organisme les plus touchés par l'infection, mais cette fréquence varie en fonction de l'âge et du sexe [22].

4.2.2.1 Chez la femme

L'infection urinaire est favorisée par :

- La faible longueur de l'urètre à proximité de l'anus, donc de l'intestin qui est un réservoir naturel de bactéries.
- La modification de l'acidité vaginale par la diminution normale des hormones (œstrogènes) et des sécrétions vaginales après la ménopause.
- Certaines habitudes d'hygiène.
- Les rapports sexuels. Souvent, la première infection coïncide avec le début de l'activité sexuelle.
- La grossesse, car la compression par l'utérus entraîne une dilatation voire une certaine obstruction des uretères [23].

4.2.2.2 Chez l'homme

La longueur de l'urètre et les sécrétions prostatiques acides (au rôle antibactérien) expliquent en partie la rareté des infections chez l'homme jeune. Chez l'homme plus âgé, la diminution

de ces sécrétions, l'augmentation du volume prostatique et surtout la mauvaise vidange vésicale liée à l'obstacle prostatique favorisent la survenue des infections génito-urinaires[23].

4.2.3 Facteurs iatrogènes

- **Les manipulations de l'arbre urinaire**

Sondes urinaires à demeure [21] ;

L'intervention chirurgicale sur l'arbre urinaire.

- **L'antibiothérapie**

dite à large spectre favoriserait l'isolement de souches bactériennes multi résistantes [24].

4.2.4 Autres facteurs de risques

- Le diabète ;
- Les maladies neurologiques ;
- Immunodépression ;
- Insuffisance rénale ;
- Sujets âgés, souvent porteurs de sonde urinaire [23].

4.3 Moyens de défense de l'hôte

La défense de l'hôte repose sur différents mécanismes [25] :

La longueur de l'urètre : les bactéries doivent remonter le long des parois de l'urètre avant d'atteindre la vessie. Chez la femme, l'urètre étant plus court que chez l'homme, la contamination de la vessie est plus facile.

L'urine : son osmolarité est faible, son Ph est acide, les protéines et acides aminées sont rare ce qui constitue un milieu défavorable pour le développement bactérien. De plus, l'urée, les acides organiques et certains sels présents dans l'urine ont des propriétés inhibitrices sur la croissance bactérienne.

Les métabolites élaborés par l'appareil urinaire

Ils sont soit libérés dans l'urine, soit fixés dans les muqueuses, évitant ainsi ou diminuant le risque infectieux:

- **La protéine de Tamm-Horstfall ou uromucoïde** : Est produite par les cellules tubulaires rénales et est excrétée dans l'urine. Elle est très riche en mannose et agit donc comme un leurre pour les andésines de type1: les bactéries se fixent sur cette protéines au lieu de se fixer sur la paroi de l'uroépithélium [25].

- **Les IgA sécrétoires** : La présence d'IgA sécrétoires empêche l'adhérence des bactéries sur les cellules épithéliales [26].

5 Diagnostic bactériologique des infections urinaires

5.1 Bandelette urinaire (BU)

➤ Principe

L'utilisation des bandelettes urinaires permet d'orienter le diagnostic d'infection. Ces bandelettes réactives utilisent des méthodes biochimiques pour déceler la présence des deux stigmates essentiels de l'infection : la leucocyturie et la bactériurie [27].

➤ Interprétation

Dans l'infection urinaire, deux tests nous intéressent :

- Le test à la leucocyte-estérase dont le seuil de détermination est de 10^4 leucocytes/ml.
- Le test aux nitrites qui a comme seuil 10^5 germes/ ml.

La présence de leucocytes se traduit par l'excrétion d'une enzyme, le leucocyte estérase. Ce leucocyte estérase réagit avec la bandelette lorsque la leucocyturie est supérieur à 10/mm³ (10^4 /ml) [27].

La mise en évidence de ces bactéries utilise la propriété de réduire les nitrites en nitrates. Seules les bactéries possédant un nitrate réductase sont capables d'élaborer des nitrites dans les urines. Il s'agit des entérobactéries, responsable des grandes majorités des IU [27].

Une BU est négative si on ne détecte ni leucocytes ni nitrites dans les urines. Elle est positive si on obtient un résultat: Leucocytes + et/ou Nitrites+.



Figure 2 : La bandelette urinaire.

5.2 Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

L'ECBU est l'examen de biologie médicale le plus utilisé pour détecter une infection urinaire en déterminant notamment la numération des hématies, des leucocytes, des bactéries et la présence ou non de cristaux et de germes dans l'urine[28].

Ce test permet aussi l'identification des bactéries en cause, et leur sensibilité aux antibiotiques [28].

5.2.1 Les indications de l'ECBU

- En cas de signes de cystite : (brûlures mictionnelles, envie impérieuse et fréquentes, pollakiurie, dysurie...), de pyélonéphrite: (douleurs lombaires; fièvre) ou de prostatite (fièvre, frisson, douleurs pelviennes, ténésme rectal et troubles fonctionnels urinaires).
- Si la bandelette urinaire est positive, ou en cas de pyurie ou d'hématurie.
- Lors de fièvre supérieur à 39° (notamment chez le nourrisson).
- Lors de contrôle d'un traitement antibiotique après une infection urinaire.

- Dans certaines circonstances cliniques : femme enceinte, diabète sucré, malformation urologique, immunodépression, sondage urinaire, état grabataire[29].

5.2.2 Le prélèvement urinaire

Il comporte des précautions à prendre et un protocole à suivre[19] :

✓ **Le matériel** : stérile à usage unique.

✓ **Le moment du prélèvement**

Le prélèvement des urines doit être effectué sur les urines du matin ayant séjournés toute la nuit dans la vessie.

Le prélèvement doit être effectué avant toute antibiothérapie.

✓ **La toilette pour le prélèvement**

- Après un lavage hygiénique des mains
- On réalise une toilette locale de la région uro-génitale (avec un antiseptique non irritant comme le dakin ou la chlorhexidine ou un savon neutre comme le savon de Marseille).
- Chez la femme : la toilette est réalisée au niveau de la région vulvaire d'avant en arrière pour éliminer les germes vulvo-vaginaux et digestifs.
- Chez l'homme : la toilette concerne le méat urinaire.
- Aussi bien chez la femme que chez l'homme on rince abondamment à l'eau claire.

✓ **Techniques de prélèvement**

Les techniques varient avec l'âge et l'état du malade [19].

 **La technique du milieu du jet**

Elle consiste à éliminer le premier jet urinaire alors que le milieu du jet qui correspond à l'urine vésicale est récupéré dans un pot stérile ou un tube stérile à col large, qui ne sera ouvert qu'à la fin de la toilette sans toucher le bord supérieur du récipient et après élimination du dernier jet, le tube est fermé hermétiquement.

Le sac collecteur

Le collecteur ou la poche à urine est une technique non invasive, réservée aux nouveaux nés et nourrissons qui ne font pas de miction à la demande.

Le collecteur d'urine présente une partie adhésive qu'on dépose sur la région périnéale préalablement désinfectée et essuyée afin d'assurer son adhérence et éviter le contact avec la partie anale. Le collecteur est laissé en place vingt à trente minutes.

À la fin de la miction, on retire le collecteur et on la ferme en collant les parties adhésives entre elles.

La ponction sus pubienne

Elle permet de récupérer les urines intra vésicale, mais c'est un acte invasif de pratique peu courante. La ponction de vessie est réalisée chez des nourrissons fébriles nécessitant une antibiothérapie en urgence.

Le sondage

Sondage à demeure avec un système clos ou fermé, la technique consiste à clamber la sonde, puis ponctionner avec une seringue au niveau de la sonde dès qu'il y a émission d'urine fraîche.

Sondage à demeure avec un système ouvert, le prélèvement d'urines se fait sans clamber la sonde, il est plus fiable.

5.2.3 Renseignements accompagnants le prélèvement

Le prélèvement d'urine doit accompagner d'une fiche de renseignement qui comporte [19] :

- L'identité du malade ;
- L'origine du malade hospitalisé ou externe ;
- Pathologie existante ;
- Notion d'intervention chirurgicale sur l'appareil urinaire ;
- Les signes cliniques ;
- La prise ou non d'antibiotique ;
- La technique de prélèvement pratiquée.

5.2.4 Transport et conservation des urines

Le transport doit être rapide et ne doit pas dépasser trente minutes après la miction, sinon l'urine est placée dans la glace afin d'éviter les faux positifs.

L'urine peut être conservée douze à vingt quatre heures à +4°C [19].

5.2.5 Techniques d'analyses des urines

5.2.5.1 L'examen macroscopique

Technique : Homogénéiser l'urine par retournement ou par agitation mécanique et noter l'aspect limpide, trouble, purulent, hématique [19].

5.2.5.2 L'examen microscopique

Numération leucocytaire sur une cellule hématimétrique comme la cellule de Malassez
Une leucocyturie > 10 000 par ml ($> 10 / \text{mm}^3$) est en faveur d'une infection urinaire.

Apprécier les bactéries et les hématies;

Autres : Cellules épithéliales / Levures / Cristaux (à préciser s'ils sont observés) [19].

Les autres techniques de l'examen microscopique

Un état frais entre lame et lamelle ;

Une coloration simple au bleu de méthylène sans centrifugation ;

Une coloration de Gram (voir annexe 6) ;

On fait une appréciation qualitative : absence, rares, quelques, nombreux.

5.2.5.3 Mise en culture

❖ Techniques d'ensemencement

La méthode de KASS Modifiée

Technique : On prélève 0,1 ml d'urine bien homogénéisée qu'on dilue dans 9,9 ml d'eau physiologique, après agitation, on récupère 0,1 ml de cette dilution qu'on étale sur une gélose nutritive avec un râteau préalablement stérilisé. Incuber 18 h à 35°C.

Lecture

La numération se fait selon la formule de KASS :

$$N = n \cdot 10^2 \cdot 10 \text{ bactérie /ml}$$

n : Nombre de colonie sur la boîte.

10^2 : Inverse de la dilution.

10 : Inverse de l'inoculum

Nombre de colonie : 0 à 9 colonies : 10^3 Ufc/ml : Numération négatif

10 à 99 colonies : 10^4 Ufc/ml : Numération douteuse

Plus de 100 colonies : 10^5 Ufc/ml : Numération positif

 La méthode à l'Anse calibrée

Technique : Une anse calibrée à 10 μ l est utilisée pour ensemer la gélose nutritive ; On prélève avec l'anse calibrée 10 μ l d'urine puis on ensemence par stries sur la boîte de gélose : une strie centrale perpendiculaire sur la moitié de la boîte, puis des stries horizontales sont réalisées tout au long de la gélose[19].

Lecture : La lecture se fait en comparant la pousse bactérienne à des témoins donnant des numérations de 10^3 à 10^7 ufc/ml.

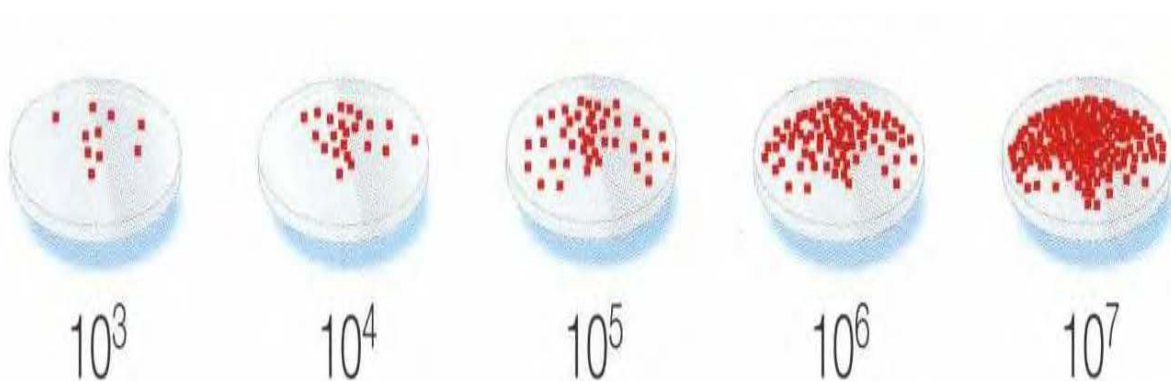


Figure 3 : Méthode à l'anse calibrée.

 Autres techniques

- **Lames immergées** (Voir annexe 7) ;
- **L'utilisation des milieux chromogènes** (Voir annexe 7).

5.2.5.4 Identification biochimique

- **Le test d'oxydase** (Voir annexe 8) ;
- **Le test a la catalase** (Voir annexe 9).
- **Galerie API**

Principe

C'est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries.

Elle comporte 20 micros tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Ces micros tubes ont été inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation (18h-24h à 37C°) se traduisaient par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification [26].

5.2.5.5. Tests de sensibilités aux antibiotiques (Antibiogramme)

Pour déterminer la sensibilité des Bacilles à Gram Négatif aux antibiotiques on utilise l'antibiogramme par diffusion des disques [29]. (Voir annexe 10)

Interprétation d'ECBU

L'interprétation d'ECBU repose sur l'association de différents critères [19] :

leucocyturie, uroculture (bactériurie et germes isolés), manifestations cliniques chez le patient et la technique du prélèvement.

 Interprétation de la leucocyturie

- Le seuil significatif de la leucocyturie est fixé à 10^4 Leuco/ml.
- Ce paramètre n'a aucune valeur chez le patient porteur d'une sonde : la leucocyturie est quasi constante.

 Interprétation des urocultures

Les travaux de KASS ont défini un seuil significatif de bactériurie à 10^5 UFC/ml, ce seuil est trop restrictif car il manque de sensibilité et peut être pris à défaut lors d'authentique IU.

Un seuil inférieur a été proposé et ce en fonction des germes retrouvés en culture dans les ECBU, on distingue 4 groupes.

Tableau 2 : Interprétation des principales situations selon le contexte et le type de prélèvement :

Contexte et prélèvement	Signes cliniques	Leucocyturie >10 ⁴ leu/ml	Bactériurie	Diagnostic et commentaire
Communautaire ou nosocomial Non sondé Prélèvement au milieu du jet	+	+	$\geq 10^3$ UFC/ml (<i>E coli</i> , <i>S. saprophiticus</i> chez la jeune femme) $\geq 10^5$ UFC/ml pour les autres espèces	Infection urinaire Rq : pour les pyélonéphrites aigues le seuil est abaissé à 10 ⁴ UFC / ml
	-	- ou +	$\geq 10^5$ UFC/ml	Colonisation Rq1 : ATB gramme pour f. enceinte, transplanté, ID Rq2 : une colonisation chez la f. enceinte est conclue sur deux ECBU.
	-	-	$\leq 10^3$ UFC/ml	Absence d'infection urinaire
	-	-	$\geq 10^5$ UFC/ml	Bactériurie sans leucocyturie - Contamination du prv ++ - Patient neutropénique - Phase initiale d'IU
Sondage urinaire IAS	+	Non interprétable	$\geq 10^5$ UFC/ml avec au plus de germes	Infection urinaire
	-	Non interprétable	$\geq 10^5$ UFC/ml	Colonisation

Urine sur sac collecteur

- L'urine prélevée à l'aide d'une poche est une technique peu fiable.
- Une uroculture < 10³ UFC/ml permet d'exclure une IU mais si elle est > 10⁴ UFC/ml, elle doit être interprétée en fonction du tableau clinique, du nombre d'espèces isolées et de leur nature. En cas de doute, ne pas hésiter à demander un deuxième prélèvement.

Ponction sus pubienne 100 µl d'urines sontensemencées, le seuil significatif est abaissé à 10 UFC/ml.

Les bacilles à Gram négatif occupent une place importante en pathologie humaine. Généralement, on les divise en deux grands groupes : les bacilles à Gram négatif fermentaires (entérobactéries) et les bacilles à Gram négatif non fermentaires [30].

1 Les bacilles à gram négatif fermentaires (entérobactéries)

1.1 Généralité /Classification

Les entérobactéries correspondent à un groupe relativement homogène au niveau phylogénétique parmi les Gamma-protéobactéries [31].

Les membres de cette famille, souvent appelés Entérobactéries ou bactéries entériques (du grec enterikos, appartenant à l'intestin) [32].

La famille des Entérobacteriaceae est constituée de genres bactériens qui sont rassemblés en raison de leurs caractères bactériologiques communs [33].

Les entérobactéries appartiennent à :

- Domaine : Eubactéria ;
- Embranchement : Proteobactéria ;
- Classe : Gammaproteobacteria ;
- Ordre : Enterobactériales ;
- Famille : Enterobacteriaceae.

Cette famille comprend actuellement 100 espèces répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* [4].

1.2 Les entérobactéries uropathogènes

Les entérobactéries sont les germes le plus souvent isolés dans les infections urinaires. Cela s'explique par la physiopathologie ascendante de l'infection urinaire à partir de la flore uréthrale (colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive) et par la présence de facteurs spécifiques d'uropathogénicité (adhésines, uréase ...)[34].

1.2.1 *Escherichia coli*

L'espèce *Escherichia coli* appartient à :

- Famille : Entérobactériaceae ;
- Genre : *Escherichia* ;
- Espèce : *Escherichia coli*.

1.2.1.1 Habitat

E coli est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. Elle représente à elle seule la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de 10^8 par gramme de fèces (flore totale: 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme) [35].

1.2.1.2 Caractères bactériologiques

- **Caractères morphologiques**

Coccobacille à Gram négatif, a sporulée, mesurant 2 à 4 μ de long sur 0,4 μ de large, mobile grâce à une ciliature péritriche [36].

- **Caractères cultureux**

Germe aéro-anaérobie facultatif, non exigeant [36]. Capable de croître sur des milieux ordinaires à base de peptone ou d'extraits de viande et non halophiles [37]. *E coli* se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux géloses en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactoses, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang elles peuvent être hémolytiques [35].

- **Caractères biochimiques**

E. coli possède les caractères biochimiques suivants [36] :

- Les caractères négatifs : oxydase, gélatinase, H₂S, citrate de Simmons, VP.
- Les caractères positifs : catalase, nitro-réductase, TDA, glucose, lactose, mannitol, sorbitol, Gaz en glucose, ONPG, indole, RM, LDC.
- Uréase (+/-), ODC (+/-), ADH (+/-).

- **Caractères antigéniques**

Comme toutes les entérobactéries, *E coli* possède les antigènes somatique (O), flagellaire (H) et capsulaire (K).

- Chaque antigène somatique (O) : permet de définir un sérotype correspondant.

On distingue jusqu'à présent 163 antigènes (O) différents.

- Les antigènes flagellaires (H) : sont au nombre de 50.
- Les antigènes capsulaires (K): (inhibent l'agglutinabilité (O) lorsqu'ils sont présents), on distingue trois catégories L, A et B. À l'heure actuelle 94 antigènes (K) différents sont recensés. En définitive, la formule complète d'un colibacille apparaît complexe :

Exemple : O138 : K81 (B) : H19 [38].

1.2.1.3 Pouvoir pathogène

E. coli est souvent responsable de gastroentérites graves pouvant être mortels dans certains cas à l'absence de traitement. Elle est également incriminée dans les infections urinaires (80 % des infections urinaires), génitales, dans les méningites et dans diverses suppurations [39].

1.2.2 Le groupe (*Klebsiella*– *Enterobacter* – *Serratia*)

Dans le groupe KES sont rassemblée des Enterobacteriaceae qui ont en commun le caractère suivant :

La réaction de Voges-Proskauer (VP) est généralement positive [40].

1.2.2.1 Le Genre *Klebsiella*

On distingue plusieurs espèces mais *klebsiella pneumoniae* est la plus fréquemment retrouvée en clinique humaine.

1.2.2.1.1 Habitat

Klebsiella pneumonia est très répandue dans la nature on peut l'isoler de l'eau, de végétaux, sol et d'aliments divers. Cette espèce est rencontrée dans la flore fécale de 30 à 40 % des animaux et de l'homme (bactérie ubiquitaire présente dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des hommes et des animaux en tant que bactérie commensale), elle végète sur la peau, les muqueuses et les voies respiratoires supérieures. Fréquente dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale [35].

1.2.2.1.2 Caractères bactériologiques

- **Caractères morphologiques**

Bacilles à Gram négatif, immobiles, non sporulés, diplobacille généralement capsulée [41], la capsule est essentielle à la virulence. Elle forme d'épais faisceaux de structure fibrillaire couvrant la surface bactérienne en couche épaisse et dense qui protège la bactérie de la phagocytose par les polynucléaires neutrophiles, d'une part de l'effet bactéricide de facteurs sériques d'autre part ; les souches exprimant les antigènes capsulaires K1 et K2 sont particulièrement virulentes dans un modèle murin de péritonites comparées à d'autres sérotypes qui sont peu ou pas virulents [42].

- **Caractères culturels**

Klebsiella pneumoniae se développe en aéro-anaérobiose. Sur les milieux classiques d'isolement pour entérobactérie (Drigalski, Hektoen, MacConkey, EMB) après une incubation de 18 à 24 h à 30 ou à 37°C, les colonies sont d'un diamètre de 3 à 4 mm, rondes, lisses, lactose positive bombées, brillantes, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine. [43, 44].

En milieu liquide (bouillon nutritif, eau peptonée), la culture est rapide (quelques heures) à 30°C et 37°C pour *K. p* avec parfois dépôt muqueux et collerette visqueuse en surface [44].

- **Caractères biochimiques**

- Les caractères négatifs : indole, H₂S, TDA.
- Les caractères positifs : glucose, NO₃, ONPG, LDC, VP, Uréase [45].

- **Caractères antigéniques**

Klebsiella pneumoniae comporte :

- Des antigènes somatiques (O) : La recherche des antigènes (O) présente peu d'intérêt pratique, en raison de la difficulté de leur détermination par suite du caractère thermostable des antigènes capsulaires.
- Des antigène capsulaire (K) : de nature polysaccharidique au moins 77 antigènes (K) ont été décrites chez *K.pneumoniae* (K1) à (K 72), (K 74) à (K 82). Les souches les plus souvent pathogènes pour l'homme et les animaux appartiennent aux types capsulaires 1 et 2, plus rarement 3 et 4.

- Antigènes d'Adhérence : appelé fimbriae, de nature protéique, porté par des pili communs [43, 44].

1.2.2.1.3 Pouvoir pathogènes

Klebsiella pneumoniae est un pathogène à fort potentiel épidémique fréquemment impliqué dans des infections sévères. De nombreuses épidémies nosocomiales causées par cette bactérie ont été décrites, notamment chez des patients hospitalisés dans des unités de soins intensifs adultes ou pédiatriques [46, 47]. Elle est l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections urinaires [48].

1.2.2.2 Genre *Enterobacter*

Ce germe comprend plusieurs espèces dont : *Enterobacter cloacae* est l'espèce type.

1.2.2.2.1 Habitat

Enterobacter cloacae et *Enterobacter aérogène* sont rencontrés dans les eaux usées, le sol, les aliments (produits lactés ou viandes) [44].

Enterobacter cloacae est une commensale du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud [44].

1.2.2.2.2 Caractères bactériologiques

- **Caractères morphologiques**

Ce sont des bacilles à gram négatif, mesurant 0,6 à 0,1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur. Ils se déplacent grâce à un flagelle péri triche [44].

- **Caractères culturels**

L'*Enterobacter cloacae* a une croissance rapide sur les milieux usuels à 37°C. Sur le milieu héktoène, les colonies sont rondes de couleurs saumon et légèrement irisées [44].

- **Caractères biochimiques**

Les *Enterobacter cloacae* produisent un acide à partir de la fermentation du glucose, donnent une réaction négative à l'épreuve de rouge de méthyle et une réaction positive au test de Voges-Proskauer, leur température optimale de croissance est de 30°C [49].

- Les caractères positifs : ONPG +, VP+; ODC+; ADH +,
- Les caractères négatifs : Uréase-, LDC -, H₂S -, Indole -, TDA- [44].

1.2.2.2.3 Pouvoir pathogène

C'est un germe qui colonise souvent les patient hospitalisées et plus particulièrement ceux traités par des antibiotiques, et peut être à l'origine d'infections urinaires, de pneumonies, ainsi que d'infections cutanées [50].

1.2.2.3 Genre *Serratia*

L'espèce type est *Serratia marcescens*.

1.2.2.3.1 Habitat

Serratia marcescens est une espèce ubiquitaire qui se trouve dans la nature (eau, sol, plantes, insectes, animaux), dans l'environnement hospitalier (sols, air, eau ou siphons des éviers), et le matériel médical [33, 51, 52].

Cette bactérie est considérée comme pathogène opportuniste, elle touche le personnel hospitalier ou les patients au niveau de certaines muqueuses telles que le nez, la gorge et le tube digestif [53, 54].

1.2.2.3.2 Caractères Bactériologiques

- **Caractères morphologiques**

Serratia marcescens est un bacille à Gram négatif qui mesure 0,5-0,8 µm de diamètre et de 0,9-2 µm de longueur [55], mobile, parcellaire, péritriche, asporulée [56] et acapsulée mais certaines études ont montré que la capsule peut être formée quand les souches sont cultivées en anaérobiose sur un milieu de culture qui contient de faibles quantités de nitrogène et de phosphate [57].

- **Caractères cultureux**

Certaines souches de *Serratia marcescens* produisent un pigment non diffusible d'une couleur rose à rouge vif appelé la prodigiosine : c'est un métabolite secondaire alcaloïde [58].

Ce pathogène se développe en aéro-anaérobie facultative, cultivant sur les milieux ordinaires d'isolement pour les entérobactéries (Tryotase Soja, Mac Conkey, Heckroen, Luria Bertani ...), les colonies sont d'un diamètre de 1 à 3 mm, opaques, circulaires et

convexes sur la gélose nutritive, elles peuvent pousser facilement pendant 24 heures à 30 - 40°C, elles n'ont pas besoin des facteurs de croissance [33].

- **Caractères biochimiques**

- Caractères négatifs : oxydase, H₂S, TDA, ADH, uréase.
- Caractères positifs : catalase, VP, ONPG.

Elle produit trois enzymes hydrolytiques : la lipase, la gélatinase et la Dnase [59].

1.2.2.3.3 Pouvoir pathogène

Serratia maecescens est fréquemment impliquée dans plusieurs types d'infections nosocomiales notamment les infections urinaires après manœuvres instrumentales. [60, 61].

1.2.3 Le groupe (*Proteus*, *Morganella* et *Providencia*)

Les bactéries des genres *Proteus*, *Morganella*, et *Providencia* (PMP) appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae [62].

Bien que tous ces organismes soient omniprésents dans l'environnement, des rapports épidémiologiques indiquent qu'ils sont capables de causer de graves problèmes de maladies infectieuses, et qu'ils sont souvent en cause dans les infections urinaires [63].

1.2.3.1 Genre *Proteus*

L'espèce type est *Proteus mirabilis*.

1.2.3.1.1 Habitat

Les *Proteus* sont très répandus dans la nature, on les rencontre dans les eaux de surface, les eaux usées, le sol, sur les légumes, dans la flore de putréfaction des matières organiques animales. Ils végètent en saprophytes sur la peau et les muqueuses, ils sont les hôtes habituels du tube digestif de l'homme et des animaux [44].

1.2.3.1.2 Les caractères bactériologiques

- **Caractères morphologiques**

Le *Proteus sp* sont des bacilles à gram négatif, très généralement mobiles, polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 10 µm à 80 µm de longueur [40].

- **Caractères culturels**

En milieu gélosé *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris* peuvent envahir la surface de milieu en formant des ondes concentriques. Cet assainissement ou swarming, est dû à la grande mobilité de la bactérie. L'envahissement des cultures par les *Proteus* peut être réduit par la présence dans le milieu des sels biliaires ou de détergents, par accroissement de teneur en gélose ou par une diminution de la teneur en NaCl (milieu CLED) [40].

- **Caractères biochimiques**

Les *Proteus* sont caractérisés par leur uréase très active, la production d'H₂S, d'une gélatinase et leur pouvoir glucidolytique faibles [40, 64].

- Fermentation des sucres: glucose + ;
- Réduction des nitrites en nitrates : NO₃⁺ ;
- Métabolisme du tryptophane en indole : indole - ;
- ONPG -, ODC⁺, TDA⁺.

1.2.3.1.3 Pouvoir pathogène

- Infection urinaires communautaires ou nosocomiales. *Proteus mirabilis* grâce à son uréase puissante peut alcaliniser les urines et être responsables de lithiases. Ces lithiases se comportent comme du matériel étranger qui permet à l'infection de devenir chronique, entraînant ainsi une destruction progressive du parenchyme rénal.
- *Proteus mirabilis* peut être responsable des infections localisées surtout cutanées, infections des voies respiratoires, des septicémies et bactériémies [64, 65].

1.2.3.2 Genre *Providencia*

Les espèces du genre *Providencia* sont habituellement considérées comme commensales dans le tube digestif, mais certaines espèces (*Providencia stuartii* et *Providencia alcalifaciens*) ont été associées à des infections nosocomiales et sont considérées comme des pathogènes opportunistes [66, 62].

Tous les isolats rapportés d'espèces de *Providencia* ont été isolés à partir de cas cliniques chez les humains et les animaux et on en sait peu sur la source de ces infections. Chez l'homme, ces bactéries sont la cause des infections urinaires [67].

1.2.3.3 Genre *Morganella*

Le genre *Morganella* se compose actuellement d'une seule espèce avec deux sous-espèces, *morganii* et *sibonii* [62]. *Morganella morganii* est un organisme facultatif, anaérobique et ne fermente pas le lactose [68]. Il se trouve normalement dans le sol, l'eau, les eaux usées, et il fait également partie de flore fécale de l'homme [69].

Ce bacille est reconnu comme étant un pathogène commun responsable d'infections opportunistes dans les voies respiratoires, urinaires et aussi les infections des plaies [70].

2 Les bacilles à gram négatif non fermentaires

2.1 Généralités

Sont des bactéries aérobies strictes, caractérisées par un mode de production énergétique ne faisant pas intervenir la fermentation. On retrouve essentiellement les espèces *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.

On à d'autres espèces appartiennent aux genres: *Stenotrophomonas*, *Burkholderia*, et *Achromobacter* [71].

2.2 Genre *Pseudomonas*

L'espèce type c'est *Pseudomonas aeruginosa*.

2.2.1 Taxonomie

Pseudomonas aeruginosa appartient à :

Règne : bacteria

Embranchement : Procaryotes ;

division : Proteobacteria ;

Classe : Gammaproteobacteria ;

Ordre : Pseudomonadales ;

Famille : Pseudomonadaceae ;

Genre : *Pseudomonas* ;

Especie : *Pseudomonas aeruginosa* [72].

2.2.2 Habitat

Pseudomonas aeruginosae est une bactérie opportuniste vivant normalement à l'état saprophyte dans l'eau, les sols humides et les végétaux, mais qui peut également vivre à l'état commensale sur la peau ou à l'intérieur du système digestif de divers animaux [73].

2.2.3 Caractères bactériologiques

- **Caractères morphologiques**

Pseudomonas aeruginosae est l'espèce type du genre *Pseudomonas* [74]. Un Bacilles à Gram négatif, en forme de bâtonnets droits et fins de 1 à 3 µm de long et 0,5 à 1 µm de large, mobiles grâce à la présence d'un flagelle mono triche polaire, non sporulés [75]. Parfois entourés d'un pseudo capsule appelée slime qui peut jouer un rôle important dans la pathogénicité des espèces de ce genre [35].

- **Caractères cultureux**

Germes mésophiles capables de se développer dans des températures allant de + 4°C à + 45°C avec une température optimale de croissance entre 30°C et 37°C [75].

La culture est facile sur milieu complexe avec ou sans production de pigment, ces souches sont capables de cultiver sur des milieux minéraux synthétique avec une source simple de carbone: acétate, pyruvate et des milieux sélectifs à base de Cétrimide que l'on peut additionner d'antibiotique (acide nalidixique). Les colonies de *P. Aeruginosae* sont polymorphes, soit large avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier (œufs sur le plat), soit des petites colonies mates légèrement bombées avec un bord circulaire régulier, des colonies muqueuses bombées, opaques, visqueuses parfois coulantes .

La bactérie produit alors un polysaccharide extracellulaire qui est différent du slime [35]. Comme d'autres *Pseudomonas*, *P. aeruginosae* sécrète un certain nombre de pigments, entre autre la pyocyanine (bleu-vert), la fluorescéine (jaune vert fluorescent) et pyorubine (brun -rouge) [76].

- **Caractères biochimiques**

Pseudomonas aeruginosae n'est pas capable de fermenter les sucres mais peut les attaquer (le Glucose en particulier) par voie oxydative, entraînant une acidification du milieu. Comme la plupart des *Pseudomonas*, elle possède une oxydase [77], d'autres caractères sont utiles pour le diagnostic d'espèce : indole - ; urée - ; H₂S- ; ONPG- ; TDA - ; LDC - ; ODC- ; ADH +.

- **Caractères antigéniques**

Il existe chez *Pseudomonas aeruginosae* des antigènes de paroi (O) thermostables et des antigènes flagellaires (H) thermolabiles.

Habs décrit aussi douze groupes antigéniques (O) qu'il put révéler après destruction par la chaleur des antigènes (H) thermolabiles [78].

2.2.4 Pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosae est un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales graves [79]. Il est responsable de 16% d'infections pulmonaires, de 12% d'infections urinaires, de 8 % des infections touchant les grands brûlés et 10% des infections du sang (bactériémies et ou septicémies). Cette bactérie est également une cause majeure de mortalité et de morbidité chez les personnes atteintes de mucoviscidoses [80].

2.3 Genre *Acinetobacter*

L'espèce type c'est *Acinetobacter baumannii*

2.3.1 Taxonomie

Acinetobacter baumannii appartient à :

Règne : *bacteria*,

Embranchement : Procaryotes,

division: Proteobacteria,

Classe: Gammaproteobacteria,

Ordre: Pseudomonadales,

Famille: Moraxellaceae,

Genre : *Acinetobacter*

Espèce : *Acinetobacter baumannii* [81].

2.3.2 Habitat

Acinetobacter baumannii est considérée comme une bactérie ubiquiste ayant pour principal habitat le sol, les eaux, les végétaux, et des animaux [82]. Chez l'homme, elle peut coloniser la peau, les plaies et les tractus aériens et digestifs, elle peut résister la dessiccation pendant plusieurs semaines [83].

2.3.3 Caractères bactériologiques

- **Caractères morphologiques**

Acinetobacter baumannii est un coccobacilles à gram négatif, non sporulés, parfois capsulé, immobiles [84].

- **Caractères cultureux**

Germe aérobie strict, non fermentant [84]. L'isolement en milieu solide peut être obtenu après incubation à température comprise entre 15°C et 44°C, sur des milieux conventionnels (gélose au sang, gélose trypticase soja, etc.), et sur les milieux dédiés aux bacilles à Gram négatif comme la gélose Mac conkey ou la gélose de Drygalski [85].

Sur gélose ordinaire les colonies ont un diamètre de 2 à 3 mm, convexes, à bords réguliers, souvent translucides [84].

- **Caractères biochimiques**

- Ce sont des aérobies stricts, catalase (+), oxydase (-), prototrophes [40].
- Ils ne réduisent généralement pas les nitrites en nitrates en milieu complexe .
- L'oxydation du glucose et d'autres sucres en acide gluconique résulte de la présence d'un glucose déshydrogénase membranaire.
- LDC - ; ODC - ; ADH - ;
- H₂S - ; INDOLE - ;
- Hydrolyse de la gélatine [86].

2.3.4 Pouvoir pathogène

Acinetobacter baumannii est responsable de 5 à 10 % des infections nosocomiales dans des services accueillant des patients fragilisés, notamment les services de soins intensifs et de réanimation.

On observe surtout des infections pulmonaires chez des patients sous ventilation assistée, des infections urinaires sur sondes et des infections liée aux cathéters avec le risque de septicémie.

Les individus en bonnes santé ne sont généralement pas infectés [8].

1 Traitement Antibiotique des infections urinaires

1.1 Généralité sur les antibiotiques

1.1.1 Définition

On appelle «Antibiotique » toute substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique ou semi-synthétique capable d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs [88]. Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérés par l'hôte [90,91].

1.1.2 Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon plusieurs critères :

1.1.2.1 Origine

Les antibiotiques naturels, élaborés par les micro-organismes :

- Des champignons inférieurs : Penicillium, Céphalosporium ;
- Des bactéries : Bacillus et surtout Stréptomyces (90% des antibiotiques sont produits par des Stréptomyces) ;

Les antibiotiques hémi synthétiques, obtenus par modification chimiques des composés de base naturelle, ex : bêta-lactamines.

Les antibiotiques synthétiques ou artificiels, obtenus par synthèse chimique, ex : quinolones et sulfamides.

1.1.2.2 Spectre d'activité (Voir annexe 01)

Le spectre est propre à chaque antibiotique, et peut varier dans le temps suite à l'apparition de résistance bactérienne.

- Les antibiotiques à large spectre : aminosides ; phénicolés ; cyclines ; sulfamides.
- Les antibiotiques à spectre étroit : macrolides ; glycopeptides ; polymyxines.

1.1.2.3 Nature chimique

Elle est basée sur une structure de base (ex : cycle β -lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse, cette classification nous permet de classer les antibiotiques en familles (β -lactamines, aminosides, tétracyclines....etc.) [91, 96].

1.1.2.4 Mode d'action

- Les antibiotiques bactéricides : bêta-lactamines ; aminosides ; polypeptides ; rifamycines ; nitro-imidazolés ; cotrimoxazole.
- Les antibiotiques bactériostatiques : glycopeptides ; pénicillines ; polymyxines ; macrolides.

L'action antibactérienne s'effectue selon quatre principaux mécanismes :

- ✓ Une inhibition de la synthèse des constituants de la paroi,
- ✓ Un blocage de la synthèse des protéines,
- ✓ Un blocage de la synthèse des acides nucléiques
- ✓ Une altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique [89].

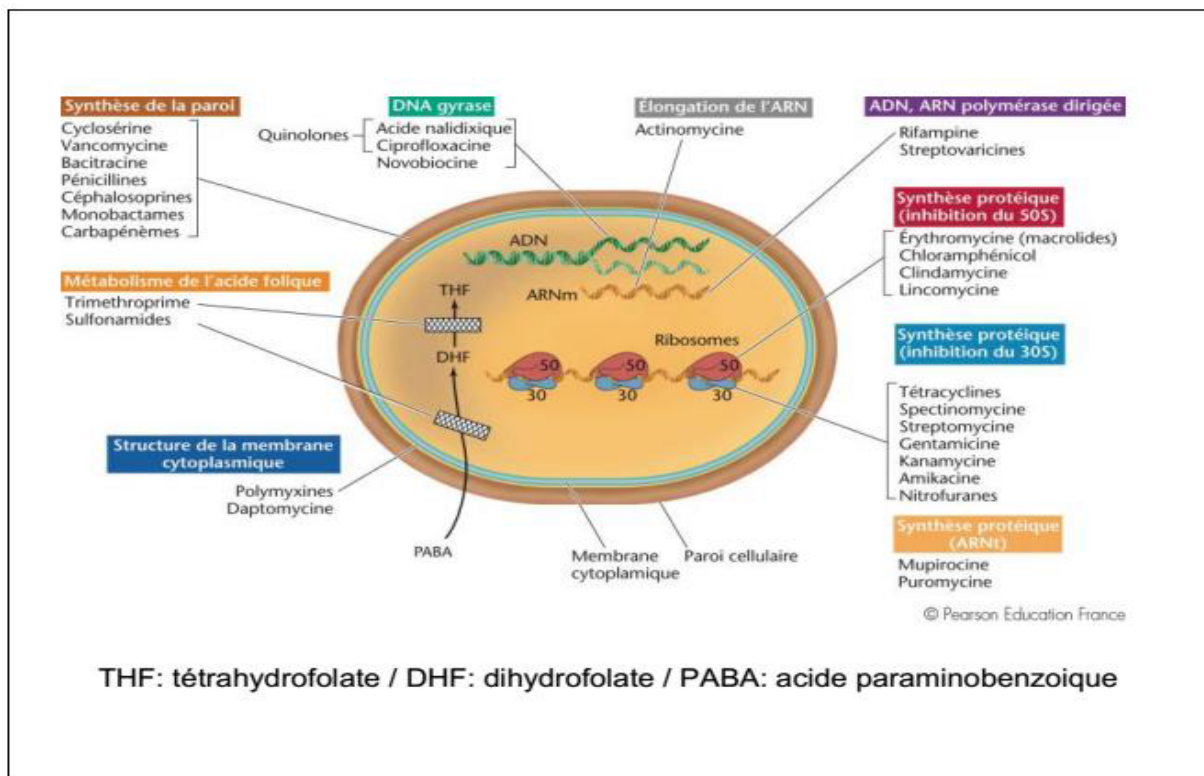


Figure 4 : Cible d'action des antibiotiques [97].

A. Antibiotiques agissant sur la synthèse des peptidoglycanes

A. 1. β -lactamines (Voir annexe 01)

Antibiotiques bactéricides inhibant la synthèse de la paroi bactérienne en inactivant les PLP (protéines liant les pénicillines)

- Pénames ;
- Pénèmes ;
- Céphèmes ;
- Carbapénèmes, oxapénèmes et monobactames.

A. 2 .Glycopeptides et fosfomycine (Voir annexe 01)

B. Inhibiteurs de la synthèse des protéines (Voir annexe 01)

- Aminosides ;
- Macrolides-Lincosamides-Streptomycines (MLS) ;
- Tétracyclines ;
- Phénicolés .

C. Antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires (Voir annexe 01)

Polymixines.

D. Inhibiteurs des acides nucléiques (Voir annexe 01)

- Quinolones et Fluoroquinolones ;
- Rifamycines ;
- Nitrofuranes , Novobiocine et Nitro-Imidazoles.

E. Inhibiteurs de la synthèse des folates (Voir annexe 01)

- Sulfamides ;
- Triméthoprim et association.

1.2 Antibiothérapie des infections urinaires

1.2.1 Antibiotiques à action urinaire

Un ATB à action urinaire doit posséder certaines qualités ;

- ✓ Etre actif sur les espèces bactériennes habituellement responsables d'IU.
- ✓ S'éliminer dans les urines sous forme active.
- ✓ Atteindre les concentrations suffisantes dans le parenchyme rénal et les urines.
- ✓ Etre aussi peu tributaire que possible des conditions physico-chimiques des milieux (pH, osmolarité, composition ionique, etc.). Dans certains cas, des modifications de pH sont nécessaires pour permettre à un antibiotique d'avoir un effet maximal (pH alcalin

pour les aminosides et les macrolides, pH acide pour les pénicillines et les tétracyclines).

✓ Etre peu affecté par la densité des bactéries. Certains produits comme les polymyxines perdent une partie de leur activité en présence d'inoculums denses tels que ceux de la plus part des IUs.

✓ Induire un faible taux de mutation bactérienne.

✓ Convenir aux malades les plus exposés aux IUs, femmes enceintes, sujets âgés, sujets opérés, sujets avec insuffisance rénale [98].

Nous ne pouvons dans le cadre de cette étude que citer brièvement quelque médicament usuel :

1. Les Bêta-lactamines

- Les pénicillines du groupe « G » ordinaire : ont un spectre surtout actif sur les Cocci et bacilles à Gram positif autre que le staphylocoque.
- Les pénicillines du groupe « M » : sont actives sur les staphylocoques.
- Les pénicillines du groupe « A » : ont un spectre élargi aux germes Gram négatif en particulier le colibacille.
- Les céphalosporines (Céfalotine, Céfoxitine, Céfotaxime) sont actives sur le staphylocoque avec un spectre élargi aux bactéries Gram négatif.
- Les monobactames (l'Aztréonam) ont un spectre d'activité étroit sur les bactéries à Gram négatif aérobies. Ils n'ont aucune activité sur les anaérobies et les bactéries à Gram positif.

2. Les aminosides

Les aminosides sont habituellement actifs sur les bacilles à Gram négatif , staphylocoques Méti-S, les cocci à Gram négatif.

3. Les macrolides

Les macrolides sont actifs sur les Cocci à Gram positif (à l'exception des staphylocoques Méti-R et les pneumocoque).

4. Sulfamides + Triméthoprime : sont surtout actifs sur les staphylocoques, les salmonelles, Shigella.

5. Quinolones : Elles sont très utilisées actuellement.

- 1ère génération « Quinolones urinaires » : elles sont habituellement actives sur *E. coli*, *P. vulgaris*, *K. oxytoca*.
- 2ème génération « Quinolones systémiques » : elles sont actives sur les entérobactéries, les germes intra cellulaires, les staphylocoques Méti-S, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*.
- 3ème génération « Quinolones anti-pneumococciques » : la lévofloxacine et la moxifloxacine sont les plus actives in vitro sur le pneumocoque y compris les souches résistantes à la pénicilline et aux macrolides [24,99].

6. Fosfomycine

Est souvent utilisé en association avec la triméthoprime (MONURIL*) dans le traitement monodose de la cystite aigue non compliquée de la femme et de l'adolescente pubère.

1.2.2 Indication de l'antibiothérapie

a. Bactériurie asymptomatique [100]

Elle ne doit être traitée que chez les sujets à risque (diabétiques, immunodéprimés, reflux vésico-urétéral, grossesse) avec une antibiothérapie conventionnelle de 7 à 10 jours.

b. Cystite [101]

Elle peut être traitée de trois manières différentes :

▪ Traitement conventionnel

Durant 7 à 10 jours, il se fait au choix avec des Quinolones, Cotrimoxazole et Céphalosporines orales.

▪ Traitement de 3 jours

Mieux suivi et moins cher, exposant à moins d'effets secondaires.

▪ Traitement « minute »

Un traitement par dose unique est indiqué chez la femme de moins de 65 ans, non enceinte, en cas d'infection urinaire non compliquée évoluant depuis moins de 3 jours en l'absence d'antécédent néphro-urologique sous-jacent sévère.

d. Pyélonéphrite aiguë

Comme il s'agit d'un traitement d'urgence mis en route le plus souvent avant le résultat bactériologique. La pyélonéphrite aigue doit être traitée intensivement par

antibiothérapie double et par voie parentérale jusqu'à la disparition de la bactériurie suivie de la prise de l'un des antibiotiques efficaces pendant 4 à 6 semaines en per os. [24]

Le relais par voie orale se fait après 24 heures d'apyrexie, les bêta-lactamines ont prescrits pendant trois semaines consécutives.

e. Prostatite [100]

Symptomatique dans la quasi-totalité des cas.

Vu que tous les antibiotiques ne pénètrent pas le tissu prostatique ou ne sont pas actifs dans le liquide prostatique qui est fortement acide. On utilise des produits alcalins, liposolubles peu fixés aux protéines c'est-à-dire : macrolides et tétracyclines.

f. Traitement de la femme enceinte [101]

Le traitement d'une femme enceinte est systématique pour éviter une pyélonéphrite aiguë. La cystite est traitée 7 à 10 jours (les résultats des traitements courts ne sont pas assez documentés).

Les bêta-lactamines et les céphalosporines sont toujours utilisables.

g. Infection urinaire sur sonde à demeure

L'infection urinaire sur sonde à demeure est constante.

- L'abstention thérapeutique est de règle quand le patient est asymptomatique :

Une bonne hygiène périnéale, du gland ou de la vulve est nécessaire ;

Le sondage demande un drainage clos, déclive, muni d'un dispositif anti-reflux ;

- En cas d'infection urinaire symptomatique (fièvre), une antibiothérapie est prescrite pendant 10 jours, adaptée selon l'antibiogramme.

Le traitement préventif par antibiotique continu à faible dose est important.

2 Profil de résistance des Bacilles à Gram Négatif aux Antibiotiques

2.1 Généralité sur la résistance aux antibiotiques

2.1.1 Définition

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée de cet antibiotique [102].

Selon l'OMS : une souche résistante est une souche qui supporte une concentration d'ATB notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce [103].

2.1.2 Classification

La résistance aux antibiotiques des bactéries peut être naturelle ou acquise :

2.1.2.1 La résistance naturelle ou intrinsèque

La résistance naturelle, est une caractéristique propre d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Portée par le chromosome, elle est stable, et transmise à la descendance. Elle constitue un caractère d'identification des bactéries et détermine le phénotype « sauvage » des bactéries [104].

2.1.2.2 La résistance acquise

La résistance acquise ne concerne que certaines souches bactériennes au sein d'une espèce donnée. Variable dans le temps et dans l'espace, elle se propage de façon importante. Elle est portée par le chromosome, les plasmides, ou des éléments génétiques mobiles, permettant ainsi une transmission verticale à la descendance mais aussi une transmission horizontale, parfois entre espèces différentes. Elle détermine le phénotype de la résistance des bactéries. Elle s'acquiert soit par mutation sur un chromosome, soit par l'acquisition de gènes extra-chromosomiques [104].

2.1.2.3 Les bactéries multi résistantes

Les bactéries sont dites multi résistantes aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique. [105]

2.1.3 Mécanisme de résistance des bactéries

2.1.3.1 Les mécanismes génétiques de la résistance acquise [106].

Une bactérie peut acquérir une résistance aux ATB par deux grandes mécanismes génétiques, l'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique.

- **La résistance chromosomique** (Voir annexe 02)

Elle résulte d'une mutation, c'est un phénomène rare, du au hasard, il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique. Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistante (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique).

C'est un phénomène indépendant : l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques, la probabilité de deux mutations simultanées est donc très faible.

Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique et une bactérie mutée est souvent contre-sélectionnée en l'absence d'antibiotique.

- **La résistance extra-chromosomique** (Voir annexe 02)

Deux faits expliquent l'importance de la résistance plasmidique :

-la résistance plasmidique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie. Les bactéries porteuses de plasmides sont normales alors que les bactéries résistantes par mutation sont souvent fragilisées. Aussi, les bactéries porteuses de plasmides ne sont pas ou peu contre-sélectionnées en l'absence d'antibiotique.

-de nombreux plasmides de résistance sont conjugatifs ou mobilisables ce qui permet un transfert horizontal ces transferts sont à l'origine d'une dissémination très importante de la résistance au sein des populations bactériennes ce qui fait qualifier la résistance plasmidique de " contagieuse ou d'infectieuse " [90, 96 ,108 ,109].

2.1.3.2 Les mécanismes biochimiques de la résistance acquise [106].

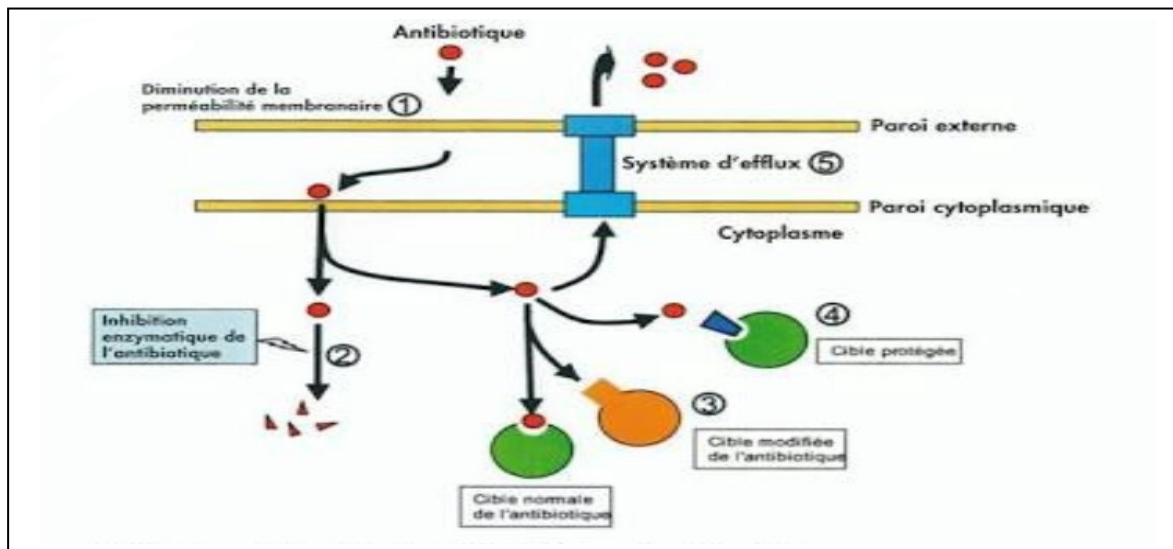


Figure 5: Les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques.

(1) Diminution de la perméabilité : c'est une mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie.

(2) Production d'enzymes inactivant les antibiotiques : Par ce mécanisme, la bactérie acquiert la capacité d'inactiver l'action des antibiotiques par la sécrétion d'enzymes avant même qu'ils n'aient pénétrés au sein du microorganisme.

(3) Modification de la cible des antibiotiques : La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie.

L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité [90,110].

(4) Efflux actif : l'efflux repose sur une pompe insérée dans la membrane et capable d'éjecter l'antibiotique hors de la bactérie grâce à un canal ; cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique [93, 112,111].

2.2 Résistance des BGNs aux antibiotiques

2.2.1 Les BGNs fermentaires: (*Entérobactéries*)

2.2.1.1 Résistance naturelle (Voir annexe 03 et 05)

Toutes les entérobactéries présentent une résistance naturelle à : La pénicilline G et M, Macrolides, Lincosamides, Synergistines, Clindamycine et Glycopeptides, [104].

Elles sont habituellement sensibles aux β -lactamines, Phénicoles, Tétracyclines, Sulfamides, Triméthoprim, Nitrofuranes, Fosfomycine, Colistine et Aminosides [95].

Mais il existe quelques exceptions propres à chaque espèce :

- **Les souches d'*E. coli*** sont sensibles à toutes les bêta-lactamines, malgré la présence d'une céphalosporinase chromosomique d'espèce de classe C qui est exprimée à très bas niveau.
- ***Klebsiella pneumoniae*** est naturellement résistant aux pénicillines (amoxicilline et ticarcilline) par production d'une bêta-lactamase chromosomique d'espèce de classe A, inhibée par l'acide clavulanique [64].
- ***Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes*** sont naturellement résistants à l'amoxicilline, à l'amoxicilline-clavulanate, à la céfalotine et à la céfoxitine par production d'une bêta-lactamase chromosomique de classe C inducible AmpC [113, 114, 115].
- ***Serratia marcescens*** est également résistante aux poly-myxines, aux aminopénicillines et aux céphalosporines de première et de deuxième génération par production d'une céphalosporinase d'origine chromosomique inducible AmpC [116].
- ***Proteus mirabilis*** est naturellement résistant à la colistine, cyclines (spécificité de l'espèce *mirabilis*) et furanes.
- ***Morganella morganii*** est naturellement résistante à la colistine. Ainsi que l'amoxicilline. L'amoxicilline-clavulanate et la céfalotine n'ont pas d'activité car *M. morganii* produit une bêta-lactamase chromosomique de classe C inducible de type AmpC.

2.2.1.2 Résistance acquise

2.2.1.2.1 Résistance aux bêta-lactamines

1. *Escherichia coli*

Elle résiste par production de plusieurs enzymes :

- **Bêta-lactamase de classe A haut niveau (pénicillinase):** Les souches d'*E. coli* présentent une résistance de haut niveau à l'amoxicilline et la ticarcilline, qui est due à l'élaboration d'une pénicillinase. L'inhibition de cette activité enzymatique est réalisée par l'acide clavulanique. L'activité de cette pénicillinase est réduite pour les uréidopénicillines (piperacilline) et les céphalosporines de 1ère et 2^{ème} génération.
- **Bêta-lactamase de classe A (pénicillinase TRI):** Ces souches ont le même phénotype qu'*E. coli* pénicillinase haut niveau, mais elles ont une résistance haut niveau aux associations amoxicilline-acide clavulanique (AMC) et ticarcilline-acide clavulanique (TCC) (pas d'activité d'inhibition de l'acide clavulanique).
- **Bêta-lactamase de classe A à spectre étendu:** Résistance à l'ensemble des pénicillines et céphalosporines, en particulier aux céphalosporines de 3^{ème} génération, et aux monobactames (ATM). L'activité des céphamycines et de l'imipénème n'est pas modifiée.

Une image de synergie (inhibition de l'activité enzymatique par l'acide clavulanique) est souvent détectée entre les C3G et AMC ou TCC. Lorsque le niveau d'expression de l'enzyme est trop élevé, l'image de synergie est plus difficile à mettre en évidence [64].

2. *KES (Klebsiella, Enterobacter, Serratia)*

Klebsiella pneumoniae

Elle résiste par production de plusieurs enzymes :

- **Résistance aux inhibiteurs des bêta-lactamases:** des bêta-lactamases de classe A de type IRT insensibles à l'acide clavulanique ont été décrites.
- **Bêta-lactamases de classe A à spectre étendu (BLSE) :** de nombreuses souches de *K. pneumoniae* sont productrices de BLSE. Pour la plupart d'entre elles, la production de BLSE se traduit par des images de synergie très caractéristiques entre les C3G et l'acide clavulanique (disque d'Augmentin* ou de Claventin*).

- **Bêta-lactamases plasmidiques de classe C:** chez *Klebsiella pneumoniae*, on connaît un grand nombre de bêta-lactamases plasmidiques de classe C qui dérivent des céphalosporinases chromosomiques.
- **Résistance au céfépime et au céfpirome:** elle a été récemment décrite chez *K. pneumoniae* et semble liée à la combinaison de deux mécanismes: la production à haut niveau d'une BLSE et une diminution de la perméabilité de la membrane externe.
- **Résistance à l'imipénème:** elle peut être due à l'association d'une imperméabilité de la membrane externe et à une production à haut niveau d'une bêta-lactamase plasmidique de classe C [64].

Enterobacter sp

Elle résiste par production des enzymes suivantes :

- **Mutants de céphalosporinases de classe C :** la production constitutive à haut niveau de bêta-lactamase chromosomique de classe C est un mécanisme fréquent chez *Enterobacter*. Elle entraîne une résistance additionnelle à la ticarcilline, à ticarcilline-clavulanate, au céfamandole, aux céphalosporines de troisième génération et à l'aztréonam.
- **Bêta-lactamases de classe A à spectre étendu (BLSE) :** sont de plus en plus fréquemment identifiées dans les isolats cliniques d'*Enterobacter aerogenes* [118], [117], [119], [120].
- **Carbapénèmases de classe A :** elles ont été décrites dans deux souches cliniques d'*E. cloacae* qui présentaient une résistance de haut niveau à l'imipénème. Une synergie est observée à l'antibiogramme entre l'imipénème et le disque amoxicilline-clavulanate [121], [123], [122].

Serratia marcescens

S. marcescens présente une multirésistance importante aux antibiotiques dans le monde entier. Il est bien établi que les souches de *S. marcescens* peuvent rapidement développer de la résistance à de multiples β -lactamines car elle héberge un gène, *ampC* chromosomique. En outre, certaines souches portent le chromosome qui code pour les carbapénèmases et les enzymes à médiation plasmidique peuvent provoquer la résistance à d'autres β -lactamines [124].

3. PPM (*Proteus*, *Providencia*, *Morganella*)

Proteus mirabilis

Mécanismes identiques à ceux décrits pour *E. coli*.

- **Bêta-lactamase de classe A haut niveau (pénicillinase)** : des carbénicillinasés ont été décrites.
- **Résistance aux inhibiteurs des bêta-lactamases de classe A.**
- **Bêta-lactamases de classe A à spectre étendu (BLSE).**
- **Résistance à l'imipénème** : chez *P. mirabilis*, elle n'est pas d'origine enzymatique. La résistance à l'imipénème semble associée à une altération des PLP (protéines liant la pénicilline) [64], [65].

Providencia et Morganella

Les deux germes résistent par production des enzymes cités au-dessous :

- Bêta-lactamases chromosomiques de classe C** : comme chez *Citrobacter freundii*, des mutations entraînant la production constitutive à haut niveau de la céphalosporinase chromosomique de type AmpC peuvent être responsable de la résistance acquise de *P. stuartii* et *M. morganii* à la ticarcilline, à ticarcilline-clavulanate, au céfamandole, aux C3G et à l'aztréonam.
- Bêta-lactamases de classe A à spectre étendu (BLSE).**

2.2.1.2.2 Résistance aux quinolones

Les mécanismes de résistance aux quinolones chez les entérobactéries résultent essentiellement de modifications des cibles, les topoisomérases, et plus rarement d'une diminution de la concentration intracellulaire de ces antibiotiques, par imperméabilité membranaire et/ou surexpression des systèmes d'efflux.

Le support de cette résistance est porté par un chromosome [125], [126].

2.2.1.2.3 Résistance aux aminosides

L'inactivation enzymatique des aminoglycosides est le type de résistance le plus fréquemment observé en clinique. Les enzymes modificatrices des aminosides ont été regroupés en fonction de la réaction qu'elles catalysent :

acétylation d'un groupement aminé [N-acétyl-transférase (AAC)], phosphorylation ou nucléotidylation d'un groupement hydroxyle [O-phospho-transférase (APH), O-nucléotidyltransférase (ANT)] [127].

Les gènes codant ces enzymes sont portés principalement par des plasmides et/ou de transposons, permettant une diffusion horizontale entre espèces [128].

2.2.1.2.4 Résistance aux Triméthoprine-Sulfaméthoxazole

Le cotrimoxazole est une combinaison (synergique) de triméthoprine et de sulfaméthoxazole, deux drogues qui bloquent des réactions différentes dans la même voie métabolique [129].

De toutes les familles d'antibiotiques, l'association sulfamide-triméthoprine possède indiscutablement la plus grande diversité de mécanismes de résistance acquise et de leur support génétique : modification de la perméabilité, activation de pompes d'efflux, modification quantitative ou qualitative des cibles, contournement métabolique, hyperproduction de précurseurs, absence de certaines enzymes et toute une variété de gènes exogènes acquis par la bactérie [130].

2.2.1.2.5 Résistance aux polymyxines :

Il existe 5 molécules de polymyxine nommées de A à E, dont 2 qui sont disponibles pour un usage thérapeutique : polymyxine B et la polymyxine E (colistine) [131].

Malheureusement, la colistine n'échappe pas au développement de résistance. Il existe plusieurs mécanismes suggérés de résistance à la colistine pour les bactéries à Gram négatif, dont la plupart impliquent des changements dans la membrane externe [132].

À noter qu'il n'existe sans doute pas de phénomènes d'imperméabilité membranaire ou d'efflux actif à cause de leur haut poids moléculaire [133].

2.2.2 Les BGNs non fermentaires

2.2.2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

2.2.2.1.1 Résistance naturelle

Pseudomonas est naturellement résistant à un grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une bêta-lactamase chromosomique inductible de classe C qui n'est pas inhibée par le clavulanate et qui hydrolyse préférentiellement les céphalosporines de première génération, et d'une mauvaise perméabilité membranaire [134].

Pour la famille des bêta-lactamines, les molécules qui restent actives sont la ticarcilline, la pipéracilline, la cefsulodine, l'association ticarcilline + clavulanate, la ceftazidime, l'aztréonam et l'imipénème [135].

P. aeruginosa est également généralement résistant à la kanamycine.

2.2.2.1.2 Résistance acquise

2.2.2.1.2.1 Résistance aux bêta-lactamines

a- Résistance enzymatique (Voir annexe 04)

Les β -lactamases sont des enzymes d'inactivation de type sérine (classes A, C et D) ou métalloenzymes (classe B) dont les substrats sont des β -lactamines. L'inactivation enzymatique (perte de l'activité antibiotique) survient lors de l'ouverture du cycle β -lactame [137].

✓ Hyperproduction de céphalosporinase chromosomique de classe C

La β -lactamase chromosomique de type AmpC a été décrite chez une large variété de bacilles à Gram négatifs tel que *P. aeruginosa* [138]. Des mutations dans le système de régulation de la production entraînent une production stable à haut niveau d'AmpC affectant l'activité de l'ensemble des β -lactamines à l'exception de celle des carbapénèmes [135].

✓ Oxacillinase de classe D

Chez *P. aeruginosa* des BLSE dérivées d'OXA-10 et OXA-2 ont été isolées ainsi que la β -lactamase OXA-18. Ces enzymes sont localisées sur des plasmides (sauf OXA-18) [139]. Ils hydrolysent la plus part des β -lactamines y compris les céphalosporines, l'imipénème et le mérépénème. L'aztréonam et la pipéracilline sont moins touchés, mais leur activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique ou le tazobactam [140].

L'OXA-18 est la seule β -lactamase de classe D inhibée par l'acide clavulanique identifiée chez *P.aeruginosa*.

✓ **Carbapénèmases de classe B**

La résistance acquise aux carbapénèmes (imipénème), initialement rapportée comme liée à un déficit de la porine, peut être maintenant en relation avec la synthèse de β -lactamases de type carbapénémase (classe B). Ce sont des métallo-enzymes qui sont dépendantes de la présence d'ions Zn^{++} , donc inhibables par des chélateurs d'ions tel l'EDTA [141].

✓ **β -lactamase à spectre étendu ou élargi**

Les bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) sont des enzymes récemment apparues à la suite de mutations des pénicillinases. Elles sont plasmidiques donc transférables et sensibles à l'action des inhibiteurs enzymatiques [142]. Elles sont très actives contre les pénicillines et moyennement actives contre les céphalosporines de première génération, elles touchent également les céphalosporines de troisième génération (céftazidime et céfotaxime) et les monobactames (aztréonam). Les bactéries produisant une BLSE n'hydrolysent pas les céphamycines (céfoxitine) ni les carbapénèmes [143].

b- Résistance non enzymatique

✓ **Surexpression de système d'efflux**

Le système MexAB-OprM, produit constitutivement, cause une résistance naturelle à la plupart des β -lactamines; par dépression génétique, il occasionne une résistance acquise à ces molécules [144].

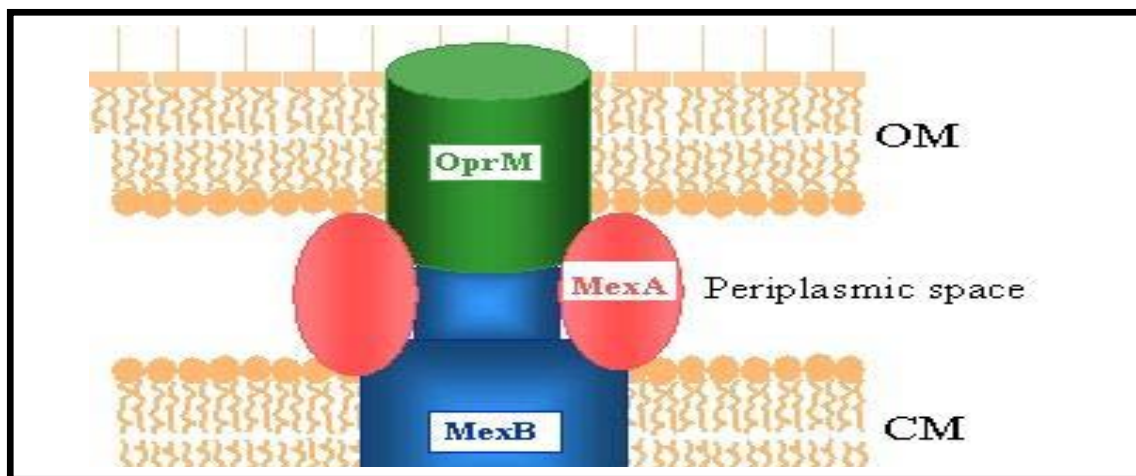


Figure 6 : Représentation schématique de la pompe MexAB-OprM.

CM et OM : indique les membranes cytoplasmique et extérieure respectivement.

✓ Perte de la porine OprD2

Dans les bactéries Gram négatif, les porines bactériennes sont une des voies principales d'entrée pour les antibiotiques usuels comme les β -lactamines et les fluoroquinolones [145]. Cette protéine canalaire de la membrane externe possède un site spécifique de liaison aux carbapénèmes, et permet la pénétration sélective de l'imipénème [146].

Des modifications de la quantité absolue ou de l'état fonctionnel de ces porines ont pour conséquence une diminution de la diffusion des antibiotiques empruntant cette voie de pénétration. Ce mécanisme par diminution de perméabilité peut entraîner une résistance croisée à plusieurs familles d'antibiotiques [147].

2.2.2.1.2.2 Résistance aux fluoroquinolones

Deux principaux mécanismes conduisent à la résistance de haut niveau aux fluoroquinolones chez *P. aeruginosa* : des changements structuraux dans les enzymes ADN gyrase et topoisomerase IV qui représentent les cibles des fluoroquinolones et l'efflux actif [148]. Les fluoroquinolones, en particulier la ciprofloxacine, sont souvent utilisées dans le traitement des infections à *P. aeruginosa*, ce qui a conduit à l'émergence de résistance acquise au sein de l'espèce.

2.2.2.1.2.3 Résistance aux aminosides

Chez *P. aeruginosa* la pompe d'efflux MexXY est décrite comme la principale manifestation de la résistance aux aminosides, la modification de la cible (ARNr 16S) a également représenté plusieurs cas de résistance aux aminosides.

Pseudomonas aeruginosa contient ainsi des enzymes de modification des aminoglycosides [149].

2.2.2.1.2.4 Résistance aux autres antibiotiques

a. Résistance à la Colistine

L'émergence et la propagation de souches de *P. aeruginosa* multirésistantes aux antibiotiques a conduit à la résurgence de l'utilisation des antibiotiques « polymyxine » tels que la polymyxine B et la colistine comme agents thérapeutiques [150].

Les bacilles pyocyaniques sont parvenus à modifier la composition de leur membrane externe de façon à la rendre imperméable à ces deux agents par une modification déterminée de la composante lipidique A du LPS [151], ce qui entraîne une réduction de la charge nette négative de la membrane externe [152], soit par des mutations ou par

l'activation de systèmes membranaires complexes appelés « systèmes de régulation à deux composants » [163]. Ceci a conduit à l'apparition de souches *P. aeruginosa* résistantes aux polymyxines signalées à travers le monde entier [155] ; [154].

b. Résistance par formation de Biofilm

La diminution de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries formant des biofilms est vraisemblablement due à la combinaison de plusieurs mécanismes [156].

La formation d'un biofilm, ou la production d'une quantité massive d'alginate (polymère d'acide D-mannuronique et d'acide L-guluronique) par les souches de *P. aeruginosa* crée une barrière permettant aux bactéries de persister et de se protéger des défenses immunitaires de l'hôte et l'action bactéricide des antibiotiques.

Les différentes infections nosocomiales liées à l'utilisation de cathéters veineux centraux et cathéters urinaires, sont clairement associées à la formation de biofilms qui adhèrent à la surface du biomatériau [157].

2.2.2.2 *Acinetobacter baumannii* :

2.2.2.2.1 Résistance naturelle

Les souches d'*Acinetobacter baumannii* produisent une bêta-lactamase chromosomique, très probablement de classe C, qui n'est pas inhibée par le clavulanate, qui hydrolyse préférentiellement les céphalosporines de première génération mais n'a pas d'activité pour les pénicillines et la pipéracilline. De ce fait, *Acinetobacter* est naturellement résistant à la céphalotine alors que la ticarcilline est active.

2.2.2.2.2 Résistance acquise

2.2.2.2.2.1 Résistance aux bêta-lactamines

a- Résistance enzymatiques (Voir annexe 04)

✓ Céphalosporinase de classe C

Différents mécanismes de résistance aux β -lactamines ont été signalés et identifiés chez *Acinetobacter baumannii* [158]. Liés principalement à la production de β -lactamases. *A. baumannii* produit une céphalosporinase de type AmpC qui est normalement exprimé à bas niveau, et ne diminue pas l'efficacité des céphalosporines à large spectre (Céphalotine) ou des carbapénèmes.

✓ Oxacillinase de classe D

Les oxacillinases en général hydrolysent l'oxacilline, la méthicilline, cloxacilline et la benzylpénicilline, et leur activité est inhibée par NaCl [159].

De plus, elles sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique. La plupart des β -lactamases de type OXA n'hydrolysent pas de façon significative les C3G/C4G [160].

✓ Métallo- β -lactamases de classe B

Les β -lactamases de classe B ont besoin d'un atome de zinc pour détruire les β -lactamines [161], elles sont inhibées par l'EDTA [162].

Cette classe d'enzyme hydrolyse tous les β -lactamines à l'exception des monobactames [163].

✓ β -actamases à spectre élargi

Chez *A. baumannii* les BLSE sont soit chromosomiques ou plasmidiques [164].

Les gènes correspondant à ces BLSE sont le plus souvent retrouvés dans des structures de type intégron comme gènes cassettes et donc sous la dépendance de promoteurs situés à l'extrémité 3' du gène de l'intégrase [141].

b- Résistance non enzymatiques**✓ Surexpression du système d'efflux**

Les pompes à efflux illustrent un phénomène unique dans la résistance aux médicaments: Un seul mécanisme provoquant la résistance contre les différentes classes d'antibiotiques.

A. baumannii possède une pompe à efflux Ade ABC dont les substrats sont :

Aminoglycosides, les tétracyclines, l'érythromycine, au chloramphénicol, triméthoprim, fluoroquinolones, des bêta-lactamines, et encore récemment, la tigécycline.

✓ Modification de l'expression des PLP

L'efficacité des bêta-lactamines est liée à leur capacité de se fixer aux PLP. La liaison antibiotique / cible est liée à la structure de la cible. Diverses mutations peuvent entraîner des modifications diminuant l'efficacité de l'antibiotique [165].

2.2.2.2.2 Résistance aux quinolones

Deux principal mécanismes impliqués dans la résistance :

- des mutations au niveau des gènes à l'origine de l'ADN gyrase et du topoisomérase IV, enzymes qui permettent le maintien de l'intégrité de l'hélice pendant le processus de réplication de l'ADN, ces mutations induisent des cassures dans l'ADN conduisant à la mort bactérienne.
- des systèmes d'efflux qui jouent un rôle important dans la résistance aux fluoroquinolones [166].

2.2.2.2.3 Résistance aux aminosides

La résistance d'*A. baumannii* aux aminosides résulte principalement de l'inactivation de l'antibiotique par certains enzymes de modification [167].

A.baumannii possède une pompe à efflux de type Ade ABC qui confère la résistance à divers classes d'antibiotiques y compris les aminosides, elle est composée de protéines AdeA, AdeB et AdeC [87].

2.2.2.2.4 Résistance aux autres antibiotiques

Acinetobacter baumannii est naturellement résistant à bas niveau au triméthoprim [168], cette résistance est également associée à l'expression des systèmes d'efflux [169].

La résistance à haut niveau est due à l'acquisition d'un gène de résistance porté par un plasmide qui porte également des gènes de résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la kanamycine, à la streptomycine et au sulfa-méthoxazole [169].

1 Objectif

- Déterminer le profil de résistance aux antibiotiques des bactéries Bacilles à Gram Négatif isolés à partir des urines durant la période allant du 1^{er} Janvier au 31 Décembre 2018.
- Déterminer grâce à des tests complémentaires phénotypiques les mécanismes de résistance correspondant aux principaux profils dépistés.

2 Matériels et méthodes

2.1 Cadre de l'étude

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective allant du 01 janvier au 31 décembre 2018, et étude prospective allant du 01 novembre au 31 décembre 2018; qui a été réalisée au laboratoire de microbiologie du CHU NEDIR MOHAMED de TIZI OUZOU.

2.1.1 Souches bactériennes étudiées

➤ Critères d'inclusions

Tous les prélèvements urinaires à visée diagnostique dont le germe isolé a été identifié comme bacille à gram négatif.

➤ Critères de non-inclusion

Les autres types de prélèvements ainsi que les prélèvements urinaires dont le germe isolé n'est pas un bacille à gram négatif (les cocci à Gram + et/ou – ; les bacilles à Gram + et les levures.....ect). Les prélèvements urinaires à BGNs contaminés et négatifs.

2.1.2 Matériels et milieux de cultures

2.1.2.1 Matériels

Boite de pétri, tubes à hémolysé, flacons stériles, pipettes pasteur stériles, anse calibrée, lames et lamelles, portoir pour ampoule, poire, huile de paraffine, eau physiologique, Cellule de Malassez, disques d'antibiotiques, Galeries d'identification (Api 20 E et Api 20 NE), microscope optique, pied à coulisse, Etuve, Centrifugeuse.

2.1.2.2 Milieux de cultures

- Gélose nutritive (GN) ;
- Gélose Muller Hinton (MH) ;
- Gélose au sang cuit (GSC) ;
- Gélose chromogène (GC) ;
- Gélose Muller Hinton au Sang cuit.

2.2 Méthodologie

2.2.1 Analyses microbiologiques

2.2.1.1 Isolement et identification des BGNs

Prélèvement

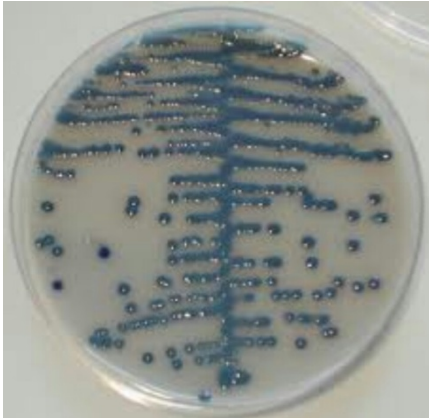
Les prélèvements urinaires traités appartenait à des patients hospitalisés et des patients externes.

Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

- **Examen macroscopique**
- **Examen microscopique**
- **Mise en culture**

Les prélèvements ont été lancés par les deux techniques suivantes :

- ✓ La méthode de Kass modifiée sur gélose nutritif GN ;
- ✓ La méthode à l'Anse calibrée sur gélose chromogène (Voir Figure 06).



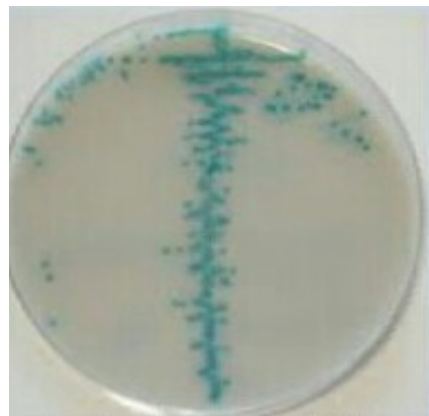
Klebsiella, Enterobacter, Serratia



Proteus sp



Escherichia coli



Entérocooccus sp

Figure 7 : Culture, isolement et identification sur milieu chromogène.

- **Identification des BGNs**

L'identification des souches bacilles à gram négatif a été faite par :

- ✓ Examen microscopique

1- Examen à l'état frais : On note la présence des bacilles ou des coccobacilles mobiles ou immobiles.

2- Examen après coloration de Gram (Voir annexe 6) : sous microscope optique (G x100) après l'ajout d'huile d'émersion, on observe des bactéries colorées en rose.

- ✓ Identification biochimique :

- * Tests d'orientation

Le test de l'oxydase (Voir annexe 8)

Le test à la catalase (Voir annexe 9)

- * La galerie biochimique classique (milieu citrate, TSI,...etc.) ;

- * La galerie miniaturisée (Api 20E, Api 20NE) (Voir Figure 07) ;



Figure 8 : Api 20E chez *E. coli*.

2.2.1.2. Test de sensibilités aux antibiotiques ou Antibiogramme standard

Pour chaque germe isolé, un antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Voir Figure 8) selon les recommandations du réseau national de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques (7ème édition). (Voir annexe 10)

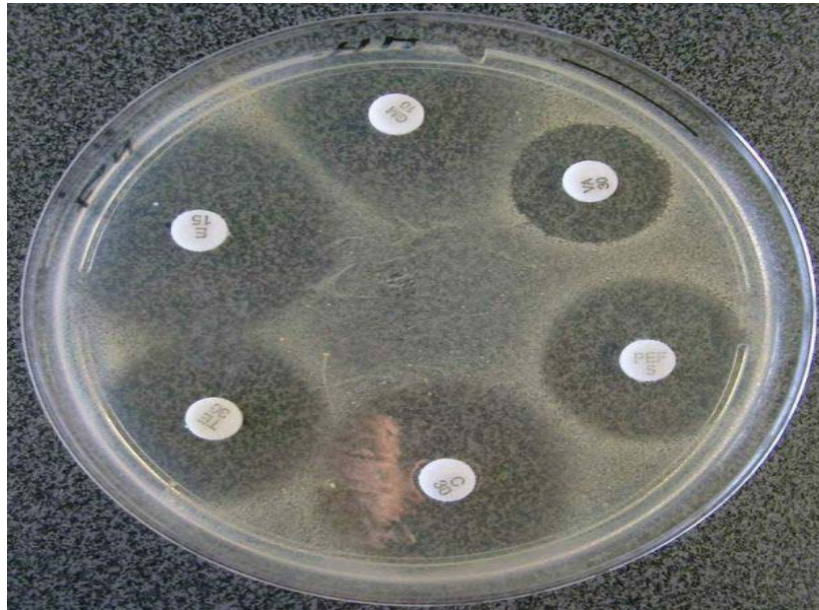


Figure 9 : antibiogramme standard.

2.2.2.3. Tests complémentaires de sensibilité aux antibiotiques

Pour détecter les mécanismes de résistance, l'antibiogramme n'est pas toujours suffisant. Pour cela, les tests complémentaires de sensibilité aux antibiotiques suivants ont été réalisés sur les souches isolées (selon les mêmes recommandations) :

1- détection de la production des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)

Les BLSE sont recherchées devant un diamètre inférieur ou égale aux valeurs suivantes :

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

✓ **Test de synergie** **Entérobactéries**

Technique : La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline + ac-clavulanique (AMC20/10ug) à 30 mm centre à centre d'un disque de C3G (CTX 30ug ou CRO 30ug). Incuber 18h à 35C.

Lecture

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

- AMC et CTX (AMC et TIO)
- AMC et CAZ
- AMC et ATM

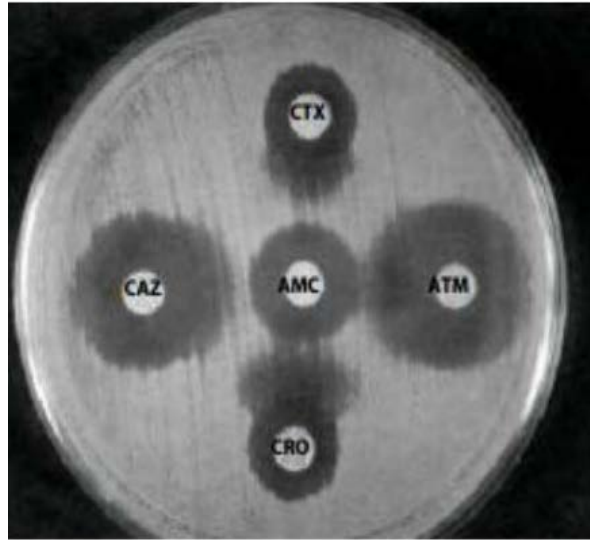
 Pseudomonas aeruginosae* et *Acinetobacter spp**Technique :**

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque de Ticarcilline + acide clavulanique (TCC 75/10 ug) à 30 mm centre à centre d'un disque de C3G : Céftazidime (CAZ 30 ug), Aztréonam (ATM 30ug), Céfépime (FEP 30ug). Incuber 18H à 35 C°.

Lecture

Le test est positif s'il ya apparition d'une image de synergie entre les disques :

- TCC et CAZ
- TCC et ATM
- TCC et FEP



Standardisation 7^{ème} édition 2014(<http://www.sante.dz/aarn/index.htm>)

Figure 10 : Détection de BLSE chez les entérobactéries par test de synergie.

✓ **Test de confirmation ou technique du double disque (test espagnol)**

Ce test devra être fait systématiquement devant :

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

Technique

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

- Appliquer les disques d'antibiotiques :

- Pour les entérobactéries :

déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CRO) à une distance de 30 mm.

- Pour *P. aeruginosa* et *Acinetobacter spp* :

déposer un disque de TCC avec un disque de C3G (CAZ) ou monobactam (ATM) à une distance de 25 mm.

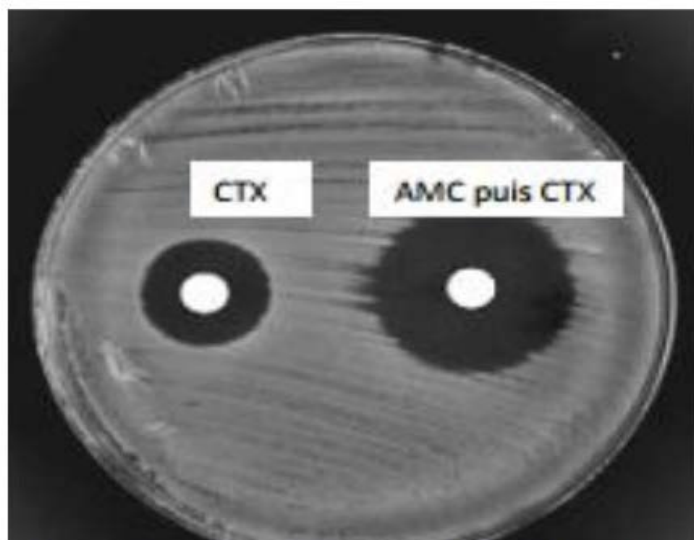
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera déposée couvercle vers le haut.

- Après 1h d'incubation, ôter le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de CTX ou CRO (ou CAZ).

- Incuber la boîte 18 h à 35°C.

Lecture

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



Standardisation 7^{ème} édition 2014 (<http://www.sante.dz/aarn/index.htm>)

Figure 11 : Test espagnol positif pour *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE.

2. détection de la résistance par hyperproduction d'une céphalosporinase**✓ Test à la cloxacilline**

Pour certaines souches de Bacilles à gram négatif, il est parfois difficile de distinguer sur l'antibiogramme habituel les hypersécrétions de Case (CHN) des BLSE.

La cloxacilline ajoutée au milieu pour l'antibiogramme (MH) inhibe in vitro les Cases et reste inefficace sur les pénicillinases des bacilles à gram négatif.

Technique

L'antibiogramme sera réalisé sur MH additionné de cloxacilline (selon le tableau 3). On dépose sur la surface gélosée ensemencée, les disques antibiotiques (B-lactamines) figurant dans le tableau de l'annexe 10 (Entérobactéries, *P. aeruginosa* et *Acinetobacter spp*). Incuber 18h à 35C°.

Tableau 3 : Préparation des boîtes de cloxacilline (ou oxacilline)

	Entérobactéries groupe 1 et 2	Entérobactéries groupe 3 <i>P. aeruginosa</i> <i>Acinetobacter spp</i>
Concentration en cloxacilline	0,5 mg/ml (500mg/l)	1mg/ml (1000mg/l)
Préparation de la solution de la cloxa	50 mg de Cloxa +10 ml d'eau distillée	100 mg de Cloxa +10 ml d'eau distillée
Pour une boîte ronde (90 mm)	2ml de solution +18 ml de MH	2ml de solution +18ml de MH

Lecture

Le test à la cloxacilline est interprété en comparant l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de cloxacilline à celui réalisé sur MH sans Cloxacilline.

Noter la différence de diamètre d'inhibition autour des Céphalosporines de 3ème génération entre les deux tests.

Interprétation

L'inhibition de la Céphalosporinase entraîne :

- L'apparition des phénotypes sauvages de l'entérobactérie, de *P. aeruginosa* ou d'*Acinetobacter spp*.
- L'apparition d'autres mécanismes de résistances acquises tel que :
 - Production de BLSE
 - Production de pénicillinase
 - Imperméabilité

2.2.2 Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel WHONET 5.6 (Voir annexe 11) ainsi que le registre ECBU de l'année 2018 des patients hospitalisés et externes.

Durant la période allant du 1^{er} Janvier au 31 Décembre 2018, 11508 échantillons d'urines ont été acheminés au laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou, dont 1400 étaient positifs soit un taux de 12,2 %.

1 Taux de BGNs isolés des urines chez les patients hospitalisés et externes durant l'année 2018.

Sur l'ensemble des ECBU positifs, 1149 étaient positifs à des BGNs soit un taux de 82,1%.

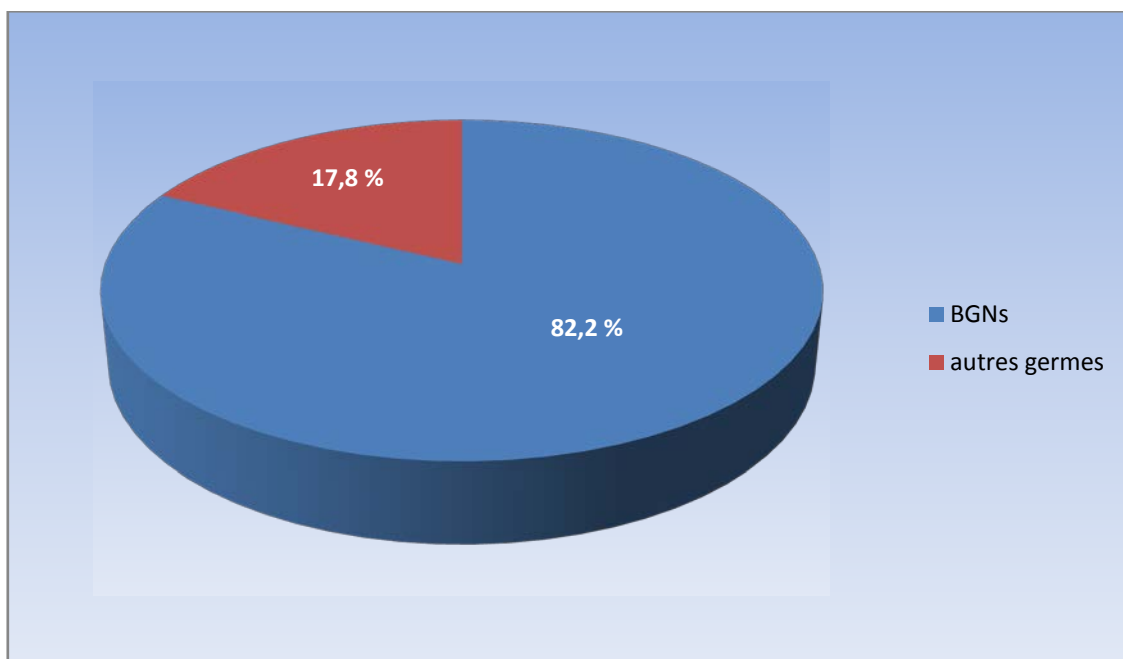


Figure 12 : Taux de BGNs isolés des urines durant l'année 2018.

Patients hospitalisés :

Tableau 4: Nombre et pourcentage des BGNs isolés à partir des urines des patients hospitalisés

	BGNs	Autres germes	TOT
Nombre des patients hospitalisés	789	134	922
Pourcentage (%)	85,5	14,5	100

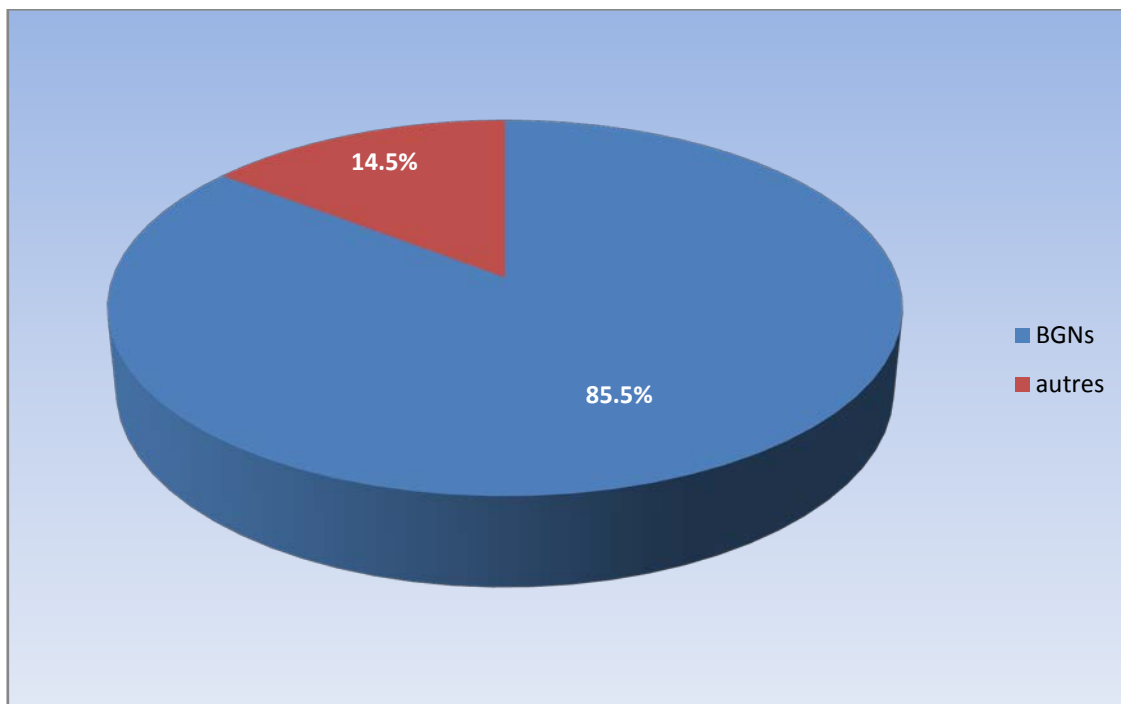


Figure 13 : Pourcentage des BGNs isolés à partir des urines des patients hospitalisés.

➤ **Interprétation**

Selon nos résultats, sur les 922 patients hospitalisés présentant un ECBU positif ; 789 sont révélés positifs à des BGNs, soit un taux de 85.5 %.

✚ **Patients externes :**

Tableau 5: Nombre et pourcentage des BGNs isolés à partir des urines des patients externes.

	BGNs	Autres	TOT
Nombre des patients externes	360	118	478
Pourcentage (%)	75,3	24,7	100

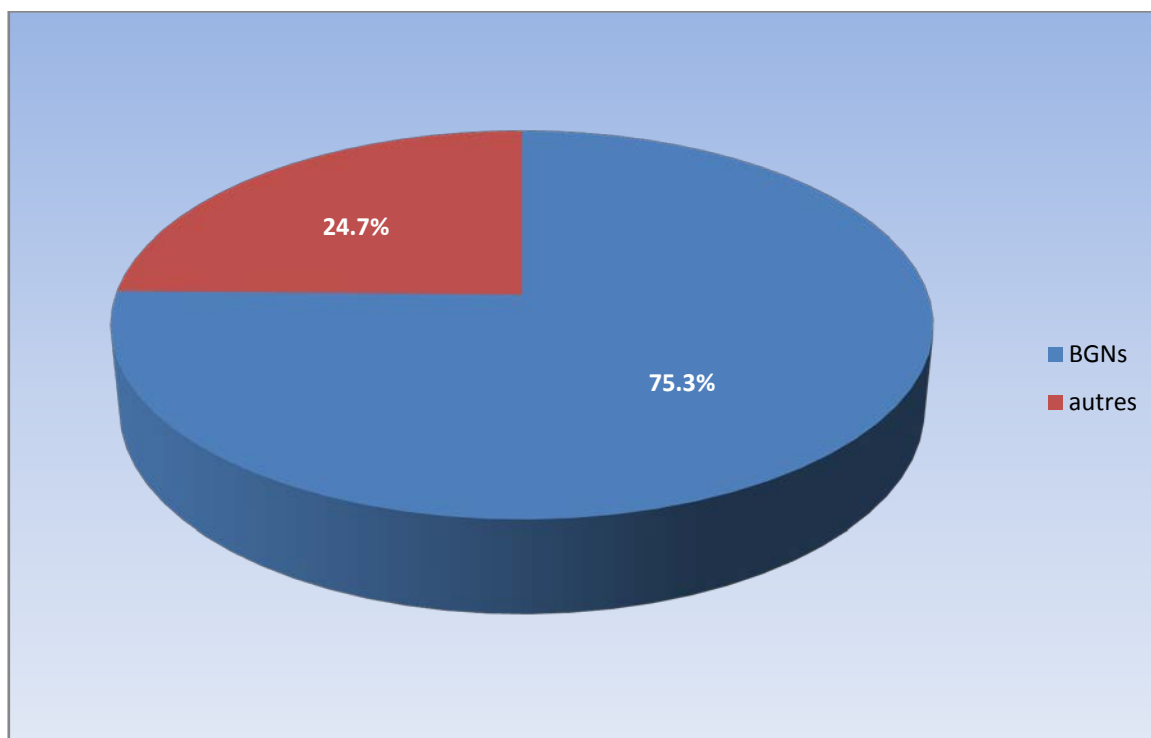


Figure 14: Pourcentage des BGNs isolés à partir des urines des patients externes.

➤ **Interprétation**

On constate que parmi les 478 patients externes présentant un ECBU positif, 360 sont révélés positifs à des BGNs, soit un taux de 75.3 %.

2 Répartition des BGNs isolés des urines en fonction des services d'hospitalisation.

Tableau 6 : Répartition des BGNs selon les spécialités cliniques.

Spécialités	Services	NBR	%	% TOT
Spécialités médicales	Hématologie	12	1,52	24,47
	Médecine interne	32	4,06	
	Infectiologie	73	9,25	
	Néphrologie	60	7,61	
	Cardiologie	7	0,89	
	Psychiatrie	1	0,13	
	Gastrologie	3	0,38	
	Gynécologie	5	0,63	
Spécialités chirurgicales	Urologie	25	3,17	6,96
	Traumatologie	5	0,63	
	Chirurgie infantile	5	0,63	
	Neurochirurgie	20	2,53	
Urgences	PU Médecine	227	28,77	33,46
	PU Chirurgie	37	4,69	
Pédiatrie	Pédiatrie I	13	1,65	32,32
	Pédiatrie II	3	0,38	
	Néo Natologie	52	6,59	
	PU Pédiatrie	187	23,7	
Soins intensifs	Réanimation médicale	19	2,41	2,92
	Réanimation chirurgicale	4	0,51	

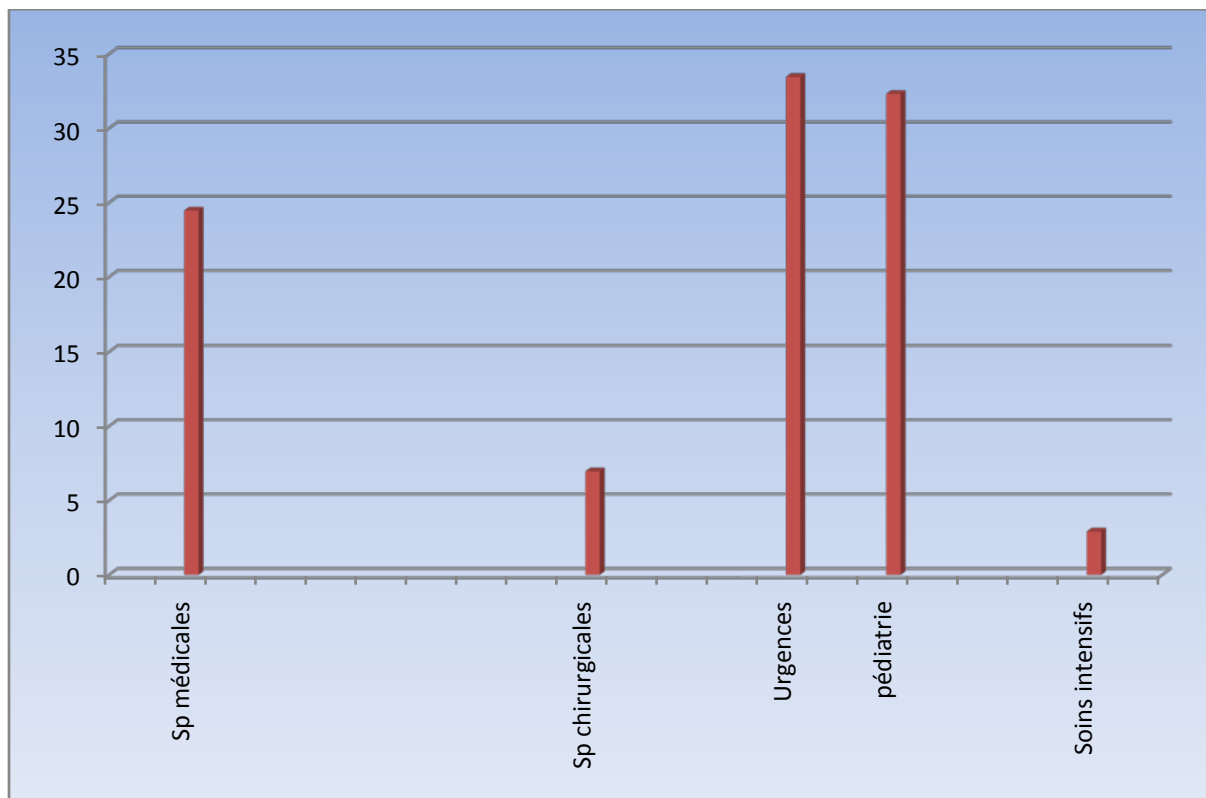


Figure 15 : Pourcentage des BGNs en fonction des spécialités cliniques.

➤ Interprétation

Les Bacille à Gram Négatif sont les germes les plus isolés à partir des urines des patients hospitalisés au niveau des urgences avec un taux de 33.46 % (28.77 % dans le pavillon d'urgence médicale PU-Med) ; puis au sein de service de pédiatrie avec un taux de 32.32 %, en troisième position les spécialités médicales (24.47%) puis les services des soins intensifs (2.92%).

3 Nombre et pourcentage des différentes espèces des Bacilles à Gram Négatif isolés des urines durant l'année 2018.

Tableau 7 : Nombre et pourcentage des différentes espèces des BGNs isolés des urines.

Classes	Germes	NBR	%	TOT%
BGNs fermentaires (Entérobactéries)	<i>Escherichia coli</i>	748	65,1	95,8
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	188	16,4	
	<i>Klebsiella sp</i>	49	4,3	
	<i>Proteus mirabilis</i>	31	2,6	
	<i>Proteus sp</i>	19	1,6	
	<i>Enterobacter cloacae</i>	23	2	
	<i>Enterobacter sp</i>	11	1	
	<i>Serratia sp</i>	14	1,2	
	<i>Citrobacter sp</i>	8	0,7	
	<i>Morganella morganii</i>	3	0,3	
	<i>Providencia rettgeri</i>	2	0,2	
	<i>Autres</i>	4	0,4	
BGNs non fermentaires	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28	2,4	4,2
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	21	1,8	

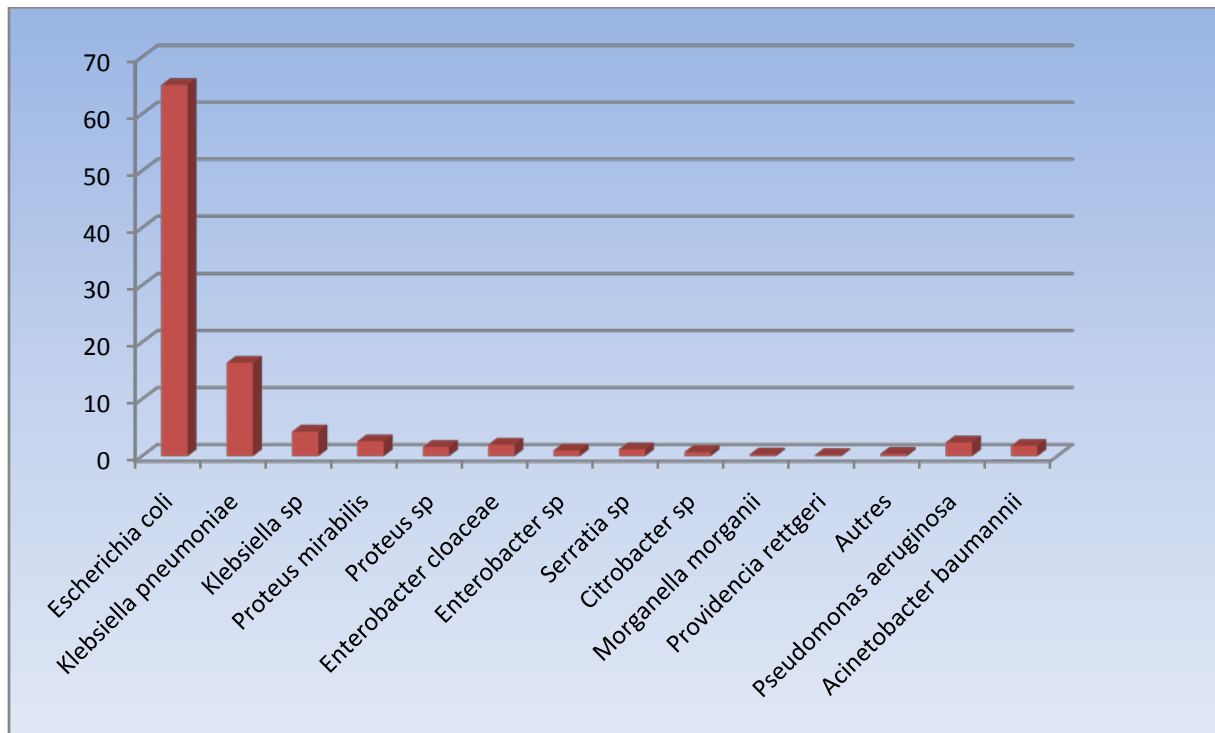


Figure 16 : Pourcentage des différentes espèces des BGNs isolés des urines.

➤ Interprétation

- On constate que les entérobactéries sont les principales BGNs responsables d'infections urinaires avec un taux de 95.8%, dont le chef de fil est *E. coli* (65.1%) suivi par *Klebsiella pneumoniae* (16.4%), *Proteus mirabilis* (2.6%) et *Enterobacter cloacae* (2%). Les autres entérobactéries sont moins incriminés (2.8%).

- Les BGNs non fermentaires viennent en deuxième position après les entérobactéries avec un taux de 4.2% dont 2.4 % pour *Pseudomonas aeruginosa* et 1.8 % pour *Acinetobacter baumannii*.

4 Résistance aux antibiotiques des BGNs isolés des urines durant l'année 2018.

4.1 Les entérobactéries

4.1.1 *Escherichia coli*

Durant la période d'étude, 748 prélèvements urinaires sont revenus positifs à l'espèce *E. coli* (Tableau 8 et figure 17).

Tableau 8 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques d'*Escherichia coli* isolé des urines durant l'année 2018.

Antibiotiques	Hospitalisés			Externes		
	NBR de résistance (R+I)	TOT	%	NBR	TOT	%
AMP	240	296	81	121	162	74,7
AMC	131	382	34,3	51	212	24,1
ATM	31	139	22,3	5	96	5,2
CEP	1	158	0,6	0	80	0
CZO	277	366	75,7	122	203	60,1
FOX	6	197	3	2	110	1,8
CTX	63	242	26,1	17	139	12,2
CAZ	28	114	24,5	5	48	10,4
IPM	1	232	0,4	2	136	1,5
AMK	31	284	10,9	11	151	7,2
GEN	39	177	22	28	133	21
NAL	55	205	26,9	27	108	25
CIP	65	366	17,8	24	200	12
CHL	37	257	14,4	13	161	8,1
SXT	133	306	43,4	68	178	38,2
FOS	103	129	80	0	90	0
ETP	1	200	0,5	0	100	0
COL	0	219	0	0	133	0
NIT	21	309	6,8	8	191	4,2

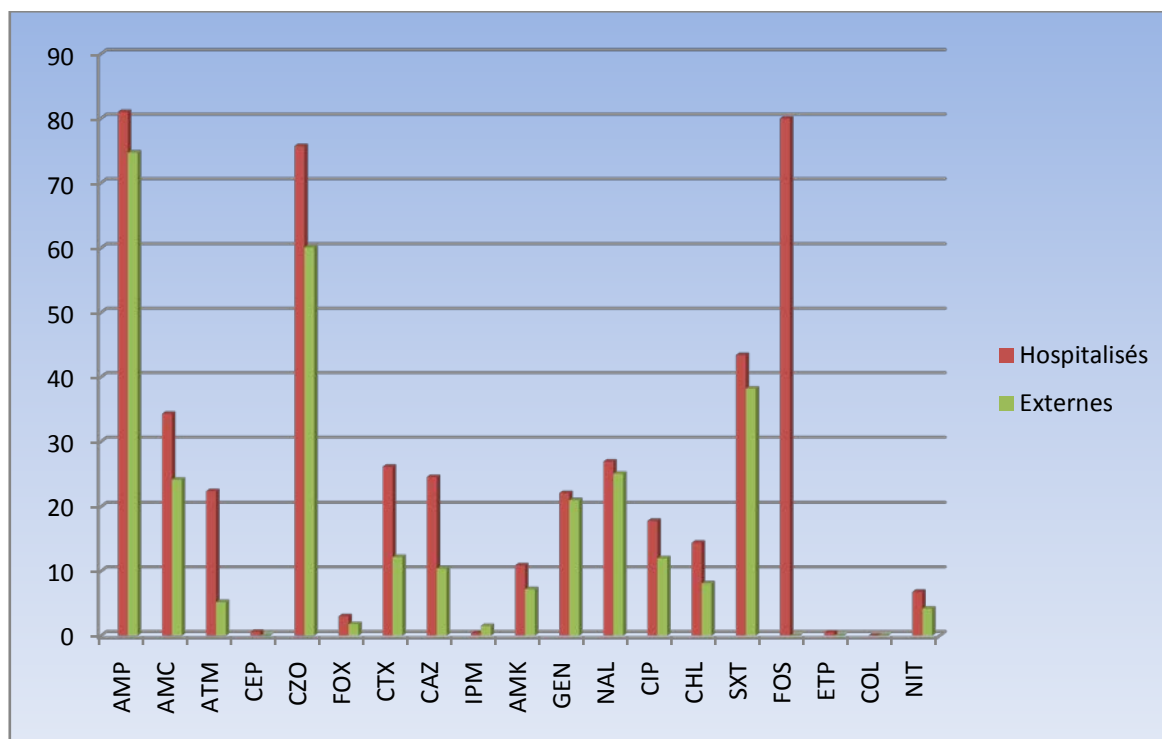


Figure 17 : Pourcentage de la résistance (R+I) d'*Escherichia coli* aux antibiotiques.

➤ Interprétation

On remarque que la résistance des souches d'*Escherichia coli* d'origine hospitalière est globalement plus élevée que celle des souches extrahospitalières de la même espèce notamment pour l'ATM, le CTX, la CZO, la CAZ, et le SXT.

- Les taux de résistances les plus élevés sont observés avec l'AMP (81% et 74.7 %) et la CZO (75.7 % et 60.1 %) respectivement chez les patients hospitalisés et externes ;
- Suivi par des taux élevés de résistance pour le SXT (43.4% et 38.2 %) et l'AMC (34.3% et 24.1 %) respectivement chez les patients hospitalisés et externes ;
- Des taux de résistance faibles sont marqués pour le NAL (26.9% et 25 %) et la GEN (22% et 21%) respectivement chez les patients hospitalisés et externes.
- La FOS a révélé une résistance élevée de 80% chez les patients hospitalisés mais une sensibilité totale chez les patients à titre externe.

En revanche, aucune souche n'est résistante à la colistine.

4.1.2 *Klebsiella pneumoniae*

188 souches de *Klebsiella pneumoniae* ont été isolées durant la période d'étude (Tableau 9 et figure 18).

Tableau 9 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* isolé des urines durant l'année 2018.

Antibiotiques	Hospitalisés			Externes		
	NBR	TOT	%	NBR	TOT	%
AMC	47	107	44	8	30	26,6
ATM	14	31	45,2	3	11	27,3
CEP	0	46	0	0	16	0
CZO	87	108	80,5	20	34	58,8
FOX	10	66	15,1	1	20	5
CTX	42	71	59,1	10	24	41,7
CAZ	12	35	34,3	2	13	15,4
IPM	0	64	0	2	19	10,5
AMK	10	88	11,4	1	22	4,5
GEN	22	57	38,6	6	17	35,3
NAL	21	73	28,8	2	15	13,3
CIP	33	114	28,9	8	35	22,8
CHL	6	72	8,3	2	23	8,7
SXT	46	96	47,9	11	30	36,7
FOS	6	34	17,7	1	15	6,7
ETP	3	63	4,8	0	24	0
COL	0	52	0	0	23	0
NIT	68	98	69,4	24	30	80

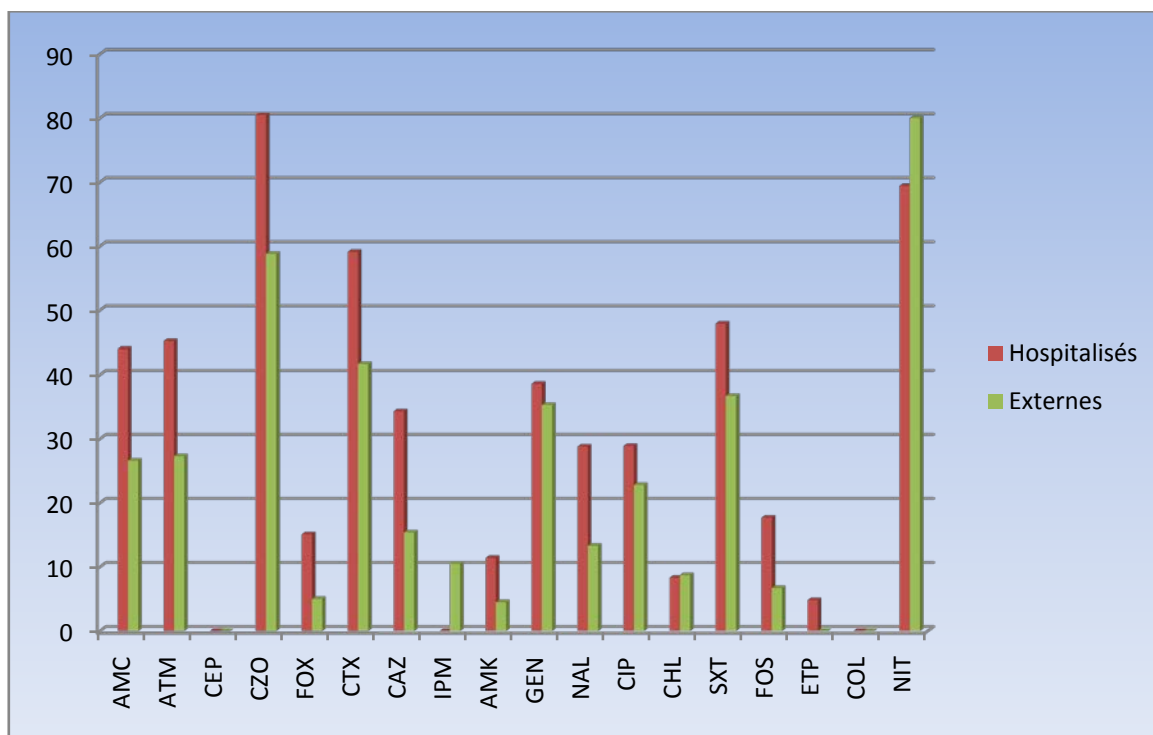


Figure 18 : Pourcentage de la résistance(R+I) de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques.

➤ Interprétation

D'après nos résultats, la résistance aux antibiotiques des souches de *K. p* d'origine hospitalière est plus élevée par rapport à celle des souches extrahospitalières, sauf pour la NIT et l'IPM où le taux de résistance chez les souches extrahospitaliers est le plus élevé et CHL pour lequel le taux de résistance est presque identiques pour l'ensemble des souches ;

On a trouvé :

- Un taux de résistance très élevé à la CZO (80.5% et 58.8%) et le NIT (69.4% et 80%) respectivement chez les patients hospitalisés et externes ;
- Une incidence élevée de résistance est observée avec la CTX (59.1% et 41.7 %), la SXT (47.9% et 36.7 %), l'ATM (45.2% et 27.3%), l'AMC (45.2% et 27.3%) et la GEN (38.6% et 35.3%) respectivement chez les patients hospitalisés et externes ;
- Un taux plus faible de résistance est marqué avec les autres antibiotiques ;

Aucune souche testée n'est résistante à la CEP et la COL.

4.1.3 *Proteus sp*

D'après nos résultats, 50 souches de *Proteus sp* ont été isolé. (Tableau 10 et figure 19).

Tableau 10 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques de *Proteus sp* isolé des urines durant l'année 2018.

Antibiotiques	Hospitalisés			Externes		
	NBR	TOT	%	NBR	TOT	%
AMP	19	24	79,1	5	8	62,5
AMC	10	30	33,3	3	8	37,5
ATM	0	10	0	0	7	0
CEP	0	15	0	0	4	0
CZO	26	31	83,9	7	8	87,5
FOX	1	12	8,3	0	4	0
CTX	4	19	21	0	7	0
CAZ	5	11	45,5	0	2	0
IPM	3	21	14,3	0	3	0
AMK	2	27	7,4	1	5	20
GEN	3	19	15,8	1	5	20
NAL	6	17	35,3	1	3	33,3
CIP	8	31	25,8	1	9	11,1
CHL	8	21	38,1	2	7	28,6
SXT	11	21	52,4	3	8	37,5
FOS	1	11	9,1	0	4	0
ETP	0	13	0	0	3	0
NIT	26	30	86,7	8	9	88,9

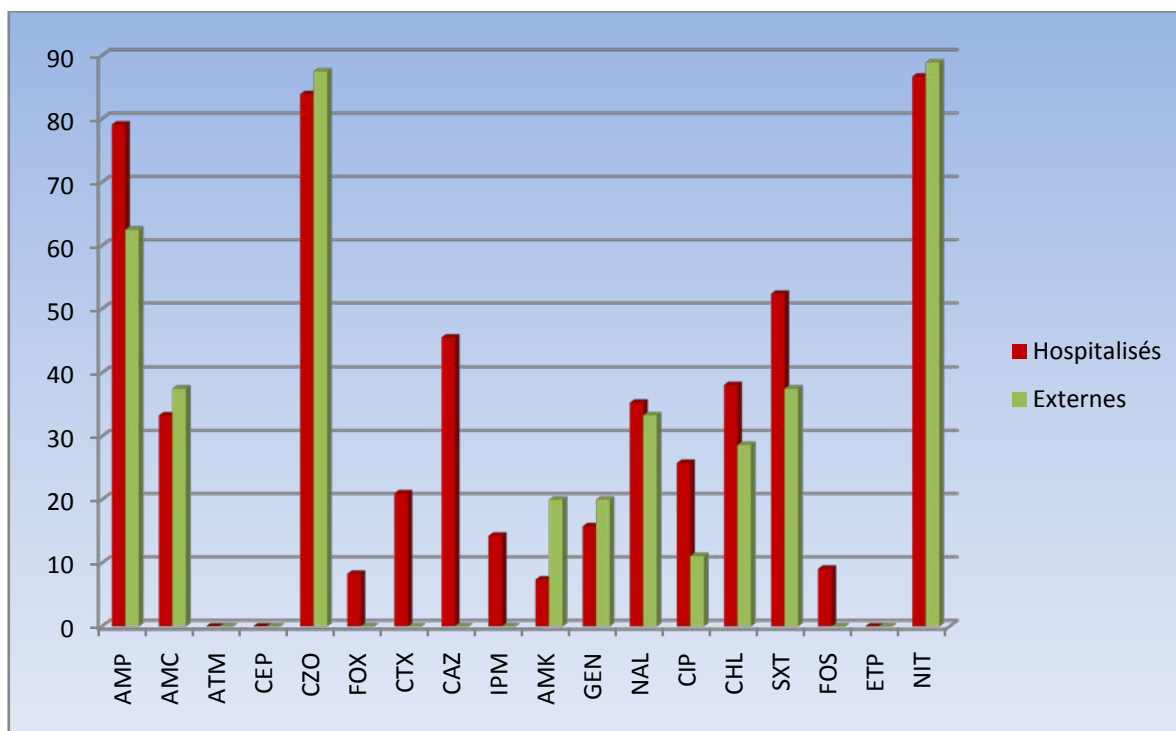


Figure 19 : Pourcentage de la résistance (R+I) de *Proteus sp* aux antibiotiques.

➤ Interprétation

Les résultats illustrés par la figure 18 montrent un taux de résistance des souches hospitalières aux ATB plus élevé que celui des souches extrahospitalières sauf pour l'AMC, la CZO, l'AMK, la GEN et la NIT ;

-Des taux de résistance trop élevés sont enregistrés avec la NIT (86.7 %,88.9 %), la CZO (83.9%, 87.5%) et l'AMP (79.1%, 62.5%) respectivement chez les patients hospitalisés et externes ;

-Notons également des taux de résistance élevés à la SXT (52.4 % et 37.5 %), la CHL (38.1%,28.6 %), la NAL (35.3 %,33.3 %), l'AMC (33.3%,37.5 %) respectivement chez les patients hospitalisés et externes sauf pour la CAZ qui a révélée une résistance de 45.5% chez les patients hospitalisés mais une sensibilité totale chez les patients à titre externe.

En revanche, Tous les souches de *Proteus* sont sensibles à l'ATM, l'ETP et la CEP, alors qu'une sensibilité des souches extrahospitalières est constatée avec la FOX, la CTX, la CAZ, l'IPM et la FOS.

4.1.4 *Enterobacter sp*

D'après nos résultats, 34 prélèvements sont revenus positifs à *Enterobacter sp* (Tableau 11 et figure 20).

Tableau 11 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques d'*Enterobacter sp* isolé des urines durant l'année 2018.

Antibiotiques	Hospitalisés			Externes		
	NBR	TOT	%	NBR	TOT	%
ATM	2	5	40	0	4	0
CEP	1	10	10	0	4	0
CTX	7	13	53,8	2	7	28,6
CAZ	6	6	100	0	2	0
IPM	0	10	0	0	8	0
AMK	4	19	21,1	1	7	14,3
GEN	7	16	43,8	2	6	33,3
NAL	5	12	41,7	2	4	50
CIP	6	23	26,1	0	9	0
CHL	5	22	22,7	2	6	33,3
SXT	7	16	43,8	2	8	25
FOS	1	9	11,1	1	3	33,3
ETP	0	13	0	0	8	0
COL	0	13	0	0	3	0
NIT	11	18	61,1	5	8	62,5

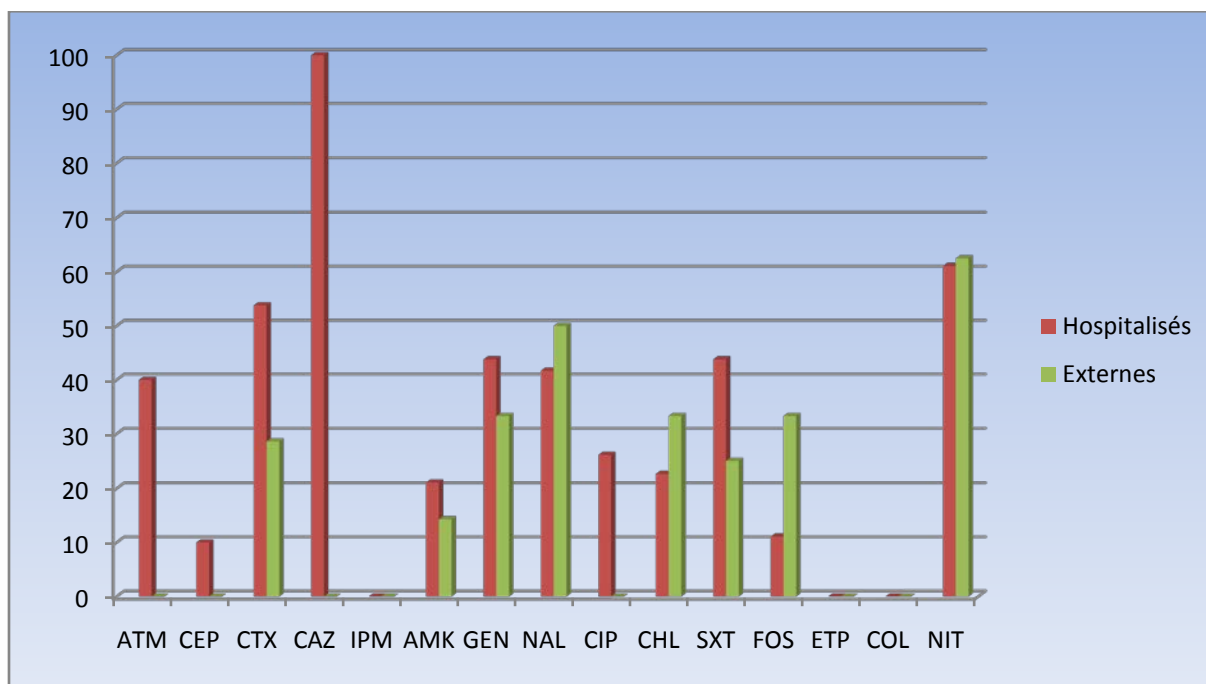


Figure 20 : Pourcentage de la résistance (R+I) d'*Enterobacter sp* aux antibiotiques.

➤ Interprétation

D'après ces résultats, il en ressort :

- Des taux de résistance élevés de l'*Enterobacter sp* à la NIT (61.1% et 62.5%), CTX (53.8% et 28.6%) et la NAL (41.70 % et 50%) respectivement chez les patients hospitalisés et externes ;
- Des taux de résistance plus faibles avec la GEN (43.8% et 33.3%), le SXT (43.8% et 25 %), CHL (22.7% et 33.3%) et la FOS (11.1% et 33.3%) respectivement chez les patients hospitalisés et externes ;

En revanche, Tous les souches d'*Enterobacter* sont sensibles à l'IPM, l'ETP et la COL, alors qu'une sensibilité des souches extrahospitalières est constatée avec la CIP, la CAZ et la CEP.

4.2 Les BGNs non fermentaires

4.2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

28 souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été isolées des urines durant l'année 2018 (Tableau 12 et figure 21).

Tableau 12 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* isolé des urines durant l'année 2018.

Antibiotiques	Hospitalisés			Externes		
	NBR	TOT	%	NBR	TOT	%
TIC	6	13	46,2	2	5	40
TCC	13	20	65	3	5	60
PIP	2	18	11,1	3	5	60
CAZ	0	21	0	1	5	20
ATM	2	7	28,6	1	3	33,3
IPM	0	14	0	0	4	0
AMK	1	12	8,3	0	5	0
GEN	0	11	0	0	2	0
TOB	0	17	0	0	5	0
CIP	0	15	0	0	4	0
LVX	0	7	0	0	1	0
FOS	1	4	25	0	1	0
COL	0	12	0	0	2	0

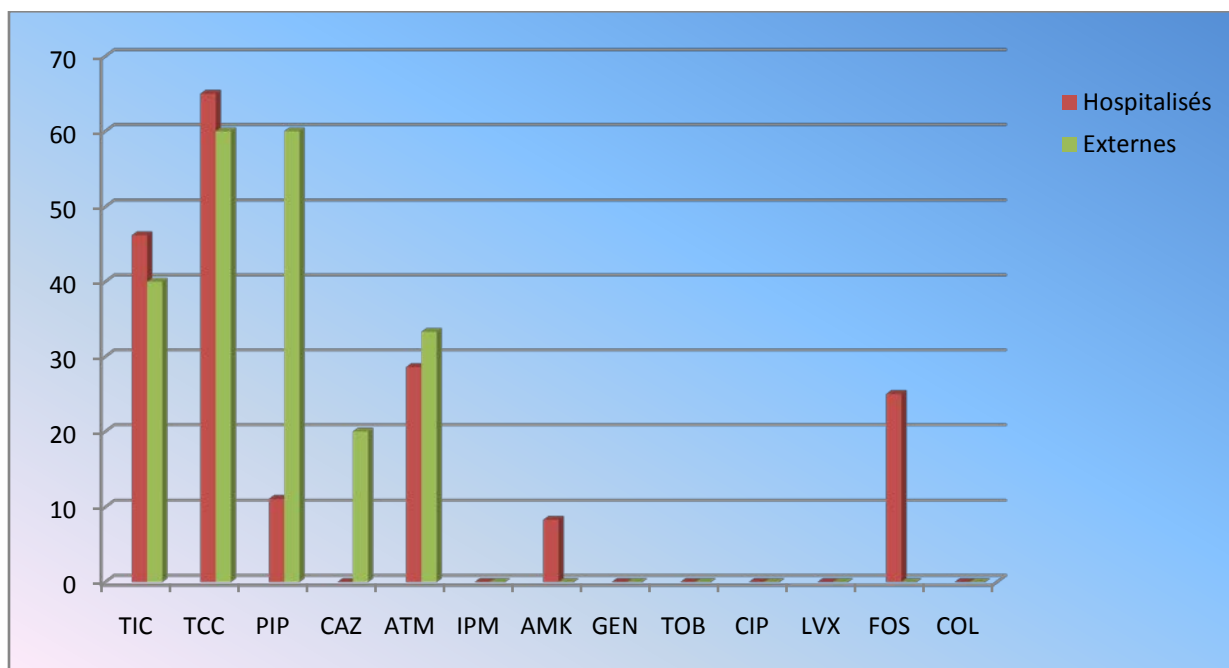


Figure 21 : Pourcentage de la résistance (R+I) de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques.

➤ Interprétation

D'après ces résultats, on note :

- Des taux de résistance des souches d'origine hospitalières proches de ceux des souches extrahospitalières vis-à-vis de la TCC (65%, 60%), la TIC (46%, 40%), et l'ATM (28.6%, 33.3%) ;
- Des taux de résistance des souches d'origine extrahospitalières plus élevés de ceux des souches hospitalières vis-à-vis de la PIP (11.1%, 60 %) ;
- Toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* testés sont sensibles à la CAZ chez les patients hospitalisés, à l'AMK et la FOS chez les patients externes et à l'IPM, la GEN, la TOB, la CIP, la LVX, la COL chez les patients hospitalisés et externe.

4.2.2 *Acinetobacter baumannii*

D'après nos résultats, 21 souches d'*Acinetobacter baumannii* ont été isolées des urines durant l'année 2018. (Tableau 13 et figure 22).

Tableau 13 : Profil de résistance (R+I) aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii* isolé des urines durant l'année 2018.

Antibiotiques	Hospitalisés			Externes		
	NBR	TOT	%	NBR	TOT	%
TIC	15	15	100	2	2	100
TCC	13	13	100	2	2	100
PIP	12	12	100	1	1	100
CAZ	16	17	94,1	2	2	100
IPM	12	13	92,3	2	2	100
AMK	5	5	100	2	2	100
GEN	4	4	100	2	2	100
TOB	12	14	85,7	2	2	100
CIP	14	15	93,3	2	2	100
LVX	9	9	100			
DOX	7	13	53,8	1	1	100
SXT	11	11	100	1	1	100
COL	0	6	0	0	1	0

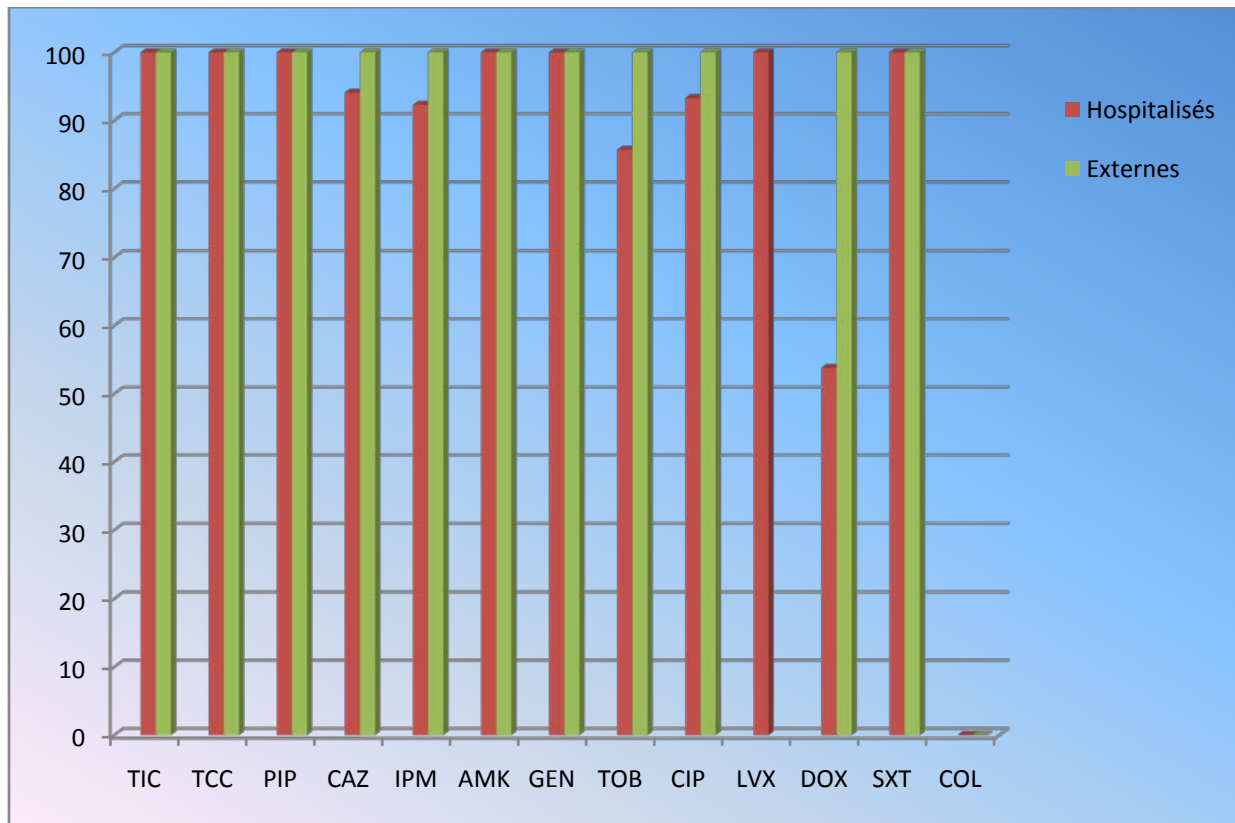


Figure 22 : Pourcentage de la résistance (R+I) d'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques.

➤ Interprétation

Notre étude a révélé :

- Des taux de résistance trop élevés des souches d'*Acinetobacter baumannii* d'origine hospitalière notamment pour la CAZ (94.1 %), la CIP (93.3 %), l'IPM (92.3 %), la TOB (85.7 %) et la DOX (53.8 %), alors qu'une résistance de 100 % est constatée avec les autres antibiotiques ;
- Une résistance des souches d'*Acinetobacter baumannii* d'origine extrahospitalière à tous les antibiotiques testés sauf pour la COL pour la quelle, une sensibilité de l'ordre de 100 % est observé chez les patients hospitalisés et externes.

5 Tests complémentaires

Le présent travail a pour but d'étudier 257 souches des bacilles à Gram Négatif isolées à partir des urines au laboratoire de microbiologie au CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou durant la période allant de 1^{er} Novembre au 31 Décembre de l'année 2018.

5.1 Résistance des BGNs par production de BLSE

Sur l'ensemble des souches étudiées, 30 ont produits des BLSE soit un pourcentage de 11.67 %.

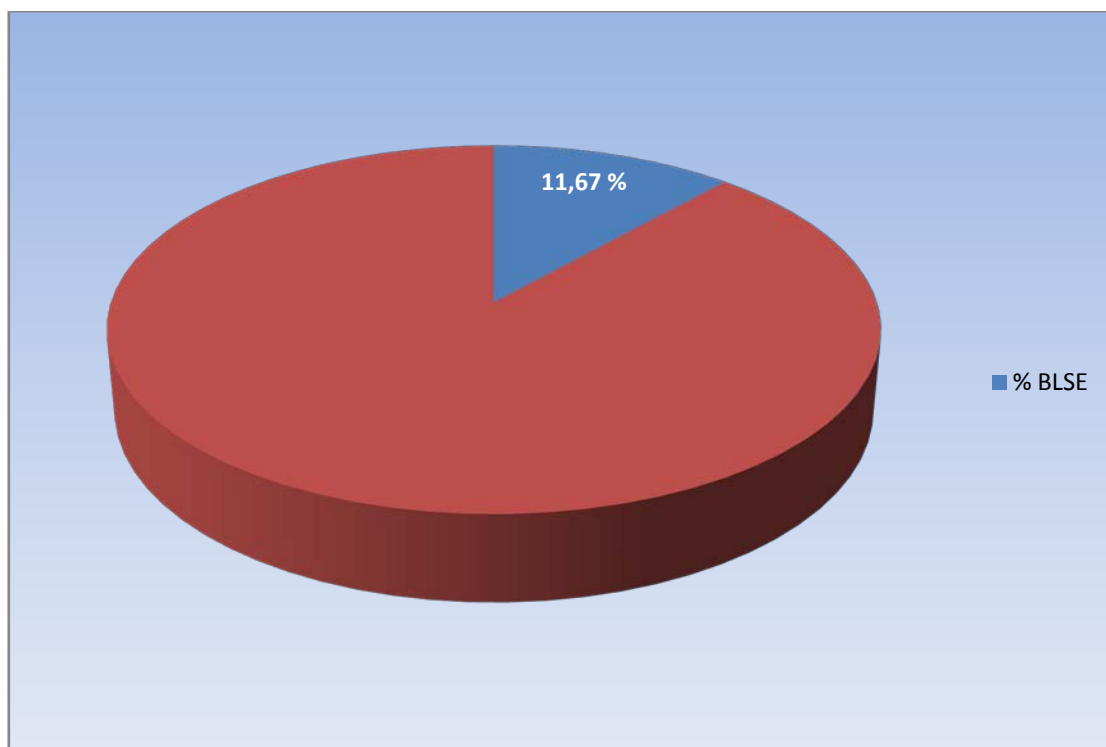


Figure 23 : Taux des BGNs productrices de BLSE.

✚ Les principales espèces des BGNs productrices de BLSE

Le nombre et le pourcentage des espèces BGNs productrices de BLSE sont indiquées dans les tableaux suivant :

Tableau 14 : Nombre et pourcentage des souches produisant une bêta-lactamase à spectre étendu.

	Espèces	NBR	TOTAL	% par rapport au total de chaque espèce
Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i>	15	166	9.04
	<i>Klebsiella sp</i>	13	62	21
	<i>Enterobacter sp</i>	1	7	14.3
	<i>Serratia sp</i>	0	5	0
	<i>Proteus sp</i>	1	15	6.67
	<i>Providencia rettgeri</i>	0	0	0
	<i>Morganella morganii</i>	0	1	0
	<i>Citrobacter koseri</i>	0	2	0
BGNs non fermentaires	<i>Pseudomonas aeruginosae</i>	0	5	0
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	3	0
TOTAL		30	257	

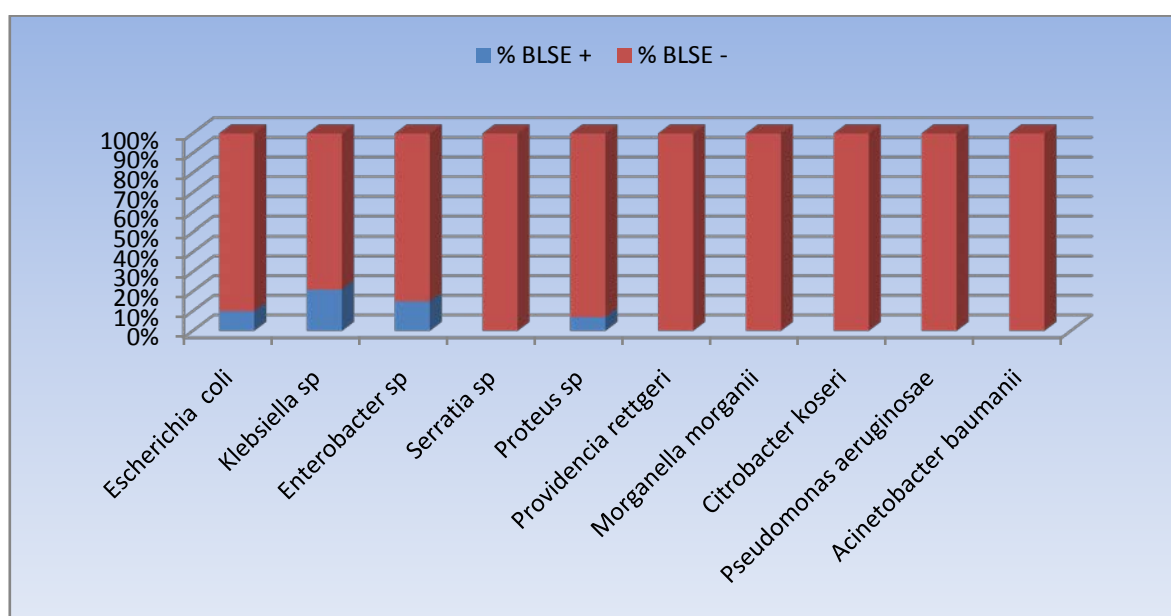


Figure 24 : Pourcentage des souches produisant une bêta-lactamase à spectre étendu.

➤ Interprétation

Durant notre étude, on a constaté que les entérobactéries sont les bactéries qui développent de plus en plus des bêta-lactamase à spectre élargi dont le chef de file est *Klebsiella pneumoniae* avec un pourcentage de 21 %, *Enterobacter sp* vient en deuxième position avec un pourcentage de 14.3 %, suivi par *E.coli* avec un pourcentage de 9.04 % et *Proteus sp* avec un taux de 6.67%.

Pour les autres espèces tel que *Serratia sp*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri* et *Citrobacter koseri*, on a constaté une absence de production de cette enzyme.

- Pour les Bacilles à Gram Négatif non fermentaires tel que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, on a remarqué durant la période étudiée l'absence de développement d'une BLSE.

5.2 Résistance des BGNs par production de CHN

Sur les 257 souches de BGNs isolés, 24 étaient productrices de Céphalosporinase, soit un taux de 9.3 %.

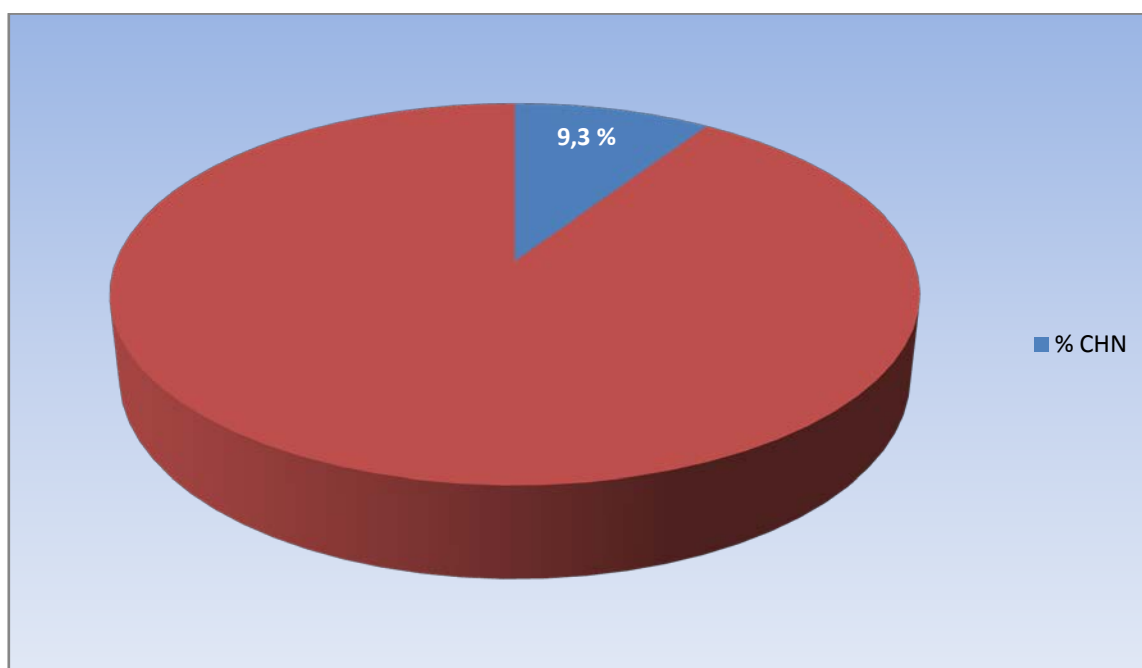


Figure 25 : Taux des BGNs productrices de CHN.

Les principales espèces BGNs productrices de CHN

Le nombre et le pourcentage des espèces de BGNs productrices de CHN sont indiquées dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 15 : Nombre et pourcentage des souches produisant une céphalosporinase de haut niveau.

	Espèces	NBR	TOTAL	% par rapport au total de chaque espèce
Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i>	9	166	5,4
	<i>Klebsiella sp</i>	5	62	8,06
	<i>Enterobacter sp</i>	2	7	28,6
	<i>Serratia sp</i>	2	5	40
	<i>Proteus sp</i>	0	15	0
	<i>Providencia rettgeri</i>	0	0	0
	<i>Morganella morganii</i>	1	1	100
	<i>Citrobacter koseri</i>	0	2	0
BGNs non fermentaires	<i>Pseudomonas aeruginosae</i>	3	5	60
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	3	66,7
TOTAL		24	257	

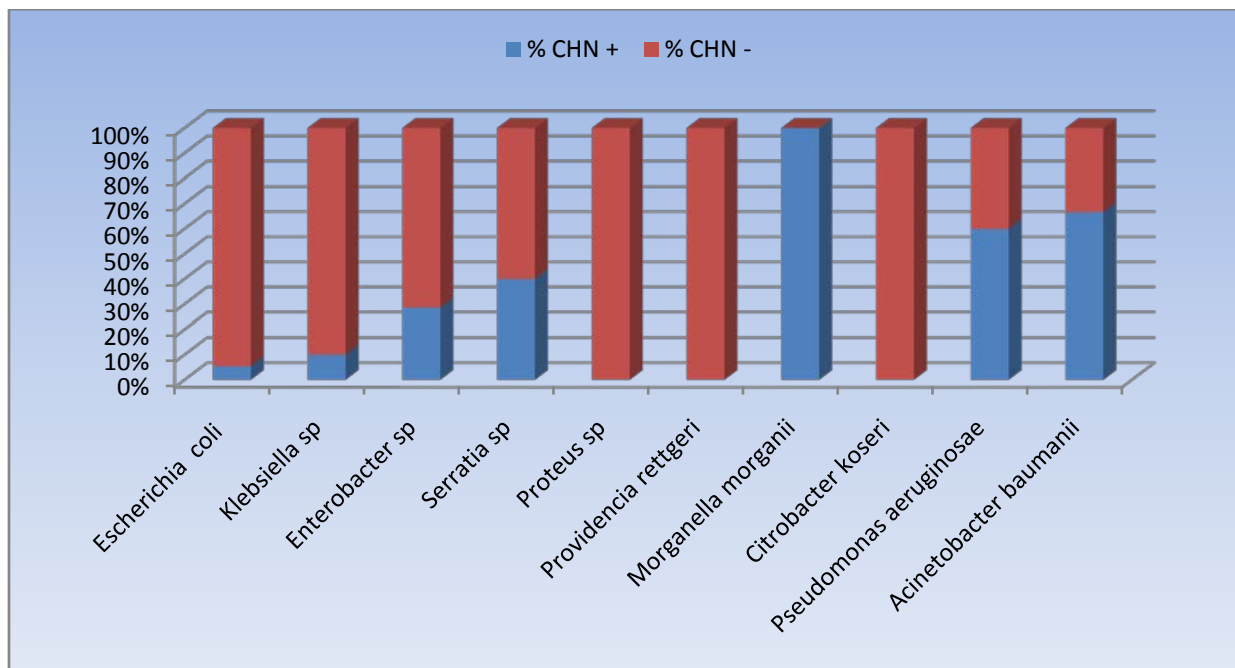


Figure 26 : Pourcentage des souches produisant des Céphalosporinases de haut niveau CHN.

➤ Interprétation

Durant notre étude, on a observé que :

- La souche isolé de *Morganella morganii* a produit une CHN ;
- des taux élevés de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* ont produits une CHN respectivement de l'ordre de 60 % et 66.7%, suivi par *Serratia sp* avec un taux de 40 % et *Enterobacter sp* avec un taux de 28.6 %.

Pour évaluer le profil de la résistance aux antibiotiques des BGNs isolés à partir des urines au Laboratoire de Microbiologie du CHU NEDIR MOHAMED de TIZI-OUZOU durant l'année 2018 et pour mettre aussi en évidence la fréquence et la prédominance des infections urinaires selon les services hospitaliers, nous avons mené une étude statistique rétrospective allant du 1^{er} janvier au 31 octobre 2018 et prospective allant du 1^{er} novembre au 31 décembre de la même année.

Durant la période d'étude, sur un total correspondant à 11508 échantillons d'urines reçu au laboratoire, 1400 prélèvements positifs ont été enregistrés, soit un taux de 12.2 %. Les BGNs sont les germes les plus isolés avec un nombre de 1149, soit un taux de 82.1 % et la plupart de ces prélèvements proviennent de patients hospitalisés. Cette observation est en conformité avec l'étude marocaine de Ait miloud (2011) [06], et en opposition avec l'étude tunisienne de Larabi [170], l'étude mauritanienne de Hailaji [171], et l'étude algérienne [173] qui présentent un effectif des patients en traitement ambulatoire supérieur à l'effectif des patients en traitement hospitalier. Cette concordance est expliquée probablement par la vulnérabilité de personnes hospitalisées, l'affaiblissement de leurs systèmes immunitaires et la présence de diverses causes de l'infection urinaire à l'hôpital (cathétérisme et sondage).

Les services les plus concernées sont les services d'urgences avec un taux de 33.46 % dont 28.77 % provenant du pavillon d'urgence médicale, cela peut être dû à la rupture de la barrière de protection chez les patients ayant subi un /ou des traumatismes, ce qui confère un terrain favorable à la survenue d'infections urinaires qui ne cesse d'augmenter d'où la nécessité de mettre en place une antibiothérapie afin d'y faire face.

Les services pédiatriques viennent en deuxième position avec un taux de 32.32 %, ce taux pourrait être justifié par le fait que les patients admis dans ces services sont particulièrement vulnérables aux infections par des bactéries résistantes à cause de leurs défenses immunitaires affaiblies et de leur exposition aux antibiotiques à large spectre.

Quant aux spécialités médicales, on enregistre un taux de 24.47 %, ce pourcentage peut être expliqué par la fréquence des manœuvres de sondages urinaires et l'optimisation des associations des antibiotiques chez les patients ayant séjournés dans ces services.

Parmi les BGNs, les entérobactéries sont les germes les plus fréquents avec un taux de 95.8%, en effet ces derniers sont des germes de la flore périnéale et qui sont responsables dans

la majorité des cas d'infections urinaires par ascension de l'arbre urinaire ce qui coïncide avec les données de la littérature. Le chef de file étant l' *E. coli* avec un taux de 65.1%, suivi par *Klebsiella pneumoniae* (16.4%), *Proteus mirabilis* (2.6%), et *Enterobacter cloacae* (2%). Les autres entérobactéries sont moins incriminées (2.8%). Nos résultats sont proches de ceux rapportés par Ait miloud, (2011) [06] au Maroc et Rahal (2018) [173] en Algérie qui confirment la prédominance des entérobactéries principalement *Escherichia coli* qui est le premier agent causal d'infection urinaire. Cela peut être expliqué par le fait qu'*E. coli* possède des adhésines, capables de lier la bactérie à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales, en plus elle est l'espèce la plus dominante de la flore intestinale qui peut migrer de l'intestin vers l'appareil urinaire et fait partie des coliformes fécaux, donc un mauvais nettoyage de la partie intime peut facilement provoquer l'entrée de la bactérie dans la vessie.

Par ailleurs, d'après nos résultats *Acinetobacter baumannii* était isolé dans 1.8 % des cas et *Pseudomonas aeruginosa* dans 2.4 % de cas, ces pourcentages sont faibles par rapport à ceux trouvés dans une étude faite à Constantine [172] où *A. baumannii* et *P. aeruginosa* présentent respectivement des taux de 16.01% et 12.69%.

La résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées des urines :

Les pourcentages des résistances aux antibiotiques des patients hospitalisés sont proches de ceux des patients externes, ceci peut être expliqué par le fait que les patients à titre externe sont souvent des patients ayant déjà séjourné à l'hôpital.

À l'échelle nationale, *E. coli* est résistante à la plupart des antibiotiques couramment utilisés dans le traitement des infections urinaires à savoir l'AMP (81%, 74.7%), l'AMC (34.3%, 24.1%) et les C1G comme la CZO (75.7%, 60.1%). Les taux trouvés dans notre étude se rapprochent de ceux du rapport d'évaluation de 2017 du réseau national de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques (AARN)[173] et les taux trouvés dans les autres hôpitaux d'Algérie (Mustapha Bacha, Parnet...). Vu ces taux de résistance élevés, les praticiens ont souvent recours à l'utilisation des C3G (CTX et CAZ...) qui peuvent aussi devenir inefficaces suite à la production des enzymes d'inactivation, comme le rapporte notre étude, citant principalement les BLSE (9.04%) et les CHN (5.4%), dont on a confirmé par des tests complémentaires.

Klebsiella pneumoniae présente des taux de résistance élevés à l'AMC (44%, 26.6%) et la CZO (80.5%, 58.8%) et la CTX (95.1%, 41.7%) mais contrairement à *E. coli*, elle résiste

également à la NIT (69.4%, 80%). 62 souche de *Klebsiella sp* ont été isolées au cours de notre étude prospective dont 13 produisant une BLSE (21 %) et 5 souches produisant une CHN (8.06 %).

Pour *Enterobacter sp*, les pourcentages de résistance les plus élevés sont rencontrés avec la CTX (53.8% et 28.6 %), la NIT (61.1% et 62.5 %), la NAL (41.7% et 50%) et la GEN(43.8 %,33.3 %) tandis que pour *Proteus sp* on a enregistré des taux de résistance élevés avec l'AMP (79.1 % et 62.5 %), la CZO (83.9% et 87.5%), la SXT (52.4% et 37.5 %) et NAI (35.3%, 33.3%), ces résultats se rapprochent de ceux du réseaux (AARN,2017)[173] et de l'étude Tiouit [21]. Les souches d'*Enterobacter sp* isolées durant l'étude prospective sont au nombre de 7 dont une souche est productrice de BLSE (14.3 %) et deux sont productrices de CHN (28,6%) alors qu'un faible taux de souches de *Proteus sp* produisent uniquement des BLSE (6.67%).

La résistance aux antibiotiques des BGNs non fermentaires isolés des urines :

Dans notre étude, nous avons constaté que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées à partir des urines sont plus sensibles que les souches d'*Acinetobacter baumannii*. En effet ce dernier occupe le premier rang dans la résistance aux carbapénèmes (IPM, ERT) ; d'ailleurs comme le rapporte notre étude ; presque la totalité des souches sont résistantes à l'imipénème, ceci peut être expliqué par l'origine hospitalière de ces souches isolés qui ont accumulées plusieurs mécanismes de résistance.

L'étude prospective nous a permis de constater que parmi les 5 souches isolés de *P. aeruginosae*, 3 ont développés des CHN soit un taux de 60% et que parmi les 3 souches isolés d'*A. baumannii*, 2 ont développés la même enzyme avec un taux de 66.7 %. Alors qu'aucune souche productrice de BLSE n'a été isolé cela peut être dû au faite que cette dernière peut être masqué par la production d'une carbapénémase.

L'infection urinaire demeure partout dans le monde une pathologie très fréquente. Les données bactériologiques locales et actualisées sont indispensables pour l'application efficace de nouveaux consensus de la prise en charge de cette pathologie ou il s'agit en particulier de prescrire une antibiothérapie efficace et de restreindre le recours à l'ECBU. Ces dernières années, l'antibiothérapie anarchique a conduit à l'apparition des bactéries résistantes et multi résistantes, l'augmentation de cette résistance doit être surveillée surtout dans l'environnement hospitalier.

C'est dans ce contexte que nous avons mené notre étude, dans le but de suivre l'évolution de la résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatifs isolés à partir des urines. En effet, ces derniers représentent les germes les plus incriminés dans les infections urinaires avec une incidence élevée des entérobactéries. *Escherichia coli* prédomine avec une fréquence élevée, suiv par *Klebsiella pneumoniae* alors que les BGN non fermentaires sont moins fréquemment impliqués.

A la suite de cette étude, il ressort que les BGNs isolés à partir des urines présentent des taux élevés de résistance aux antibiotiques notamment aux B-lactamines.

Les entérobactéries développent des résistances élevées à l'ampicilline AMP, à l'association amoxicilline-Ac clavulanique AMC et à la céfazoline CZO. Quant aux BGNs non fermentaires, *Pseudomonas aeruginosa* présente des résistances importantes vis-à-vis de la ticarcilline TIC et son association au clavulanate TCC, alors que *Acinetobacter baumannii* est un germe multi résistant.

Tandis que les tests complémentaires nous ont permis de démontrer des taux élevés de la résistance aux bêta-lactamines associée à la production d'une BLSE et d'une céphalosporinase de haut niveau.

Pour faire face à ce problème de résistance aux antibiotiques, il est important que l'usage de ces derniers soit rationalisé et guidé par les données de l'antibiogramme tant que possible afin de limiter l'émergence de souches résistantes compliquant encore plus la prise en charge de cette pathologie.

Différentes actions doivent être engagées pour maîtriser et réduire la consommation des antibiotiques sur le territoire national, à travers :

- Des campagnes de communication sur l'usage des antibiotiques.
- La diffusion des recommandations et textes réglementaires sur le bon usage des antibiotiques en milieu hospitalier ainsi que sur la maîtrise de la diffusion de la résistance bactérienne.
- Créer des commissions locales et régionales des anti-infectieux dans les établissements de santé, répondant ainsi aux directives réglementaires dans le cadre du plan pour préserver l'efficacité des antibiotiques.

Une surveillance permanente de la résistance bactérienne aux antibiotiques basée sur des études épidémiologiques est primordiale, nécessitant une coopération permanente entre cliniciens et microbiologistes.

ANNEXES

Annexe 01 : Table des antibiotiques.

Les inhibiteurs de la paroi : Les bêta-lactamines

- Le groupe Pénames [91].

Sous groupes	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Pénicilline G et ses dérivés	Parentérales : -Benzyl Pénicilline (péni G) -Benzyl Pénicilline procaine -Bénéthamine benzylpénicilline -Benzathine-benzyl pénicilline Orales : -Phénoxy méthyle pénicilline (pénicilline V) -Clométocilline	Cocci Gram + : Streptocoques (groupe A, C, G et B), Pneumocoques sensibles. Cocci Gram- : Neisseria (surtout le méningocoque). Bacilles Gram+ : <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Bacillus anthracis</i> <i>Listeria monocytogenes</i> , Anaérobies.....	Paroi bactérienne, par toxicité sélective : Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP ont une activité transpeptidasique, carboxypeptidasique et transglycolasique. L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes bizarroïdes (rondes ou filamenteuses) qui aboutissent à la lyse bactérienne.
Pénicilline M (antistaphylocoques)	- Méthicilline - Oxacilline - Isoxazolyl-pénicillines) : Cloxacilline, Dicloxacilline, Flucloxacilline.....	Staphylocoque producteur de pénicillinase. Staphylocoque MRSA- (sensibles à l'Oxacilline)	
Amino-pénicillines (pénicillines à large spectre)	- Ampicilline - Dérivés de l'ampicilline : Bacampicilline, Métampicilline, Pivampicilline, Pivampicilline - Amoxicilline, Epicilline	-Entérobactéries sauf : <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> et <i>Protéus</i> indole +. - <i>Neisseria méningitidis</i> , <i>Haemophilus influenzae b</i> sensible (pénicillinase-) -Inactifs sur <i>Pseudomonas</i> et <i>Acinetobacter</i> Streptocoques A, C, G	
Carboxy-pénicillines	- Carbénicilline, Ticarcilline	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . -Bacilles à Gram- résistants à l'ampicilline. -Entérobactéries productrices de céphalosporinases : <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Proteus</i> indole+.	
Acyl-amino pénicillines (Urédo-pénicillines)	- Azlocilline - Mezlocilline - Pipéracilline	Entérobactéries productrices de céphalosporinases. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i>	

ANNEXES

Amidino-pénicillines	- Mécillinam -Pivmécillinam	Actifs uniquement sur les bacilles à Gram-, Pas d'action sur les Cocci à Gram+.	
Pénicillines sulfones : inhibiteurs de β lactamases utilisées en association avec une β lactamine	Ampicilline+ sulbactam Pipéracilline+ tazobactam	-Bactéries à Gram-fermentaires -Bactéries à Gram- oxydatifs	
Carbapénèmes	Imipénème, Méropénème Ertapénème, Faropenem	Bactéries à Gram - y compris <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Le mode d'action de ces antibiotiques est identique au mode d'action des autres β lactamines (voir Pénames)
Oxapénames ou clavams (acide clavulanique) inhibiteurs de β lactamases utilisés en association avec une β lactamine	Amoxicilline+Acide clavulanique Ticarcilline + Acide clavulanique	Bactéries à Gram fermentaires. Bactéries à Gram- oxydatifs.	
Monobactames	Aztréonam	Actif uniquement sur les bacilles à Gram- y compris <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	

ANNEXES

- Le groupe de céphèmes [91].

Génération	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Céphalosporines de 1ère génération	Injectables, instables métaboliquement Céfalogiline, Céfacétrile, Céfapirine Injectables, stables métaboliquement Céfalogiline, Céfazoline Céphalosporines orales: Céfalexine, Céfradine, Céfadroxil, Céfaclor	-Staphylocoque MRSA- -Streptocoques (sauf entérocoques) - <i>H. Influenzae</i> -Certains bacilles à Gram - (<i>E. coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , salmonelles.....) -Inactifs sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Le mode d'action des Céphalosporines est identique au mode d'action des autres β lactamines (voir pénames)
Céphalosporines de 2ème génération	Injectables Céfoxitine (Céfamycine) Céfuroxime, Céfamandole	-Staphylocoque MRSA Streptocoques groupe A - <i>Streptococcus pneumoniae</i> - <i>Haemophilus Influenzae</i> -Bacilles à Gram- -Inactifs sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Céphalosporines de 3ème génération	Injectables Céfotaxime, Céftizoxime, Céftriaxone Latamoxef (Oxacephem), Ceftazidime Céfménoxime, Cefpirome, Cefsulodine Cefepime, Cefpirone Orales: Céfixime	-Bacilles à Gram- -Cocci à Gram+ : Pneumocoque, Streptocoque (sauf Entérocoque) -Cocci à Gram - -Certains sont actifs sur <i>Pseudomonas</i> (Ceftazidime).	
Autres céphalosporines	Céfopérazone, Céfotiam, Céfotétan (céphamycine), Céfsulodine	<i>Pseudomonas</i> , Cocci à Gram-, entérobactéries.	

ANNEXES

🌈 Glycopeptides et fosfomycine [93, 44 , 94, 95, 92].

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Glycopeptides	-Vancomycine -Teicoplanine	Bactéries à Gram+ et essentiellement: -Staphylocoques MRSA+ - Entérocoques - Pneumocoque résistant aux Pénicillines	paroi bactérienne en bloquant la polymérisation du peptidoglycane par un mécanisme complexe.
Non classé	Fosfomycine	<i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Streptococcus pneumoniae</i> Entérobactéries sauf <i>M.morganii</i> , <i>N.meningitidis</i> , Pasteurella et <i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	Paroi bactérienne à un stade précoce lors de sa synthèse.

🌈 Les inhibiteurs de la synthèse des protéines [91].

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Aminosides Les aminosides sont souvent utilisés en association avec d'autres antibiotiques (β lactamines)	-Streptomycine, dihydrostreptomycine -Néomycine, Paromomycine Framycétine (voie locale). -Kanamycine, Tobramycine Dibékacine, Amikacine -Gentamicine, Sisomycine, Nétilmicine	- Cocci et bacilles à Gram+. - Cocci et bacilles à Gram-, - Mycobactéries (streptomycine,kanamycine) Les anaérobies et les streptocoques sont résistants.	Sous unité 30S du ribosome. Erreur de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines.
	Spectinomycine	Neisseria gonorrhoeae	

ANNEXES

Macrolides- Lincosamides- Streptogramines (MLS)	Macrolides vrais : - 14atomes: Erythromycin ; Oléandomycine ; Roxithromycine ; Clarithromycine ; Dirithromycine - 15atomes: Azithromycine - 16atomes: Josamycine Spiramycine ; Midécamycine.	Cocci à Gram + : Staphylocoque MRSA-, Streptocoque Cocci à Gram - : Neisseria, Moraxelles Bacilles à Gram+: <i>Corynebacterium diphtheriae, Listeria monocytogenes,</i> <i>Bacillus</i> Certains bacilles à Gram- : Campylobacter, Helicobacter, Legionella Certains anaérobies: Eubacterium, Propionibacterium Autres bactéries: <i>Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia, Borrelia.</i>	Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines, ils agissent au niveau de la s/unité 50S du ribosome. Ils inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique en formation
	Lincosamides : -Lincomycine, Clindamycine Streptogramines : Pristinamycine, Virginiamycine Quinupristine, Dalfoprystine	Staphylocoque, Streptocoque. les lincosamides sont inactifs sur les entérocoques. Staphylocoque et autres Cocci à Gram+	
Tetracyclines	-Oxytetracycline, Chlortetracycline. -Doxycycline, Minocycline -Glycylcyclines	-Bactéries à multiplication intracellulaire : Chlamydia, Brucella, Rickettsia, Mycoplasma, Borrelia, Leptospira, pasteurella... -Bactéries à Gram+ et – : <i>Neisseria gonorrhoeae,</i> <i>Bacillus anthracis,</i> <i>Francisella tularensis, Yersinia pestis</i>	Sous unité 30S du ribosome. Inhibiteurs de la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, ils empêchent la fixation de l'aminoacyl-ARNt

ANNEXES

Phénicolés	-Chloramphénicol -Thiamphénicol	Bactéries à Gram+ et - En Algérie ils sont réservés au traitement de la fièvre typhoparatyphoïdique.	Sous unité 50S du ribosome. inhibition de la polymérase.
Oxazolidinones:	- Linézolide	Bactéries à Gram+ résistantes aux traitements habituels y compris les multi résistantes.	Ils interagissent avec l'unité ribosomale 50S et ont un mécanisme d'action non encore complètement élucidé.
Antibiotique non classé	Acide fucidique	Bactéries à Gram+, surtout utilisé comme anti staphylococcique.	C'est un inhibiteur de la synthèse protéique interférant avec le facteur d'élongation G (EF-G).

🚦 Les antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires :
Polymixines [91].

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Polymixines	- Polymixine B - Polymixine E ou colistine	Bacilles à Gram- sauf : <i>Proteus</i> , <i>Providentia</i> , <i>Serratia marcescens</i> <i>Morganella morganii</i> et <i>Edwardsiella tarda</i> Les bactéries à Gram+ et les mycobactéries sont naturellement résistantes.	Ils possèdent une charge positive et agissent comme des agents tensio-actifs. Ils agissent sur la membrane cellulaire en se fixant sur les phospholipides d'où rupture de la barrière osmotique.

ANNEXES

Les inhibiteurs des acides nucléiques [91].

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Quinolones Fluoroquinolones	Acide nalidixique, Acide pipémidique, Acide oxolinique, Fluméquine	Entérobactéries Les Gram+ sont résistants	Inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliqués dans cette synthèse: l'ADN gyrase et l'ADN topo- isomérase IV.
	- Péfloxacin, Ofloxacin Norfloxacin, Ciprofloxacin	Entérobactéries et Staphylocoques	
	Lévofloxacin, Moxifloxacin Sparfloxacin, gatifloxacin	Staphylocoques, Streptocoques, Pneumocoques, bacilles à Gram+ (sauf : Bacillus)	
Rifamycines	Rifamycine Rifamycine SV	-Mycobactéries -Bactéries à Gram+ à Développement cellulaire. divers bacilles à Gram- dont Brucella.	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARN messager (ARNm) par inhibition de l'ARN polymérase.
Nitrofuranes	Infections urinaires: Nitrofurantoin Hydroxyméthylnitrofurantoin Infections intestiales: Furazolidone ,Nifuroxazide	Bacilles à Gram - . Inactifs sur Pseudomonas, Acinetobacter et autres Gram -.	Agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases)
Non classé	Novobiocine	Staphylocoque, cocci à Gram-, Haemophilus et Pasteurelles.	Inhibe la réplication de l'ADN

ANNEXES

Les inhibiteurs de synthèse des folates : Sulfamides, Trimethoprim et association [91].

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Sulfamides	Sulfapyridine, Sulfafurazole Sulfaméthoxydiazine Sulfaméthoxypyridazine Sulfaméthoxazole Sulfaméthizole Sulfaguanidine	Bactéries à Gram - mais il existe beaucoup de résistances vis à vis de ces antibiotiques.	Inhibent la synthèse Des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydroptéroate synthétase (DHPS)
2-4 diamino-ptéridine	Trimethoprim	Il est utilisé en association avec les sulfamides (voir Sulfamides+ Trimethoprim	Inhibent la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydro-folate réductase
Sulfamides + Triméthoprim	Sulfaméthoxazole + Trimethoprim (Cotrimoxazole)	Bactéries à Gram+ et - mais il existe beaucoup de résistances vis à vis de ces antibiotiques.	Agit sur les deux enzymes précédents

Annexe 02 : Les résistances naturelles ou acquises des bactéries aux antibiotiques. [107]

Antibiotiques	Résistance chromosomique	Résistance extra-chromosomique
Aminosides	Diminution de la perméabilité Modification de la cible (protéine S12 de la sous-unité 30S)	Inactivation enzymatique par des acétyltransférases, des nucléotidyltransférases et des phosphotransférases bêta-lactamines
Bêta-lactamines	Diminution de la perméabilité Diminution d'affinité des PLP Augmentation de la synthèse des PLP Synthèse de nouvelles PLP	Inactivation enzymatique par des céphalosporinases Inactivation enzymatique par diverses bêta-lactamases
Glycopeptides		Modification de la cible (synthèse de D-alanine-D-lactate au lieu du Dipeptide D-alanyl-D-alanine) Hydrolyse du dipeptide D-alanyl-D-alanine
Macrolides Et apparentés		Méthylation de l'ARN r 23S
Phénicolés	Diminution de la perméabilité	Inactivation enzymatique par des chloramphénicols acétyltransférases
Quinolones	Diminution de la perméabilité Modification de la cible (gène gyrA, gyrB ou par C)	
Rifampicine	Modification de la cible (ARN polymérase ADN dépendante)	
Sulfamides	Diminution de la perméabilité Modification par mutation de la dihydroptéroate synthétase	Dihydroptéroate synthétase additionnelle et sans affinité pour les sulfamides
Tétracyclines	Diminution de la perméabilité	Afflux actif spécifique
Triméthoprim	Diminution de la perméabilité Modification par mutation de la dihydrofolate réductase	Dihydrofolate réductase additionnelle et insensible au Triméthoprim

ARNr : acide ribonucléique ribosomique ; **Gyr** : gyrase ; **S** : sous unité.

Annexe 03 : Résistances naturelles chez les entérobactéries

Bactérie	AMP/AMX	AMC	TIC/PIP	C1G	FOX	GEN	TCY	COL	NIT
<i>Klebsiella spp</i>	R		R						
<i>C.koseri</i>	R		R						
<i>C.freundii</i>	R	R		R	R				
<i>E.cloacae</i>	R	R		R	R				
<i>E.aerogenes</i>	R	R		R	R				
<i>S.marcescens</i>	R	R		R				R	
<i>P.mirabilis</i>							R	R	R
<i>P.vulgaris</i>	R			R			R	R	R
<i>M.morganii</i>	R	R		R			R	R	R
<i>P.stuartii</i>	R	R		R		R	R	R	R
<i>Y.enterocolitica</i>	R	R	R	R	R				

R : résistance naturelle.

Annexe 04 : Classification structurale et fonctionnelle des β -lactamases [136].

Classification			Activité enzymatique préférentielle							Activité inhibitrice	
Structurale d'Ambler	Fonctionnelle de Bush	Enzyme	PEN	CARB	OXA	C1G	C3G	ATM	IPM	Clavulanate	EDTA
Enzymes à sérine active											
A	2a	Pénicillinase à spectre restreint	+++	++	-	+/-	-	-	-	+++	-
	2b	Pénicillinase à large spectre	+++	++	+	++	-	-	-	+++	-
	2be	β -lactamases à spectre étendu	+++	++	+	++	++	++	-	+++	-
	2br	TEM résistantes aux inhibiteurs	+++	++	+	+/-	-	-	-	-	-
	2c	Carbénicillinasés	++	+++	+	+	-	-	-	+	-
	2e	Céfuroximasés	++	++	-	++	+	-	-	+++	-
	2f	Carbapénèmases	++	+	?	+	+	++	++	+	-
C	1	Céphalosporinasés	++	+	-	+++	+	-	-	-	-
D	2d	Oxacillinasés	++	+	+++	V	V	-	-	V	-
Métallo-enzymes à zinc											
B	3	Carbapénèmases	++	++	++	++	++	-	++	-	++

V : variable

Annexe 05 : Phénotype de résistance « sauvage » des entérobactéries aux β -lactamines.

Groupe de β -lactamines	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Principaux genres d'entérobactéries rencontrées en milieu hospitalier.	<i>E. coli</i> <i>P. mirabilis</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>	<i>Klebsiella</i> <i>Citrobacter koseri</i>	<i>Enterobacter</i> <i>Serratia</i> <i>Morganella</i> <i>Providencia</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>Yersinia</i>
Aminopénicillines	S	R	R	R
Carboxypénicillines	S	R	S	R
Uréidopénicillines	S	I/R	S	I/R
C1G	S	S	R	R
C3G	S	S	S	S
Carbapénèmes	S	S	S	S
Mécanismes de résistance	Absence de β -lactamase	Pénicillinase à bas niveau	Céphalosporinase à bas niveau	Pénicillinase + Céphalosporinase

Annexe 06 : coloration de Gram

Lorsque les bactéries ne sont pas bien observées au microscope, une simple coloration par le bleu de méthylène ou encore mieux le violet de gentiane peut être réalisée pour préciser la morphologie et le Gram de la bactérie afin d'orienter le diagnostic.

- **Mode opératoire de la coloration Gram**

- ✓ **Préparation du Frottis**

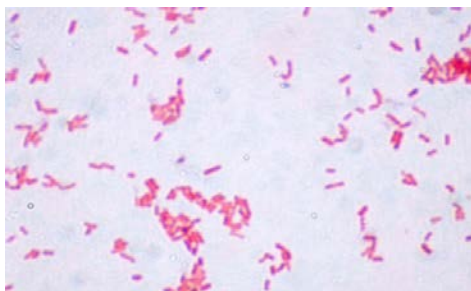
Sur une lame, une goutte d'eau physiologique stérile est déposée, ensuite une goutte d'urine est ajoutée en utilisant une anse de platine stérilisée. Le mélange est fixé sur la lame par quelques passages au flammé du bec bunsen.

- ✓ **Réalisation de la coloration**

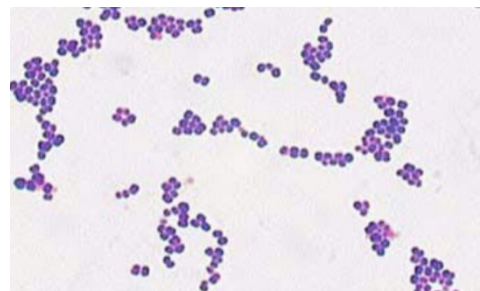
La coloration est réalisée en plusieurs étapes. La coloration primaire se fait par le violet de gentiane ou cristal violet pendant 30 secondes à 1 minute. Cette étape est suivie par un rinçage à l'eau distillée ou l'eau du robinet. La deuxième étape s'agit d'un mordantage au lugol pendant 60 secondes suivie d'un autre rinçage à l'eau distillée. La troisième étape est une décoloration à l'alcool (+acétone) pendant 5 à 10 secondes. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. La décoloration est suivie également d'un rinçage d'eau distillée. La dernière étape de la coloration de Gram est une Contre-coloration à la fuchsine pendant 30 secondes à 1 minute. Cette dernière étape est suivie par un lavage à l'eau distillée et ensuite d'un séchage de la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes.

- ✓ **Interprétation des résultats**

L'observation microscopique se fait avec une goutte d'huile à immersion (l'objectif x 100). Les bactéries à Gram négatif sont colorées en rose. Cependant, les bactéries à Gram positif se montrent colorées en violet.



(Gram -)



(Gram +)

Figure : Observation microscopique après coloration de Gram.

Annexe 7 : Autres techniques d'ensemencement

Lames immergées

Technique : Une lame porte objet munie d'un quadrillage en relief est recouverte dans l'une de ces face de gélose CLED (Cystine-Lactose-Electrolyte-Déficient) et l'autre face d'une gélose Mac Conkey.

La lame est conservée dans un flacon cylindrique stérile en matière plastique, fixée au couvercle du flacon.

Il faut saisir la lame par l'intermédiaire du couvercle auquel elle est fixée, immerger complètement les deux faces dans les urines ou verser les urines sur les deux faces. Incubation est de 18 H à 35°C.

Lecture :

elle se fait en comparant la pousse bactérienne à des témoins donnant des numérations de 10^3 à 10^7 ufc/ml.

L'utilisation des milieux chromogènes

Ces milieux sont composés d'analogue structural d'une molécule naturellement clivée par une enzyme bactérienne ou fongique.

Initialement le substrat ne possède aucune propriété. Après clivage le produit libéré acquiert des propriétés chromogéniques, Il précipite sans diffuser dans la gélose afin de permettre une bonne différenciation des colonies dans une culture pluri microbienne.

Par la présence d'une enzyme spécifique d'une espèce ou d'un genre bactérien.

La numération peut se faire selon la technique de Kass modifiée ou l'anse calibrée à 10µl **[19]**.

Annexe 08 : Le test d'oxydase

Principe

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries aérobies et aérobies facultatives à partir de leur culture en milieu gélosé. Elle oriente le diagnostic entre *Pseudomonas* sp (oxydase+) et les entérobactéries (oxydase-).

L'oxydation de la para-phénylène-diamine en un composé violet.

La recherche est réalisée en ajoutant un disque d'oxydase à une suspension bactérienne épaisse en eau physiologique.

Technique

- Sur une lame propre et dégraissée, déposer dans un angle une goutte d'eau distillée à l'aide d'une pipette Pasteur.
- A l'aide d'une pince en plastique, saisir un disque pour la recherche d'oxydase, réhydrater avec de l'eau distillée et le déposer au milieu de la lame, veillée à ce que le liquide ne déborde pas du disque.
- Avec une pipette Pasteur boutonnée, prélever un peu de culture pure de 18h sur milieu d'isolement et déposer la colonie sur le disque, attendre quelques secondes.

Lecture

Oxydase + : le disque devient rose foncé puis violet au niveau du dépôt.

Oxydase - : pas de changement de couleur.

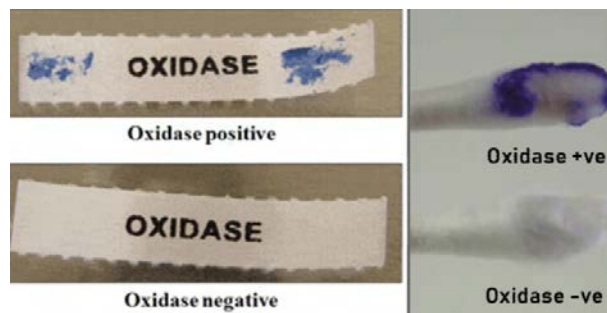


Figure : Lecture d'un test d'oxydase.

Annexe 09 : Le test a la catalase

✚ Principe

La catalase permet la décomposition de peroxydes (H_2O_2) en formant des bulles d'oxygène.

✚ Technique

- A l'aide d'une pipette Pasteur déposer au milieu d'une lame propre et dégraissée une goutte d'eau oxygénée.
- Avec une pipette boutonnée, prélever un peu de culture pure de 18h sur milieu d'isolement et déposer les bactéries dans l'eau oxygénée.

✚ Lecture

Catalase + : Bulles de gaz dans l'eau oxygénée.

Catalase - : Pas de dégagement gazeux.

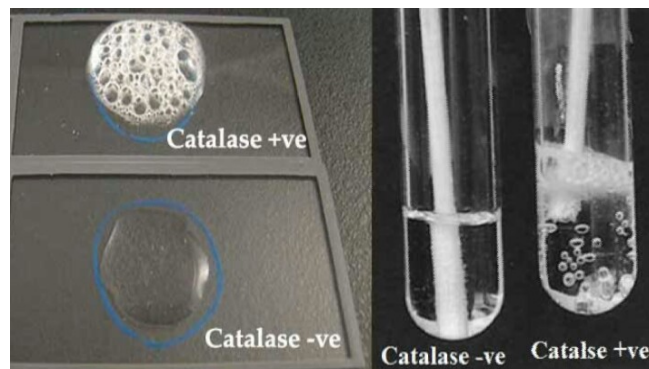


Figure : Lecture d'un test de catalase.

Annexe 10 : AntibioGramme par diffusion des disques

1. Milieu pour antibioGramme

- Le milieu adéquat doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi

2. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne.

3. Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

4. Application des disques d'antibiotiques

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm.
- Pour les bactéries exigeantes (*Streptococcus spp*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus spp...*), ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90 mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.
- La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée figure dans le tableau ci dessous.

ANNEXES

Tableau : Liste des antibiotiques à tester pour les Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp*

Entérobactéries	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>
Ampicilline ^a (10µg)	Ticarcilline (75µg)	Ticarcilline (75µg)
Amoxicilline + Acide clavulanique (20/10µg)	Ticarcilline + acide clavulanique (75/10µg)	Ticarcilline + acide clavulanique (75/10µg)
Aztréonam ^e (30µg)	Pipéracilline (100µg)	Pipéracilline (100µg)
Céfalotine ^d (30µg)	Céftazidime (30µg)	Céftazidime (30µg)
Céfazoline (30µg)	Aztréonam (30µg)	Imipénème (10µg)
Céfoxitine (30µg)	Imipénème (10µg)	Amikacine (30µg)
Céfotaxime ^b (30µg)	Amikacine (30µg)	Gentamicine (10µg)
Céftazidime (30µg)	Gentamicine (10µg)	Tobramycine (10µg)
Imipénème (10µg)	Tobramycine (10µg)	Nétilmicine (CMI seulement)
Ertapénème (10µg)	Nétilmicine (30µg)	Ciprofloxacine (5µg)
Amikacine (30µg)	Ciprofloxacine (5µg)	Lévofloxacine (5µg)
Gentamicine (10µg)	Lévofloxacine (5µg)	Doxycycline ^c (30µg)
Acide nalidixique (30µg)	Fosfomycine (CMI)	Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)
Ciprofloxacine (5µg)	Colistine (10µg)	Colistine (CMI seulement)
Colistine (CMI)		
Chloramphénicol (30µg)		
Furanes (300µg)		
Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)		
Fosfomycine (200µg)		

5. Conditions d'incubation

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommander pour chaque bactérie.

(Pour les entérobactéries, *P aeruginosa* et *Acinetobacter spp* : Incuber 18H (à prolonger pour OXA et VAN/TEC) à 35C°, atmosphère ordinaire.

6. Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Pour les bactéries testées sur Mueller- Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de pétri fermée.
- Pour les bactéries testées sur Mueller- Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de pétri ouverte et bien éclairée.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lectures correspondantes.
- Classer les bactéries dans l'une des catégories Résistant (R), Sensible (S) ou Intermédiaire (I).

Annexe 11 : Logiciel WHONET version (5.6)

WHONET est un logiciel libre développé par le Centre collaborateur de l’OMS pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques.

➤ Les principaux objectifs du logiciel :

- Améliorer l’utilisation locale des données de laboratoire ;
- Promouvoir la collaboration nationale et internationale par l’échange des données.

En Algérie, ce logiciel est utilisé depuis 1999 par l’ensemble des membres du réseau de bactériologie (AARN). Grace à cet outil, les résultats d’antibiogramme sont saisis puis analysés par les microbiologistes. Ceci permet l’édition d’un rapport annuel d’évaluation sur les données de résistance bactérienne aux antibiotiques au niveau national.

Pour chaque résultat enregistré, on mentionne des informations concernant le patient, le service de provenance, le type de prélèvement, le microorganisme en cause ainsi que les valeurs obtenues dans l’antibiogramme.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [01]** Briquet (2016) Infection urinaire de l'adulte : prise en charge les médecins généralistes en Guyane Française. Thèse de doctorat: Médecine générale. France : Université de Picardie Jules Verne, p.10.
- [02]** Benhadj khalifa et khedher (2010) Fréquence et résistance à l'antibiotique des bactéries uropathogène à l'hôpital universitaire Tahar Sfar de Mahdia. Revue tunisienne d'infectiologie. 4(2) ,57-61.
- [03]** Bruyère F., Cariou G., Boiteux J.P., Hoznek A., Mignard J.P., Bernard L., Sotto A., et al. (2008). Progrès en Urologie. Elsevier Masson.18 (1): 5-6.
- [04]** Ben Abdallah H., Sahnoun O., Ben Romdhane F., Loussaief S., Noomen M., Bouzouaia N., Et al. (2005). Profile de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries uropathogènes Isolées dans la région de Monastir. RevTunInfetiol. 2 (2) : 5-8 /P295-298 et P333.
- [05]** Ablikamwe F. (2004). Bactéries responsables des infections urinaires de Kighali, Rwanda. Mémoire Master: médecine. Rwanda: Kighali Health Institue.
- [06]** Ait Miloud Kh. (2011). L'infection urinaire : expérience du laboratoire de microbiologie de l'hôpital de spécialiste de Rabat. Thèse de doctorat : pharmacie. Rabat, Maroc : Université Mohammed V Faculté de médecine et de pharmacie-Rabat, 1, 11-12, 20, 56, 57, 58, 63, 65.
- [07]** Organisation mondiale de la santé (2014). Combattre la résistance aux antimicrobiens, y compris la résistance aux antibiotique. Projet de résolution proposé par l'Australie, la Chine, le Costa Rica, les Etats unis d'Amérique le Ghana, le Japon, la Libye, le Mexique, les Pays - Bas, le Qatar, le Royaume - Uni de Grande -Bretagne et d'Irlande du Nord, la Suède, et la Thaïlande.
- [08]** Liazid A. (2011). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries a Gram négatif non fermentaire au niveau du CHU de Tlemcen. Mémoire de magister : Biologie. Tlemcen /Université Abou BekrBelkaid –Tlemcen. P.13
- [09]** Rossant L, Rossant-Lumbroso J(2010), Encyclopédie médicale, les infections urinaires.
- [10]** Banacorsi S. (2007). Bactériologie médicale, Paris. 135-1
- [11]** Mauroy, B., Beuscart, C., Biserte, J., et Colomb eau, P. (1996). L'infection urinaire chez la femme enceinte. Progrès En Urologie, 607–622.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [12] Yahiaoui, M. (2016). Profils de virulence et de résistance aux antibiotiques de souche d'*Escherichia coli* humain responsable d'infection du tractus urinaire. Thèse de doctorat. Université science et de la technologie houari Boumediene.
- [13] Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte. Médecine et maladies infectieuses, juin 2008, 38S : S203-S252.
- [14] Guy Albert K(2008), Mémoire L'étude bactériologique des infections urinaires au centre Pasteur du Cameroun, 10P, 11P, 50p.
- [15] Wainsten J-P., (2012). La Larousse Médical. Edition Larousse; Paris Cedex 06.
- [16] Mondor H., (2004). Les infections urinaires hautes et basses + parasitologie. France.
- [17] Prescott., Harley., Klein., Wiley., Sherwood., woolverton. (2010). Microbiologie (in: chapitre 36: l'épidémiologie des maladies infectieuses). 3^{ème} édition. Paris: Boeck université, pp. 908
- [18] Saimi, A. (2014). Contribution à l'évaluation de la sensibilité d'*Escherichia coli* isolées d'infections urinaires communautaires aux quinolones et aux extraits d'*Origanum glandulosum* et *Cynoglossum cheirifolium*. Th. Master académique: biologie moléculaire et cellulaire. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, pp. 03
- [19] Boubrit. F. (2019). Examen Cytobactériologique des Urines. Cour de 4^{ème} année pharmacie. Faculté de médecine Tizi Ouzou.
- [20] Boccon et al. (2000).
- [21] Tiouit. D. Thèse de Tiouit. Alger. Edition 2009.
- [22] Ousseini KF. Etude de l'infection urinaire chez l'enfant malnutri dans le service de pédiatrie "A". NIGER. L'hôpital national de NIAMEY. 20 Juillet 2002.
- [23] le Professeur Thierry Flam 1999. Urologie/Pr. Thierry Flam. France, 2000-2011.
- [24] Ya Bi Foua. (2006). Profil antibiotypique des bactéries responsables d'infection urinaire communautaire. Th. Doctorat : pharmacie. Université de Bamako faculté de médecine de pharmacie d'odontostomatologie, pp. 29-43.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [25] Duhamel. M. (2013). Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Les infections urinaires chez la femme : conseils à l'officine.
- [26] F. Djennane D. Mohammedi D. Tiouit D. Touati K. Rahal. Institut Pasteur d'Algérie-Techniques Microbiologiques-Examen Cytobactériologique des Urines (E.C.B.U) Edition 2009.
- [27] Bonacorsi S, Bactériologie Médicale (2Eds), 2011, Pages 179-187.
- [28] Lavigne. J. P. Diagnostic, techniques et interprétation de l'ECBU. Faculté de médecine de Montpellier-Nîmes).
- [29] Pinganaud G, Rainfray M, Les Infections Urinaires Chez Les Personnes Agées. Neurologie. Psychiatrie. Gériatrie -Volume 4, Issue 24, 2004, Pages 15-21.
- [30] Liassine N. (2000). Problème des pathogènes à Gram négatif résistants aux antibiotiques au milieu hospitalier. Schweiz Med Wochenschr. 130 :1930-1936.
- [31] MADIGAN M et MARTINKO J. (2007). Brock biologie des micro-organismes. 11^{ème} Ed. PEARSON Education, France. P356.
- [32] PRESCOTT L., HARELY J. ET KLEIN D. (2003). Microbiologie. 2^{ème} Ed. De Boeck Université, Bruxelles. P 506.
- [33] AVRIL J., DABERNAT H., DENIS F. et MONTEIL H. (1992). Bactériologie clinique. 2^{ème} Ed. Ellipses, Paris. P 149-153.
- [34] Ben Abdallah H., Sahnoun O., Ben Romdhane F., Loussaief S., Noomen M., Bouzouaia N., et al. (2005). Profil de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries uropathogènes isolées dans la région de Monastir. RevTunInfetiol. 2 (2) : 5-8.
- [35] Avril J-L., Dabernat H., Denis F. et al. (2000). Bactériologie Clinique. Ellipses. 3^{ème} Edition. 511 p.
- [36] Clave D. (2012). Fiche technique : Escherichia coli. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. 123 : 8-543 et Oulymata G. (2007). Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à gram négatif. Thèse doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 120p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [37] Loukiadis, E. (2007). Facteurs de virulence et dissémination dans l'environnement via les effluents d'abattoirs d'animaux de boucherie d'*Escherichia coli* enterohémorragiques (EHEC). Th. Doctorat: microbiologie. UNIVERSITE TOULOUSE III –PAUL SABATIER U.F.R S.V.T, pp. 17
- [38] Dr Azzam. A. (2017). Cours de 4^{ème} année pharmacie. Faculté de médecine Tizi Ouzou.
- [39] Perrière 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. Université de Claude Bernard –Lyon 1. 96p.
- [40] Avril J.L., Dabernat H., Denis F. Et Monteil H. (2000). Bactériologie clinique. 3^{ème} édition. Ellipses édition marketing S.A. Paris .p 171-229.et p 511.
- [41] El Fertas Aissani R., Maissai Y., Alouache S., Bakour R. (2012). Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens, PATIBIO-3048 ; No. Of Pages 8.
- [42] Arafa N., Smati F., Scheftel JM., Meunier O. (2009). Caractérisation phénotypique et génotypique de Souches de *Klebsiella pneumoniae* Sub p *pneumoniae* Isolées A L'hôpital Universitaire De Constantine, Algérie. Science et Technologie C –N°30 Décembre (2009), Pp. 44-45-46.
- [43] Freney J, R.F., Hansen W, and Boll et TC. (2000). Precit de bactériologie Clinique.
- [44] Le Minor L and Véron M. (1989). Bactériologie médicale, 2^{ème} Edition Flammarion Médecine - Sciences, Paris .2 :428-432 et p : 1107.
- [45] Sekhri-Arafa N. (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Ben badis de Constantine. Université constantine1. 160p.
- [46] Carrer A. Et Nord Mann P. (2009). *Klebsiella pneumonie* CTX-M-15 : vers une modification de l'épidémiologie des B –lactamines à spectre étendu. Pathologie Biologie.
- [47] Boukadida J ., Salem N Hannachi N., Monastiri K. et Snoussi N. (2002). Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale néonatale à *Klebsiella pneumoniae* productrice de B-lactamase à spectre étendu. 2 Editions scientifiques et médical Elsevier SAS .Arch. Pédiatrie ; 9 :463-8.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [48] Ben Hadj Khalifa .A et Khedher .M. (2010). Epidémiologie des souches de *klebsiella spp.* Uropathogènes productrice de B-lactamase à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien. Pathologie biologie 60(2012) et –e5.
- [49] Lagha, N. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen.105.
- [50] sira alicé, D. (2008). Épidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi au chu du point G. Université bamako, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.1-51.
- [51] Mahlen SD. (2011). *Serratia* infections: from military experiments to current practice. Clin Microbiol Rev 24: 755-791.
- [52] Tanaka T, Takahashi H, Kobayashi JM, Ohyama T, Okabe N. (2004). A nosocomial outbreak of febrile bloodstream infection caused by heparinized-saline contaminated with *Serratia marcescens*, Tokyo, 2002. Jpn J Infect Dis 57: 189-192.
- [53] Byrne AH, Herra CM, Aucken H, Keane CT. (2001). Rate of carriage of *Serratia marcescens* in patients with and without evidence of infection. Scand J Infect Dis 33: 822-826.
- [54] Christensen GD, Korones SB, Reed L, Bulley R, Mc Laughlin B, Bisno AL. (1982). Epidemic *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit: importance of the gastro intestinal tract as a reservoir. Infect Control 3: 127-133.
- [55] John G Holt. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9 Editions.
- [56] Jean-Jacques Le frère. (2000). Transfusion sanguine: une approche sécuritaire, Mont rouge, France: J. Lib bey Eurotext.
- [57] Martha Embrey Paul Hunter, Jane Sellwood, Peter Wyn-Jones, Steven L.Percival, Rachel Chalmers. (2004). Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks, Elsevier.
- [58] Anuradha V Giri Nandini Anandkumar, Geetha Muthukumaran, Gautam Pennathur. (2004). A novel medium for the enhanced cell growth and production of prodigiosin from *Serratia marcescens* isolated from soil. BMC Microbiology.4:11.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [59] Washington C. Winn, Stephen D. Allen, Stephen Allen, V William M Janda, Elmer W. Koneman. (2005). Koneman's Color Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology, 6 ed., Lippincott Williams & Wilkins.
- [60] Nedjai S, Barguigua A, Djahmi N, Jamali L, Zerouali K, Dekhil M, Timinouni M. (2012). Prevalence and characterization of extended spectrum beta-lactamases in *Klebsiella-Enterobacter - Serratia* group bacteria, in Algeria. *Med Mal Infect* 42: 20-29.
- [61] LANCASTER LJ. (1962). Role of *Serratia* species in urinary tract infections. *Arch Intern Med* 109: 536-539
- [62] Rózalski A, Staczek P. *Proteus*. In: Liu D, editor. Molecular Detection of Food borne Pathogens. United States of America: Taylor and Francis Group, LLC; (2009). p. 217-30.
- [63] O'Hara CM, Brenner FW, Miller JM. Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clin Microbiol Rev* 2000 Oct ; 13 (4):534-546.
- [64] Sougakoff W., Trystram D. (2003). Résistances aux β -lactamines. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière. p. 31-46. [65] : Archambaud M., Clave D. (2004). Fiche technique : *Proteus mirabilis* BLSE. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. 51: 8-543.
- [66] Tribe, G. Wet Rood M J., (2002). *Providencia alcalifaciens* in diarrheic dogs and cats. *The Veterinary Record*; 150:386-387.
- [67] Chander Y., Goyal S. M. ET Gupta S.C. (2006). Antimicrobial resistance of *Providencia* spp. Isolated from animal manure. *The Veterinary Journal*. 172: 188-191.
- [68] Sinan Bilgin S., Eren Olcay S. et Mehmet Demirtas A. (2003). Complication of felon caused by *Morganella morganii* ; case report. *JOURNAL of ANKARA MEDICAL SCHOOL*; 25 (4): 199-204.
- [69] Chou YY., Chiu S-K., Lai H-C, et Chang F-Y. (2009). Tubo-ovarian abscess with *Morganella Morganii* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect*; 42:357-359.
- [70] Kim J.H., Cho C .R., Um T.H. , Rhu J .Y., Kim E. S., Jeon J. W. et Lee H.R. (2007). *Morganella Morgagnii* Sepsis with Massive Hemolysis *Korean Med Sci*; 22:1082-1084.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [71] Martin C. (2011). Bacilles à Gram negative non fermentaires. In: Denis F, Poly M-C, Martin C, Bingén E, Quentin R. Microbiologie médicale. 2ème édition. Elsevier Masson. P.107-115 -146-368 -370 - 413-417.
- [72] Garrity G. M., Bell J. A. ET Lilburn T. (2010). Pseudomonadales. In: Brenner D. J., Krieg N. R. Staley T. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2eme ED. 2. P: 323-441.
- [73] Sabin Charles., (2006). La lectine PA-IIL de *Pseudomonas aeruginosa* : Structure, affinité et spécificité pour des ligands naturels et glycomimétiques. Thèse de doctorat. P.14
- [74] Leclerc, H., Gaillard J, L., et Simont; M. (1995). Microbiologie générale bactérie et le monde bactérien. Paris: Doin Editeurs.408.
- [75] Sefraoui, I, E, K. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.32.
- [76] Khalil zadeh Pounéh., (2009). Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa* : évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing. Thèse de doctorat. P: 40.
- [77] Liqid, A. (2012). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentaire au niveau du C.H.U de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.24-26.
- [78] Dr kheira. RARAL, Mr kamel. KEZZAL. (1983) . Institut Pasteur d'Algérie (résistance aux Antibiotiques) - Epidémiologie-
- [79] Khalifa, A. B. H., Moissen et, D., Thien, H. V., et Khedher, M. (2011). Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes et modes de régulations. Biologie Clinique, 393–403.
- [80] Rossignol Gaëlle., (2007). Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche hospitalière de *Pseudomonas fluorescens* : Activité hémolytique et variation phénotypique. Thèse de doctorat. P : 7.
- [81] Euzeby J.P. (2010). : Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Le texte original est librement disponible sur : <http://www.bacteriologie.net/generale/resistancenaturelle.html>.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [82] Euzéby J P, (2003). Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.
- [83] Marrakchi CH., (2008). Infections à *Acinetobacter*. RevT un Infectiol. 2(2): 28-30.
- [84] Fomba, M. (2006). Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter* et des *Staphylococcus* a coagulase négatif à l'hôpital du point G. Thèse de doctorat en pharmacie.
- [85] Lambert T. (2007). *Acinetobacter*. In: Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E et Quentin R. Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson. Paris. P: 344-346.
- [86] Gillespie S. H. ET Hawkey P.M.(2006).Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Edition Wiley. 2eme Edition. London. 604P.
- [87] Marchand Isabelle., Damier-Piolle Laurence., Courvalin Patrice., Lambert Thierry., (2004). Expression of the RND-Type Efflux Pump A de ABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the A de RS two-Component system. Antimicrobial agents and chemotherapy. 48 (9): 3298-3304.
- [88] Lavigne J-P. (2007). Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. MB7 : Bactériologie B6 –Antibiotiques et résistance. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes. p 1-3.
- [89] El bouderkou M. (2015). Bactériémies en réanimation : Epidémiologie, traitement et évolution. Thèse de doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad, Marrakech, p.28 -27 -58 -59.
- [90] Oumou Khairy NA. Les entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamines à spectre élargi. Bamako : Université Cheikh AntaDiop De Dakar, Le 12 juillet 2005, N37.
- [91] Mohammedi D. (2010). Classification et mode d'action des antibiotiques. Pages (3-10).
- [92] CATTOIR V. (2006). Chloramphénicol, fosfomycine, acide fusidique et polymyxines. In : ANTIBIOGRAMME COURVALAIN. P, LECLERCQ. R, BINGEN. E 2ème édition, : P 349-364.
- [93] FRANCOIS. J, CHOMARAT. M, WEBER. M, GERARD.A.(2003).De l'antibiogramme à la prescription. BIOMERIEUX, 2ème édition : p8-p22.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [94] RABAUD C et MAY T.(2007). Glycopeptides. Encycl MédChir , Maladies infectieuses , 8-004-L-10, 7 p.
- [95] YALA D., MERAD A.S., MOHAMEDI D., OUAR-KORICHI M. N. (2001). Médecine du Maghreb, n°91 : p5-12 WEBOGRAPHIE.
- [96] Archamboud M. Paris. Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse Mars 2009.
- [97] FAVET. (2013).Antibiotiques et Résistance Bactérienne : offensives et contre-offensives , Uni 3, Genève. P 1 ; 7-8.
- [98] Pechere, J.C., Acar, j., Armengaud, M., Grenier, B., Moellering, R., Sande, M., Waldvogel, F., Zinner, S. (1991). Les infections (chapitre 20: infections urinaires). 3^{ème} édition . Paris : edisem, pp 334-338.
- [99] Sekhsokh, Y., Chadli, M., El Hamzaoui, S. A. (2008). Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. Médecine et maladies infectieuses, 38(6), 324-327.
- [100] FRIES D. (1992). Infection du tractus urinaire et pyélonéphrite. In maladies rénales : Hermann, Editeurs des sciences et des Arts Ed Paris : 123-145
- [101] CHAMPETIER D. Infections de l'appareil urinaire. Impact Internat Janvier, 1998 :139-141.
- [102] Philippon A. (2007), Faculté de médecine, Effet des antibiotiques et mécanisme de résistance.
- [103] Azerbaidjan B, Plan d'action stratégique européen sur la résistance aux antibiotiques ' OMS Europe, 20011,1P '.
- [104] COPYRIGHT MEDICAL, (2012). Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques, Fiche N° 824 - Mécanisme-R-ATB.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [105] LITCHANGOU BOUKA FRED, Actualité des bactéries multi- résistantes.
- [106] Philippon A, (2008). Résistance bactérienne : définitions, mécanismes, évolution, EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-006-N-10.
- [107] OMER N. La résistance aux antibiotiques.[Mise à jour 2004; Consultée 13 Septembre 2015]. Disponible sur : <http://www.fsr.ac.ma/cours/biologie/BELKADI/Resistance%20aux%20antibiotiques>.
- [108] Lozniewski A, Raboud C, Nancy. Résistance bactérienne aux ATB, infections associés aux soins juillet 2010.
- [109] Benmesmoudi LN. Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices.
- [110] Site web:<http://www.futura-science.com/magazines/santé/infos/dico/medecine-antibiotique> - 2992/2001 2016.
- [111] Mammeri H. Résistance bactérienne aux ATB. MCU-PH ; Service de bactériologie -Hygiène ; CHU- Amiens.
- [112] Lechat P. Pharmacologie. Paris. Université Pierre et Marie Curie [Mise à jour : 18 octobre 2006 ; consulté : 12 octobre 2015.]
- [113] Stoorvogel J. van Gestel MH. Ketelaar-van Gaalen PA. Mouton RP. van de Klundert JA. , (1991). Variation in induction of chromosomal beta-lactamase expression in strains of *Enterobacter cloacae*. *Chemotherapy.*, pages 175-85.
- [114] Ramadan M A. Tawfik A F. Shibl A M. Effect of beta-lactamase expression on susceptibility of local isolates of *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa* to beta-lactam antibiotics. *Chemotherapy.*, pages 193-9, 1995 May-Jun.
- [115] Korfmann G. Sanders CC. Moland ES. Altered phenotypes associated with amp^r mutations in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*, Pages 358-64, 1991 Feb.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [116] Stock, I., T. Grueger, and B. Wiedemann. (2003). Natural antibiotic susceptibility of strains of *Serratia marcescens* and the *S. liquefaciens* complex: *S. liquefaciens sensu stricto*, *S. proteamaculans* and *S. grimesii*. *Int. J. Antimicrob. Agents* 22:35–47.
- [117] Bermudes H. Arpin C. Jude F. Elharrif Z. Bebear C. Quentin C. Molecular epidemiology of an outbreak due to extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteria in a French hospital. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*., pages 523-529, 1997 Jul. *Klebsiella-pneumoniae*. Resistance. Dna.
- [118] De Champs C. Sirot D. Chanal C. Poupart MC. Dumas MP. Sirot J. (1991). Concomitant dissemination of three extended-spectrum beta-lactamases among different enterobacteriaceae isolated in a French hospital. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. pages 441-57, Apr.
- [119] Cheng Y. Chen M. Nucleotide sequence analysis of shv-2 beta-lactamase gene in *Enterobacter gergoviae*. *Wei Sheng Wu Hsueh Pao-Acta Microbiologica Sinica*., pages 226-30, 1994 Jun. Chinese.
- [120] Cheng Y. Li Y. Chen M. A plasmid-mediated shv type extended-spectrum beta-lactamase in Beijing isolate of *Enterobacter gergoviae*. *Wei Sheng Wu Hsueh Pao - Acta Microbiologica Sinica*., pages 106-12, 1994 Apr. [Chinese].
- [121] Lee EH. Nicolas MH. Kitzis MD. Pialoux G. Collatz E. Gutmann L. Association of two resistance mechanisms in a clinical isolate of *Enterobacter cloacae* with high-level resistance to imipenem.
- [122] Raimondi A. Traverso A. Nikaido H. Imipenem- and meropenem-resistant mutants of *Enterobacter cloacae* and *Proteus rettgeri* lack porins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. pages 1174-80, 1991 Jun.
- [123] Tzouvelekis LS. Tzelepi E. Kaufmann ME. Mentis AF. Consecutive mutations leading to the emergence in vivo of imipenem resistance in a clinical strain of *Enterobacter aerogenes*. *Journal of Medical Microbiology*., pages 403-7, 1994 Jun.
- [124] Doi, Y., K. Yokoyama, K. Yamane, J. Wachino, N. Shibata, T. Yagi, K. Shibayama, H. Kato, and Y. Arakawa. (2004). Plasmid-mediated 16S rRNA methylase in *Serratia marcescens* conferring high-level resistance to aminoglycosides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48:491–496.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [125] Tran J. H, Jacoby G. A. (2002). Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 5638-42.
- [126] Tran J.H., Jacoby G.A. et Hooper D.C.(2005). Interaction of the plasmid encoded quinolone resistance protein Qnr A with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrob Agents Chemother* ; 49: 118-25.
- [127] Lambert T.(2006). Aminocyclitol et bactéries à Gram Négatif. In. Courvalin P, Leclerc R, Bingen E. *Antibiogramme*. Paris. ESKA : 2^{ème} édition. Chapitre 19. P : 227-246.
- [128] Faure S. (2009 a). Les aminocyclitols, Pharmacothérapie pratique. *Actualité pharmaceutique* n° 482 : 51-55.
- [129] Singleton P. (2005). Bactériologie. Pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6^{ème} édition. Dunod. p 463.
- [130] Golsdein F.W. (2006). Sulfamides et Triméthoprim. Chapitre 27. *Livre antibiogramme*. ESKA : 2^{ème} édition. P 341-348.
- [131] Hermsen E.D., Sullivan C.J. et Rotschafer J.C. (2003). Polymyxins : pharmacology, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical applications. *Infect Dis Clin North Am*;17(3): 545-62.
- [132] Li J., Nation R. L., Turnidge J.D., Milne R.W., Coulthard K., Rayner C. R. et Paterson D. L. (2006). Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis*; 6: 589-601.
- [133] Gattoir V. (2006). Chloramphénicol, Fosfomycine, Acide fusidique et Polymyxines. Chapitre 28. *Livre antibiogramme*. ESKA : 2^{ème} édition. p 359- 364.
- [134] Pascal, C. (2010). Analyse génétique des souches multirésistantes de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'Est de la France, apport prédictif potentiel sur le risque infectieux. Thèse de Doctorat. Université de Franche-comte. P : 162.
- [135] Poirel Laurent., (2006). Nouveaux mécanismes de résistance chez *Pseudomonas aeruginosa*: quelles perspectives. XVII^e Congrès nationale de la SFHH-Nantes. P 25.
- [136] www.bacteriologie.net

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [137] Philippon A. (2005). β -lactamases: généralités. Université Paris V - Faculté de Médecine Descartes, Service de Bactériologie - 75014 PARIS. Sur le lien : www.microbesedu.org/mecanisme/bla/generalites.html - 63k.
- [138] Parveen Mohamudha R., Harish B.N., Parija S.C., (2010). Amp C beta- lactamases among Gram negative clinical isolates from a tertiary hospital, South India. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41: 1517-8382.
- [139] Pourriat Jan Louis., Martin claud., (2005). Principe de réanimation chirurgicale. Edition ARNETTE. P298.
- [140] Pechère Jean-Claude., ThiloKöhler., (2008). Patterns and modes of β -lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Microbiology and Infection*. 5(1): 15-18.
- [141] Philippon A., Arl et G., (2006). β -Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel. *Annales de biologie clinique*. 64 (1): 37-51.
- [142] Emmanuel Evens, (2004). Evaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. Thèse de doctorat.
- [143] Vora S., Auckenthaler R., (2010). Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique. *Revue Médicale Suisse*. N°220.
- [144] Pechère J.-C., Micha-Hamzhepour M., Kohler T., (1998). L'efflux antibiotique, un mécanisme de résistance multiple chez *Pseudomonas aeruginosa*. *Académie nationale de médecine*, Paris, France. 182 (3): 599-615.
- [145] Pagès Jean-Marie., (2004). Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. *Société de la revue médecine/sciences*. Éditions EDK. 20(3): 346-351.
- [146] Lahlou Amine I., Salord H., Gille Y., Roure C., Tigaud S., Tjou T., Rtabi N., Kassmi H.L., (2008). *Pseudomonas aeruginosa* et résistance isolée à l'imipénème : clone émergent en milieu hospitalier. *Les Technologies de Laboratoire*. N°11 : 4.
- [147] Van J.C Nguyen., Gutmann.L., (1994). Résistance aux antibiotiques par diminution de la perméabilité chez les bactéries à Gram négatif. *Pressemédicale*. 23 (11): 522-531.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [148] Lee, J.K., Lee, Y. S., Park, Y. K., and Kim, B. S. (2005a). Alterations in the Gyr A and GyrB subunits of topoisomerase II and the ParC and ParE subunits of topoisomerase IV in ciprofloxacin-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents* 25: 290-295.
- [149] Kettner M., P Milosevic., Hletkova M. J., (1995). Incidence and mechanisms of aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa* serotype 011. Isolates. *Infection*. 23(6): 380-3.
- [150] Nation,R.L., and Li,J. (2009). Colistin in the 21 st century. *CurrOpin Infect Dis* 22: 535-543.
- [151] Moskowitz, S. M., Ernst, R.K., and Miller, S.I. (2004). PmrAB, a two-component regulatory system of *Pseudomonas aeruginosa* that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to lipid A. *J Bacteriol* 186: 575-579.
- [152] Vidaillac, C., Benichou, L., and Duval, R.E. (2012). In vitro synergy of colistin combinations against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiellapneumoniae*isolates. *Antimicrob Agents Chemother*56: 4856-4861.
- [153] Muller, C., Plesiat,P., and Jeannot,K. (2011). A two-component regulatory system interconnects resistance to polymyxins, aminoglycosides, fluoroquinolones, and beta-lactams in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*55: 1211-1221.
- [154] Landman, D., Bratu, S., Alam,M., and Quale, J. (2005). City wide emergence of *Pseudomonas aeruginosa* strains with reduced susceptibility to polymyxin B. *J Antimicrob Chemother*55: 954-957.
- [155] Lee, J.Y., Song,J.H., and Ko,K.S. (2011). Identification of nonclonal *Pseudomonas aeruginosa* isolates with reduced colistin susceptibility in Korea. *Microb Drug Resist* 17: 299-304.
- [156] Walters, M. C., III, Roe, F., Bugnicourt, A., Franklin, M.J., and Stewart, P.S. (2003). Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa*biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrob Agents Chemother*47: 317-323.
- [157] Stewart,P.S., and Costerton,J.W. (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 358: 135-138.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [158] Corvec Stéphane., Caroff Nathalie., Espaze Eric., Giraudeau Cécile., Drugeon Henri., Reynaud Alain., (2003). AmpC cephalosporinase hyperproduction in *Acinetobacter baumannii* clinical strains. J antimicrobchemother. 52 (4) :629-35.
- [159] Héritier C, Poirel L, Fournier P-E, Nordmann P., et al. (2005). Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agent Chemother 49 (10) : 4174–4179.
- [160] Cattoir Vincent, (2008). Les nouvelles beta-lactamases à spectre étendu (BLSE). Pathologie infectieuse en réanimation. MAPAR. P: 208.
- [161] Clavilier L., Hervieu F., Letodé O., (2001). Gènes de résistance aux antibiotiques et plantes transgéniques. Edition INRA. P35.
- [162] Ruppé E., (2010).Epidémiologie des béta- lactamase à spèctre élargie : l'avènement des CTX-M. Infections bactériennes-Antibiotiques.12 (1) :5.
- [163] Conly J., Pitout J., Dalton B., Sabuta D.,(2011). La NDM-1 : summum de la résistance aux antimicrobiens. Centre de collaboration nationale des maladies infectieuses. 33:1.
- [164] Sinha Mahua., H. Srinivasa., R. Macaden., (2007). Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in *Acinetobacter* species. Indian J Med. P 63-67.
- [165] Toure Fatoumata., (2004). Résistance aux béta-lactamines de souches bactérienne isolées d'hémoculture au CHU A.LE DANTEC. Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie. P: 29-40.
- [166] Cattoir V, (2012). Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. Revue francophone des laboratoires 445 :79-87.
- [167] Moniri R., KhelatabadiFarahani R., GhShajari., NazemShirazi MH., Ghasemi A., (2010). Molecular epidemiology of aminoglycosides resistance In *Acinetobacter* Spp. with emergence of multidrug-resistant strains.Eranian Journal of public health. 39(2): 63-68.
- [168] Bouvet Philippe JM, Joly Guillou ML,(2007). *Acinetobacter*. Précis de Bactériologie clinique. Paris ESKA: 1239-1258.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [169]** Magnet S, Blanchard J.S. (2005). Molecular Insights into Aminoglycoside Action and Resistance. *Chem. Rev.* 105 :477-497.
- [170]** Larabi K ; Masmoudi A et C. Fendri. (2003). Etude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables des infections urinaires dans un CHU de Tunis: à propos de 1930 cas. *Médecine et maladies infectieuses*, 33 (7), 342-352.
- [171]** Hailaji N-S-M ; Ould Salem M-L. Ghaber. (2016). La sensibilité aux antibiotiques des bactéries uropathogènes dans la ville de Nouakchott- Mauritanie. *Progrès en urologie*. 26, 346-352.
- [172]** Profil bacteriologique des bactériemies à BGNs MAB1377. (YA BI FOUA ACHILLE ROLAND, 2006). Profil Antibiotique Des Bacteries Responsables D’Infection Urinaire Communautaire.
- [173]** Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (AARN), 2017.

Résumé

Les infections urinaires sont des infections fréquentes et qui sont de plus en plus difficiles à traiter en raison de l'émergence de bactéries résistantes et multi résistantes aux antibiotiques. Les BGNs représentent les germes les plus isolés au niveau des urines avec en tête la famille des entérobactéries.

C'est dans cette optique que nous avons entrepris une étude rétrospective et prospective au Laboratoire de Microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou dont l'objectif était d'étudier le profil de résistance aux antibiotiques des Bacilles à Gram négatif isolés à partir des urines.

D'après les résultats de cette étude, les tests bactériologiques ont révélé que sur les 11508 prélèvements urinaires reçus au laboratoire, 1400 étaient positifs dont 1149 étaient positifs à des BGNs, 1100 étaient des Entérobactéries soit une fréquence de 95,8% et 49 étaient des BGNs non fermentaire soit un taux de 4,2%.

Le profil bactériologique était largement dominé par *Escherichia coli* (65,1%), suivi de *Klebsiella* (20,7%), de *Proteus* (4,2%), d'*Enterobacter* (3%), et de *Serratia* (1,2%). L'étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques, a montré une résistance élevée des BGNs à la plupart des antibiotiques, citant les B-lactamines et l'association Triméthoprim-Cotrimoxazole(SXT).

La résistance aux B-lactamines a été associée à la production d'une B LES (11,67%) dont *Klebsiella* et *Enterobacter* présentent les taux les plus élevés et la production d'une céphalosporinase (9,3%) dont *Serratia sp* et les BGNs non fermentaires présentent les pourcentages les plus élevés.

Mot clé : Infection urinaire, les entérobactéries, BGNs non fermentaires, BLSE,

Abstract

Urinary tract infections are common infections and are increasingly difficult to treat because of the emergence of resistant and multi-resistant bacteria. BGNs represent the most isolated germs in the urine with the enterobacteria family at the top.

It is with this in mind that we undertook a retrospective study and a prospective study at the microbiology laboratory of Tizi-Ouzou University Hospital whose objective was to study the antibiotic resistance pattern of BGNs isolated from urine.

According to the results of this study, bacteriological tests revealed that of the 11508 urine samples received in the laboratory, 1400 were positive, 1149 of which were positive for BGNs, 1100 were Enterobacteriaceae or 95.8% of the time. and 49 were nonfermentary BGNs at a rate of 4.2%.

The bacteriological profile was largely dominated by *Escherichia coli* (65.1%), followed by *Klebsiella* (20.7%), *Proteus*(4.2%), *Enterobacter* (3%), and *Serratia* (1.2%). The study of the susceptibility of germs to antibiotics, showed a high resistance of BGNs to most antibiotics, citing B-lactams and the combination Trimetoprim-Cotrimoxazole (SXT).

B-lactam resistance was associated with the production of a BLES (11.67%) of which *Klebsiella* and *Enterobacter* have the highest levels and the production of a cephalosporinase (9.3%) including *Serratia sp* and Non-fermenting BGNs have the highest percentages.

Key word : Urinary infection, enterobacteria, non-fermentative BGNs, ESBL, Case.

Revue Bibliographique

Partie Pratique

Discussion



Chapitre I

Généralité sur Les infections urinaires



Chapitre II

Les Bacilles à Gram Négatif Responsables Des infections urinaires



Chapitre III

Traitement antibiotique des infections urinaires et profil de résistance des BGNs aux antibiotiques