

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme de Master
En Microbiologie

Option : Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical
et à l'Environnement

Thème

Etude des infections urinaires
communautaires causées par les
entérobactéries

Présenté par : M^{elle} Azzi Sonia

Membres de Jury :

Président : M^r AMIR N.

Promoteur : M^r DJOUDI F.

Co-promotrice: M^{elle} MEZHOUD H.

Examineur : M^r MOUSSAOUI B.

M^{elle} TAFOUKT R.

Année : 2011-2012

Remerciements

Louanges à Allah le tout puissant de nous avoir accordé le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Je tiens à remercier mon promoteur et ma co-promotrice pour leurs conseils chaleureux, leurs soutiens et leur bon encadrement afin de réaliser ce modeste travail.

Mes vifs remerciements vont également aux membres de jury qui ont bien voulu accepter d'examiner mon travail :

M^r Amir N. d'avoir accepté de présider le jury

M^{lle} Tafoukt R. et M^r Moussaoui B. d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail

Je remercie Dr Djama et Dr Lalaoui de m'avoir permis de faire la collecte de souches au niveau de leurs laboratoires d'analyses médicales

Je remercie M^{me} Rahmani et Soumaya pour leur aide précieuse et leur sympathie, et tout le personnel du laboratoire de microbiologie appliquée

Je remercie M^{me} Salhi du laboratoire Dr Lalaoui et tout le personnel du Laboratoire Dr Djama pour leur aide précieuse et leur sympathie

Je ne saurais jamais remercier mes chers parents pour leurs soutiens, encouragements et leur compréhension.

Je remercie également ma cousine Sihem et mes tantes Sissa et Zazy pour leur disponibilité et leur soutien.

Je remercie infiniment Sofiane pour ces précieux conseils et son soutien

Je remercie mes copines Souhila, Aini, Mimi, Dyhia et Wardoud pour leur compréhension et soutien

Je tiens à remercier toutes ma famille et toutes personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.



Dédicaces

*Louanges à Allah seigneur de l'univers,
Le tout puissant et le miséricordieux,
Qui a inspiré et comblé de bien faits, je lui rends grâce*

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents qui me sont très chers, pour leur encouragement, multiples soutiens et leur patience. Merci d'être à mes côtés dans toutes circonstances. Que dieu vous donne une longue vie et nous aide à être toujours votre fierté.

A mes frangins Yasmine et Yacine.

A mes chers grands parents, mes tantes, mes oncles et à toute ma famille.

A mes neveux et nièces : Loulou, Mounou, Dany, Mami, Sophy...

A mon meilleur ami Sosso.

A mes amis (es) : Sissa, Leila, Sonia, Souhila, Aini, Nawel, Atmane, Dalia, Halim, Wardoud, Mimi, Khalou Lalou, Karim, Hamid...

A toute personne m'ayant soutenu durant la période de réalisation de ce modeste travail.

A tout les adhérents et ex-adhérents du CSSN.

A toute la promotion MAABE.

Glossaire

* **Hémostasie** : C'est la capacité de maintenir à leurs valeurs normales les différentes constantes physiologiques de l'organisme.

* **Intégrons** : constituent la structure génétique la plus efficace connue du monde bactérien dans le domaine de l'émergence et de la dissémination de la résistance aux antibiotiques. Les trois constituants fondamentaux de l'intégron sont le gène *intI*, qui encode pour une intégrase de la famille des tyrosines recombinantes, le site de recombinaison primaire *attI* et un promoteur qui contrôlera le niveau de transcription des gènes qui seront intégrés.

* **Plasmides** : ce sont des molécules d'ADN indépendantes du chromosome et capables d'autoréplication. Un plasmide peut porter plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques conférant ainsi en bloc une multi-résistance.

* **Transposons** : ce sont des séquences d'ADN capables de promouvoir leur propre transfert d'un réplicon (chromosome ou plasmide) à un autre. Les transposons peuvent s'intégrer au chromosome de la bactérie. Ces éléments mobiles peuvent servir de véhicule aux gènes de résistance et permettre leur dissémination.

Liste des tableaux

Tableau I : Gamme d'antibiotiques préparée pour déterminer les CMI.....	19
Tableau II : répartition des patients selon le sexe.....	22
Tableau III : Répartition des patients selon l'âge.....	23
Tableau IV : Répartition de la population par catégorie d'âge.....	26
Tableau V : Répartition des entérobactéries étudiées par espèces.....	27
Tableau VI : Détermination des CMI à la ciprofloxacine pour les souches d'entérobactéries étudiées.....	30
Tableau VII : Profil de résistance aux céphalosporines de 3 ^e génération.....	31
Tableau VIII : Répartition des souches résistante au céfotaxime selon le sexe.....	32
Tableau IX : Répartition des souches résistantes au céfotaxime selon l'âge.....	32
Tableau X : Répartition des entérobactéries résistantes au céfotaxime par espèces.....	34
Tableau XI : Résultats du DD-test.....	34
Tableau XII : Résultats des CMI au céfotaxime.....	36

Tableaux en annexes

- Tableau I :** Infections urinaires : interprétation des principales situations basées sur le contexte épidémiologique, la présence de signes cliniques, d'une leucocyturie et d'une bactériurie.....Annexe III
- Tableau II :** Résistance naturelle chez les *Entérobactéries*.....Annexe IV
- Tableau III :** Antibiotiques à étudier par espèce ou par groupe bactérien.....Annexe V
- Tableau IV :** Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour *Enterobacteriaceae*.....Annexe V
- Tableau V :** famille des entérobactéries. Principaux caractères biochimiques différentiels des genres et espèces bactériennes rencontrées fréquemment en pathologie humaine et animale.....Annexe VII
- Tableau VI :** Résultats de l'identification par la galerie biochimique classique.....Annexe VIII

Liste des figures

Figure 1 : anatomie de l'appareil urinaire.....	2
Figure 2 : Schéma des différents mécanismes de résistance aux quinolones.....	8
Figure 3 : Mécanisme d'induction de β -lactamines chez les <i>Enterobacteriaceae</i>	11
Figure 4 : Schéma représentant le DD-test.....	18
Figure 5 : Représentation graphique en secteur des pourcentages des souches impliquées dans l'infection urinaire.....	21
Figure 6 : Répartition des infections urinaires communautaires selon le sexe.....	22
Figure 7 : Répartition de la population étudiée selon le sexe et l'âge.....	23
Figure 8 : Taux de résistance au quinolones/fluoroquinolones chez les souches d'entérobactéries.....	24
Figure 9 : Proportion des souches d'entérobactéries résistantes à la ciprofloxacine selon le sexe.....	25
Figure 10 : a) Taux de souches résistantes à la ciprofloxacine par catégorie d'âge ; b) Taux d'infection par les entérobactéries par catégorie d'âge.....	26
Figure 11 : Répartition des souches d'entérobactéries résistantes à la ciprofloxacine selon l'âge et le sexe.....	27
Figure 12 : Répartition des souches d'entérobactéries résistantes au céfotaxime selon l'âge et le sexe.....	33
Figure 13 : DD-test pour les souches D.09 et L.26.....	35
Figure 14 : Détermination de la CMI au céfotaxime.....	37

Liste des abréviations

AK : <u>A</u> mikacine	MBL: <u>metallo-β-lactamases</u>
AMC : <u>A</u> moxicilline / acide <u>C</u> lavulanique	MFS: <u>M</u> ajor <u>F</u> acilitator <u>S</u> uperfamily
ATM: <u>A</u> ztréonam	NA : <u>A</u> cide <u>n</u> alidixique
BLSE : β-lactamases à <u>s</u> pectre <u>é</u> tendu	Omp : <u>O</u> uter <u>m</u> embrane <u>p</u> rotein
BMR : <u>b</u> actéries <u>m</u> ultirésistantes	OprD : <u>O</u> uter membrane <u>p</u> orin
C: <u>C</u> hloramphénicol	PER : <u>P</u> seudomonas <u>a</u> eruginosa multirésistants
CARB: <u>C</u> arbapénémase	PBP : <u>P</u> enicillin <u>b</u> inding <u>p</u> rotein
CAZ: <u>C</u> eftazidime	PEF/OFX : <u>P</u> éfloxacine ou <u>o</u> floxacine
CF: <u>C</u> éfixime	PLP : <u>p</u> roteine <u>l</u> iant la <u>p</u> énicilline
CIP: <u>C</u> iprofloxacine	PSE : β-lactamases <u>s</u> pécifiques à <u>P</u> seudomonas <u>a</u> eruginosa
CMI : <u>c</u> oncentration <u>m</u> inimale <u>i</u> nhibitrice	Qnr : <u>q</u> uinolone <u>r</u> esistance
CMY: <u>c</u> éphamycinase	QRDR : <u>q</u> uinolone- <u>r</u> esistance <u>d</u> etermining <u>r</u> egion
CS : <u>C</u> olistine	SARM : <u>S</u> taphylococcus <u>a</u> ureus <u>r</u> ésistants à la <u>m</u> éthicilline
CTX : <u>c</u> éfotaxime	SAVR : <u>S</u> taphylococcus <u>a</u> ureus <u>v</u> anco- <u>r</u> ésistants
CTX-M : <u>c</u> éfotaximase- <u>M</u> unich	SHV : <u>S</u> ulfhydryl <u>v</u> ariable
EBLSE : <u>E</u> ntérobactéries productrices de β-lactamases à <u>s</u> pectre <u>é</u> tendu	TEM: <u>T</u> emoneira
ECBU : <u>E</u> xamen <u>C</u> yto- <u>B</u> actériologique des <u>U</u> rines	
EDTA : <u>E</u> thylène <u>D</u> amine <u>T</u> étra <u>A</u> cétate	
FOS : <u>F</u> osfomycine	
FOX: <u>C</u> éfoxitine	
GEN: <u>G</u> entamicine	
ITUC/ITUN : <u>i</u> nfection du <u>t</u> ractus <u>u</u> rinaire <u>c</u> ommunautaire/ <u>n</u> osocomiale	
KPC: <u>K</u> lebsiella <u>p</u> neumoniae <u>c</u> arbapénémase	
Mar: <u>M</u> ultiple <u>a</u> ntibiotic <u>r</u> esistance	

sommaire

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des tableaux en annexe	
Liste des figures	
Glossaire	
Introduction	01

Synthèse bibliographique

Chapitre I : L'infection urinaire et les bactéries impliquées

I. L'appareil urinaire.....	02
I.2 Définition.....	02
I.2 Composition de l'appareil urinaire.....	02
II. Les infections urinaires.....	03
II.1 Définition de l'infection urinaire.....	03
II.2 Les différents types d'infection urinaire.....	03
II.3 Personnes exposées aux infections urinaires.....	04
III. Les bactéries impliquées dans les infections urinaires.....	05
III.1 Les Entérobactéries.....	05
III.1.1 <i>Escherichia coli</i>	06
III.1.2 <i>Proteus mirabilis</i>	06
III.1.3. Autres <i>Enterobacteriaceae</i> impliquées dans les infections urinaires.....	06

Chapitre II : Les mécanismes de résistance

I. Le mode d'action de certains antibiotiques.....	07
I.1. β -lactamines.....	07
I.2. Aminoglycosides.....	07
I.3. Fluoroquinolones.....	07
I.4. Les mécanismes de résistance.....	07

II.1.Diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique.....	07
II.1.1. Imperméabilité membranaire.....	08
II.1.2 Efflux.....	08
II.2.Modification de la cible.....	09
II.3.Protection de la cible.....	10
II.4.Résistance par voie enzymatique.....	10
II.4.1.Les β -lactamases.....	10
II.4.2. Autres enzymes.....	13

Partie pratique

Chapitre III : Matériels et Méthodes

1.Recueil des données.....	14
2. Repiquage des souches d'entérobactéries.....	14
3.Confirmation de l'identification.....	14
3.1 Observation macroscopique des colonies sur gélose sélective.....	14
3.2.Galerie biochimique classique.....	14
4.Etude de la résistance des souches d'entérobactéries aux antibiotiques.....	17
4.1. Antibiogramme standard.....	17
4.2Recherche de BLSE par le test de synergie (DD-test).....	18
4.3 Recherche de BLSE par DD-test sur gélose additionnée de la cloxacilline.....	18
4.4 Détermination des CMI sur milieu solide.....	19

Chapitre IV : Résultats et Discussions

I.Collecte des souches.....	21
I.1Taux d'entérobactéries impliquées dans les infections urinaires communautaires.....	21
I.2 Les caractéristiques de la population.....	22
II. Profil de résistance des <i>Enterobacteriaceae</i> aux antibiotiques	24
II.1 Résistance aux fluoroquinolones.....	24
II.1.1Caractéristiques de la population.....	25
II.1.2Répartition des souches résistantes au céfotaxime par espèce.....	27
II.1.3CMI des souches d'entérobactéries résistantes à la ciprofloxacine.....	28
II.2Résistance des entérobactéries aux β -lactamines.....	31
II.2.1Résistance aux céphalosporines de 3 ^{ème} génération.....	31

II.2.3 Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines.....	34
II.2.4Détermination des CMI du céfotaxime.....	36
Conclusion	38

Introduction

Les infections urinaires communautaires sont un motif très fréquent de consultation et de prescription médicale en pratique courante. Les voies urinaires représenteraient, en effet, le second site d'infection bactérienne communautaire après l'appareil respiratoire (**Caron, 2008**).

L'infection urinaire est l'une des infections les plus communes et constitue un fardeau important pour les ressources du système de santé. En milieu communautaire, elle touche principalement les femmes actives sexuellement mais également les gens de tout âge. En milieu hospitalier, les personnes âgées et les porteurs de sonde urinaire sont les principaux patients touchés (**Thirion et Williamson, 2003**). Souvent considérées comme banales, les infections urinaires peuvent avoir des conséquences sévères, notamment chez la femme enceinte ou chez les patients qui présentent une anomalie des voies urinaires, un facteur favorisant tel que le diabète ou une immunodépression (**Janvier et al., 2008**).

Les bactéries les plus fréquemment isolées appartiennent à la famille des entérobactéries mais cela n'exclue pas les autres bacilles à Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*) ou cocci à Gram positif (*Staphylococcus sp.* et *Enterococcus sp.*) qui peuvent être également impliquées (**Ben Abdallah et al., 2008**).

La résistance aux antibiotiques des germes responsables de ces infections est de plus en plus observée et constitue un problème de santé publique (**Soussy, 2006 ; Ben Abdallah et al., 2008**). Généralement, en cas d'infection bactérienne grave, une antibiothérapie est souvent débutée sans attendre la confirmation bactériologique de l'infection et l'identification de son agent causal (**Nathanson et Deschênes, 2002 ; Mechkour et al., 2011**).

L'objectif de ce travail est l'étude des d'infections urinaires causées par les entérobactéries dans la communauté, ainsi que l'estimation des taux de résistance des bactéries impliquées. Pour cette raison, nous avons opté pour la méthodologie suivante :

- Collecte de souches isolées d'urines,
- Evaluation des taux de résistance des souches d'entérobactéries collectées,
- Détermination des CMI de la ciprofloxacine et céfotaxime,
- Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines.

I. L'appareil urinaire

I.1. Définition

L'appareil urinaire se présente comme un ensemble d'organes qui élaborent l'urine et l'évacuent hors du corps (Trost et Trouilloud, 2010).

I.2. Composition de l'appareil urinaire

Il comprend :

- ✓ Les reins : organes pairs intra-abdominaux, situés dans la région rétro-péritonéale latérale. Leur principale fonction est la production d'urine, le maintien de l'hémostase hydroélectrolytique, suivis des voies excrétrices acheminent l'urine du pelvis rénal à la vessie (Delmas *et al.*, 2008 ; Yiou, 2011).
- ✓ La vessie qui est le réservoir de l'urine entre les mictions. Ses principales fonctions sont le stockage de l'urine et son évacuation par l'urètre (Delmas *et al.*, 2008 ; Yiou, 2011).
- ✓ L'urètre : conduit évacuant l'urine contenue dans la vessie. Chez l'homme, c'est un conduit uro-génital et long, entouré par la prostate. Chez la femme, c'est un conduit urinaire uniquement, court et rectiligne (Chevallier et Vitte, 1998 ; Delmas *et al.*, 2008).

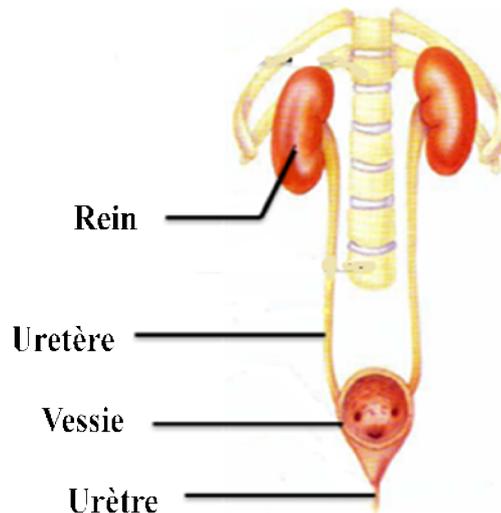


Figure 1 : anatomie de l'appareil urinaire (Yiou, 2011).

Les deux reins et les deux uretères, constituent le haut appareil urinaire, par ailleurs, la vessie et l'urètre constituent le bas appareil urinaire (Marieb, 1999 ; Trost et Trouilloud, 2010).

II. Les infections urinaires

L'appareil urinaire est normalement stérile, bien que s'ouvrant vers l'extérieur. La présence de bactéries suffirait donc à définir l'infection urinaire (IU). Dans ce cas, l'urine est contaminée physiologiquement lors de son émission par les germes du méat urétral ou du périnée, et elle constitue un bon milieu de culture (**Caron et al., 2008 ; Caron, 2010**).

II.1. Définition de l'infection urinaire

Les infections du tractus urinaire (ITU ou IU) regroupent un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants de l'arbre urinaire ou de ses annexes. Leur point commun est la présence et/ou la multiplication de bactéries dans le tractus urinaire (bactériurie). On admet que cette dernière est positive quand elle est supérieure à 10^5 CFU/mL d'urines mises en culture, s'accompagnant de réaction inflammatoire avec afflux de leucocytes dans l'urine (Annexe III) (**Elkharrat et al., 2007 ; Denis et al., 2007**). C'est une pathologie très fréquente, notamment chez la femme. Elle peut-être d'origine communautaire (ITUC), ce type d'infection est très fréquent en pratique courante car les voies urinaires constituent le deuxième site d'infection bactérienne après l'appareil respiratoire. Comme elle peut-être d'origine nosocomiale (ITUN) si elle n'est pas présente lors de l'hospitalisation, et émergée après plus de 48 h de l'hospitalisation (**Perrin et al., 1998 ; Caron et al., 2008**).

II.2. Les différents types d'infection urinaire

L'infection urinaire se distingue en cystite, pyélonéphrite et bactériurie asymptomatique (infection limitée aux urines vésicales). Cependant, certains y incluent les infections associées de certaines annexes génitales et certaines infections nécessitent une prise en charge spécifique (**Elkharrat et al., 2007**). L'IU symptomatique est un syndrome clinique stéréotypé, associant de façon variable un ensemble de symptômes, dont brûlures urinaires, mictions impérieuses, dysurie, pollakiurie, hématurie macroscopique...etc. (**Carbonnelle et al., 1987**). L'infection urinaire peut s'agir de :

→ cystite aigue : touche 10% des femmes entre 20-60 ans et elle est caractérisée par des brûlures mictionnelles ; dysurie ; pollakiurie ; urines troubles ; douleurs sus-pubienne ; parfois

hématurie mais sans signes fébriles. Elle peut être simple, compliquée ou récidivante (plus de 4 épisodes/an) (**Barza, 1999 ; Elkharrat et al., 2007 ; Moulin et Peraldi, 2007**),

→ pyélonéphrite aiguë (PNA) : infection caractérisée d'un début brutal (invasive) ; de fièvre élevée supérieure à 38,5 °C avec frisson ; de douleurs lombaires et une hyperleucocytose est généralement associée. Une cystite peut avoir précédé la fièvre ; la PNA peut être simple ou compliquée (**Barza, 1999 ; Elkharrat et al., 2007 ; Moulin et Peraldi, 2007 ; Caron, 2010**),

→ prostatite aiguë : inflammation aiguë d'origine microbienne de la glande prostatique, la durée des symptômes est inférieure à 3 mois ; fièvre élevée supérieure à 38,5 °C accompagnée de douleurs pelviennes ; exceptionnelle chez l'enfant mais sa fréquence augmente avec l'âge (**Moulin et Peraldi, 2007 ; Caron et al., 2008**).

→ infections urinaires de la femme enceinte ou bactériurie de la femme enceinte : témoin d'une infection potentiellement grave ; dans certains cas elle peut être asymptomatique (**Moulin et Peraldi, 2007 ; Caron, 2010**).

Chez l'adulte, il est à distinguer la cystite, infection du bas appareil urinaire, de la pyélonéphrite, infection du haut appareil urinaire (**Barza, 1999 ; Denis et al., 2007**).

II.3. Personnes exposées aux infections urinaires

- Les infections urinaires sont fréquentes chez le diabétique, en raison de l'augmentation de l'adhérence bactérienne, diminution de la sécrétion des cytokines et une quiescence bactérienne. Elles sont considérées comme des infections urinaires compliquées qui peuvent prendre différentes formes et se localiser dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite) ou hautes (pyélonéphrite) (**Radi et al., 2008**).

- L'ITU est aussi fréquente chez les personnes âgées. Elle peut-être aussi à l'origine d'hospitalisation de 10,3% chez la population âgée aux USA, touchant ainsi plus le sexe féminin que masculin, d'âge supérieur à 80 ans (**Matthews et al., 2011**),

- En raison de modification anatomiques, physiologiques et fonctionnelles des voies urinaires, la grossesse peut-être responsable de nombreuses pathologies urologiques s'exprimant parfois dans un contexte d'urgence et dont certains peuvent menacer le pronostic vital materno-fœtal (**Hermieu, 2007**).

III. Les bactéries impliquées dans les infections urinaires

Les bactéries peuvent être à l'origine de diverses maladies infectieuses dont les infections urinaires qui sont causées par les bactéries à gram négatif tels que les entérobactéries, ou par les bactéries à gram positif tel que les cocci (*Enterococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*) (Bidet et Bingen, 2007).

III.1. Les Entérobactéries

Elles constituent une vaste famille ayant une forte similitude et se caractérisent par des espèces le plus souvent isolées en bactériologie clinique. En effet, il s'agit pour la plupart d'hôtes du tractus digestif, mais certaines espèces peuvent-être rencontrées de façon prépondérante dans le milieu extérieur (exemple de *Serratia*). La taxonomie des bactéries appartenant à cette famille est basée sur le séquençage de l'ARN 5 S et 16 S (Joly et Reynaud, 2006 ; Bidet et Bingen, 2007). Ainsi, les caractères communs de ces bactéries, se résument en :

Bacilles à Gram négatif, non sporulés, le plus souvent mobiles grâce à une ciliature péritriche, sauf *Klebsiella* ; *Shigella* et *Yersinia pestis*. Elles sont aérobies-anaérobies facultatives et cultivent sur les milieux ordinaires, fermentent le D-glucose avec/sans production de gaz, et réduisent les nitrites en nitrates (excepté certaines souches de *Erwinia* et de *Yersinia*). Les entérobactéries n'ont pas d'oxydases mais possèdent plutôt une catalase sauf *Shigella dysenteriae* sérotype 1 (Annexe VI) (Joly et Reynaud, 2006).

3.1.1. *Escherichia coli*

C'est l'agent étiologique dominant des infections urinaires. L'uropathogénie de certains clones de *E. coli* est due strictement à l'expression: d'un lipopolysaccharide spécifique (LPS ; O), de l'antigène capsulaire (K, *E. coli* K 1) et de l'antigène flagellaire (H) (sérotype O ; K ; H). Les clones uropathogènes possèdent le plus souvent des fimbriae et peuvent exprimer plusieurs organelles adhésives à leur surface, dont les plus impliquées dans la virulence seraient : *P fimbriae* et le type 1 *fimbriae*. De plus, des études épidémiologiques ont montrés que les souches possédant des *P fimbriae* sont majoritairement à l'origine du développement de 90 % des pyélonéphrites sévères, par contre moins de 20 % des souches de ce phénotype peuvent être à

l'origine de bactériurie asymptomatique. De plus, on trouve, les aérobactines qui semble être un système de captation du fer et permet la croissance de la bactérie au dépend de l'hôte. Les hémolysines constituent aussi un autre facteur de virulence et contribuent au phénomène hémolytique, trouvées plutôt chez des souches isolées de pyélonéphrites que celles isolées des infections urinaires basses (Riegel, 2003 ; Bergsten et al., 2005).

3.1.2. *Proteus mirabilis*

Cette espèce est une cause fréquente d'infection urinaire, du fait qu'elle produit différents fimbriae dont le plus retrouvé est *ATF fimbriae* (ambient temperature fimbriae), il est appelé ainsi car est exprimé à 23 °C. Son implication dans les infection urinaire reste inconnue, une étude à démontré seulement qu'il est à l'origine d'infection du bas appareil urinaire (Zunino et al., 2000 ; Raffi et al., 2009). *Proteus mirabilis*, possède aussi un système d'adhésines mannose résistantes qui est surtout observée pour les souches isolées de pyélonéphrites (Riegel, 2003).

3.1.3. Autres *Enterobacteriaceae* impliquées dans les infections urinaires

Les infections urinaires peuvent-être aussi causées par, telles que : *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp* et *Serratia sp* et ça par expression de différents fimbriae, dont les plus communs sont : type 1 *fimbriae*, type 3 *fimbriae* et aérobactine. Pour *K. pneumoniae*, la présence d'une capsule, d'aérobactine (chez certaines souches), de type 1 *fimbriae*, type 3 *fimbriae* et de mucus peuvent être parmi les facteurs de pathogénéicité, par contre chez les souches non capsulées ces facteurs sont plutôt la présence de type 1 *fimbriae*, type 3 *fimbriae*, type 1.3 *fimbriae* ou un autre type de fimbriae *P-like-fimbriae* qui confèrent cette pathogénéicité à ces souches (Przondo-Mordarska et al., 1996). Pour le genre *Enterobacter*, certaines espèces possèdent les propriétés d'adhésion de type 1 (10 % d'*Enterobacter aerogenes*) et d'autres possèdent le type 3 *fimbriae* (14 % d'*E. cloacae*). L'aérobactine est présente seulement chez 7 % des espèces d'*E. aerogenes*. En revanche, les autres espèces d'entérobactéries n'en produisant pas. Chez *Serratia sp.*, les gènes codant pour les adhésines et l'aérobactine n'ont pas été trouvés (Riegel, 2003).

I. Le mode d'action de certains antibiotiques

I.1. β -lactamines

Elles agissent en se liant de façon covalente aux protéines enzymatiques PLP qui catalysent l'étape finale du peptidoglycane ce qui a pour conséquence l'inhibition de la synthèse de ce dernier et donc l'arrêt de la croissance bactérienne (**Cavallo et al., 2004**).

I.2. Aminoglycosides

Leur mécanisme d'action consiste à la perturbation et au blocage de la synthèse protéique, par la liaison au ribosome, principalement sur l'ARNt ce qui va induire la synthèse de protéines non fonctionnelles et causant ainsi la mort cellulaire (**Wright, 2002**).

I.3. Fluoroquinolones

Leur mode d'action repose sur la capacité des molécules de fluoroquinolone à traverser la membrane bactérienne (externe pour les Gram négatif et cytoplasmique pour les Gram positif), qui est facilité par une diffusion passive à travers les porines. Le blocage de la synthèse d'ADN est assuré par inhibition des enzymes cellulaires, ADN gyrase et Topoisomérase IV, entraînant ainsi la mort cellulaire (**Merens et Servonnet, 2010**).

II. Les mécanismes de résistance

L'utilisation prolongée d'antibiotiques avec ou sans avis médical peut être parmi les causes d'apparition de bactéries résistantes voire même multirésistantes (BMR), par exemple, l'utilisation des fluoroquinolones a été identifiée comme facteur de risque d'émergence de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), de *P. aeruginosa* et d'*Acinetobacter baumannii* résistants (**Nseir et al., 2005**). Les bactéries utilisent une panoplie de mécanismes de résistance vis-à-vis aux antibiotiques, cette résistance peut être naturelle (chromosomique) (Annexe IV), due à une mutation, ou bien acquise, par l'intermédiaire de plasmides, de transposons, d'intégrons ou de cassettes (**Larivière, 2002 ; Bennet, 2008**). Dans ce chapitre quelques mécanismes de résistance aux antibiotiques sont illustrés dans la figure 2.

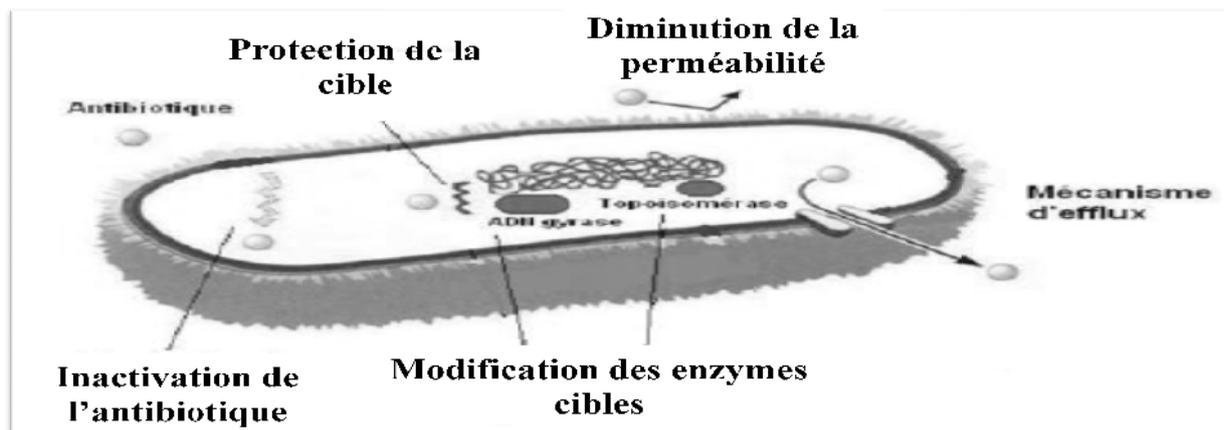


Figure 2 : Schéma des différents mécanismes de résistance aux quinolones (Merens et Servonnet, 2010).

II.1. Diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique

Deux modes de résistance sont observés à ce sujet, il s'agit bien de l'imperméabilité, dite aussi exclusion, et de l'efflux, ce sont des mécanismes intrinsèques.

II.1.1. Imperméabilité membranaire

La spécificité des porines vis-à-vis aux substances peut toucher parfois les antibiotiques, comme le cas de l'imipénèm qui pénètre spécialement dans *Pseudomonas aeruginosa* à travers le système OprD (Outer membrane porin), la formation de ce dernier est principalement régulée par la présence de source d'hydrogène et de carbone. Une mutation survenant au niveau d'OprD peut être à l'origine d'une résistance à l'imipénèm. En outre, il a été démontré qu'une altération au niveau des porines peut engendrer une résistance à certains antibiotiques, le cas d'isolats cliniques de *K. pneumoniae*, ayant perdu le système de porine OmpK 35 (l'homologue du système OmpF de *E. coli*), le même cas observé chez *Enterobacter sp.*, le nouveau phénotype apparu est plutôt expliqué par la présence de BLSE (Taber, 2002).

II.1.2. Efflux

L'efflux est un mécanisme de résistance aux antibiotiques décrit en premier temps pour les tetracyclines (McMurry et al., 1980 cité par Aleksun et Levy, 2007). Les protéines impliquées dans la résistance aux antibiotiques sont regroupées dans 5 familles distinctes, qui sont : résistance-nodulation-cell division (RND), major facilitator superfamily (MFS), staphylococcal/ small multidrug resistance (SMR), ATP-binding cassette (ABC), et multidrug

and toxic compound extrusion (MATE). Chez les bactéries à Gram positif, on peut citer par exemple, les pompes de la famille MFS (*major facilitator superfamily*), NorA chez *Staphylococcus aureus*. Chez *E. coli*, le système AcrAB-TolC participe également à la résistance de bas niveau aux quinolones. Une mutation dans le répresseur d'AcrAB, (*acrR*) ou dans le répresseur de MarA, (*marR*), entraîne une hyperproduction de la pompe d'efflux. En outre, une pompe d'efflux MFS à 14 segments transmembranaires, QepA, spécifique des quinolones, codée par un gène de support plasmidique, a été décrite chez les entérobactéries (Alekhshun et Levy, 2007).

Les systèmes d'efflux actifs MexAB–OprM et MexXY–OprM jouent un rôle important dans la résistance intrinsèque et acquise de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques. Produites de manière constitutive chez les souches sauvages, ces pompes non spécifiques empêchent l'accumulation intracellulaire de nombreux antibiotiques : β -lactamines (excepté l'imipénème), les fluoroquinolones, le chloramphénicol, les tétracyclines et les aminosides. Des mutations dans les gènes régulateurs contrôlant l'expression de l'opéron *mexABoprM* sont responsables de la diminution de la sensibilité de *P. aeruginosa* aux substrats du système d'efflux MexAB–OprM. De la même manière, la surproduction de MexXY–OprM est la conséquence de mutations dans le gène *mexZ* ou dans un gène régulateur non encore identifié (Hocquet et al., 2005).

II.2.Modification de la cible

Appelé aussi altération de la cible, il est considéré comme le mécanisme de résistance le plus répondu chez les espèces pathogènes. Ce mécanisme consiste plutôt au changement de la conformation du site cible, c'est le cas de la protéine liant la pénicilline (PLP), cette altération joue un rôle dans l'affinité aux antibiotiques. Les organismes auxquels peut être attribués ce mécanisme, sont : *E. coli*, *Staphylococcus sp*, *Enterococcus sp*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacteroides fragilis*, *N. meningitidis* et *N. gonorrhoeae* (Lelercq , 2002).

Chez les bactéries à Gram négatif, le site de mutations est situé sur le gène codant pour l'ADN gyrase car elle est la cible principale dans la résistance aux antibiotiques. Chez *E. coli*, par exemple, la région située à proximité du site catalytique, entre les acides amines 67 et 106, correspond à QRDR (*quinolone-resistance determining region*), ou est retrouvée la majorité des mutations responsables de résistance aux fluoroquinolones (Llarrul et al., 2010 ; Merens et Servonnet, 2010).

Chez les bactéries à Gram positif, principalement *Staphylococcus aureus*, une mutation au niveau du gène *gyrA* sur les codons 84 (sérine → leucine) et/ou sur le codon 85 (sérine → proline) confère ainsi une résistance aux quinolones pour cette espèce. La proline ou la leucine, acides aminés hydrophobes, entraînent une désorganisation de l'interaction ADN-gyrase-quinolones (**Bryskier, 1999 ; Hooper, 2002**).

II.3. Protection de la cible

La molécule de quinolone arrive intacte au niveau de l'ADN gyrase et de la topoisomérase, mais une protéine à motifs pentapeptidiques répétés, nommée Qnr, vient interférer dans le complexe ADN gyrase/ADN/quinolones et inhibe l'action des quinolones sur sa cible. En présence de la protéine Qnr, les fonctions de surenroulement, relâchement, désenchevêtrement de l'ADN gyrase sont rétablies. D'après **Lambert (2005)** et **Merens et Servonnet (2010)**, 5 déterminants différents ont été rapportés, QnrA, QnrB, QnrS, QnrC, QnrD. Un autre mécanisme de résistance basée sur la protection de la cible, il consiste en celui utilisé dans la résistance aux glycopeptides, retrouvé chez les espèces résistants à la vancomycine. La membrane cellulaire de ces bactéries est caractérisée par des changements flagrants, dû à une augmentation considérable de la proportion du peptidoglycane responsable de la liaison à l'antibiotique, cette nouvelle fraction contient plutôt des résidus de glutamines non-amidés, engendrant ainsi la réduction de la liaison des antibiotiques à la paroi bactérienne. De ce fait, le nombre de molécules de vancomycine atteignant la membrane cytoplasmique sera très faible (**Lambert, 2005 ; Merens et Servonnet, 2010**).

II.4. Résistance par voie enzymatique

II.4.1. Les β -lactamases

Les β -lactamases ont la capacité de dégrader les β -lactamines, par hydrolyse du noyau β -lactame des pénicillines, céphalosporines et des autres composés apparentés, ce qui cause l'inefficacité de l'antibiotique et permet une meilleure protection à ces bactéries (**Bush, 1988 ; Ambler, 1991 ; Ruppé et Lastours, 2012**). Il s'agit de l'un des mécanismes de résistance aux β -lactamines. Il y'a 4 groupes majeurs de β -lactamases : penicillinases, céphalosporinases type-AmpC, les BLSE et les carbapénèmases (**Bush, 2010**). Les premières décrites correspondaient à des variants des pénicillases de classe A, TEM-1, TEM-2 et SHV-1, connues depuis les années 1960, et toujours responsables de la résistance aux pénicillines (amino-, carboxy- et uréidopénicillines) chez environ 50 % des *E. coli* (**Nicolas-Chanoine, 2012**). Il y'a 2 types de β -lactamases codées par le chromosome, celles

constitutives et celles inducibles (figure 3). Pour les bactéries à Gram négatif ; elles possèdent des déterminants chromosomiques pour la production de β -lactamases, ce type étant spécifique à l'espèce. L'expression inducible de β -lactamases chez les Gram négatif suggère que ce mode de résistance n'entraîne pas de simples protéines en premier lieu. En effet, des études génétiques réalisées sur *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* et *Escherichia coli*, révèlent au moins 5 gènes trouvés dans 3 loci, impliqués directement dans la résistance aux β -lactamines. Il s'agit des gènes : *ampC*, *ampR*, *ampD*, *ampE* et *ampG* (Kong et al., 2011). A ce sujet, une mutation par délétion au niveau du gène *ampR*, conduit à une expression avec un taux élevé de la β -lactamase de *Citrobacter freundii* mais l'enzyme peut ne pas être induite. D'autres mutations dans le *ampD* peuvent générer l'hyperproduction constitutive d'une β -lactamase de type AmpC, même en absence de l'inducteur β -lactamine (Nakano et al., 2004).

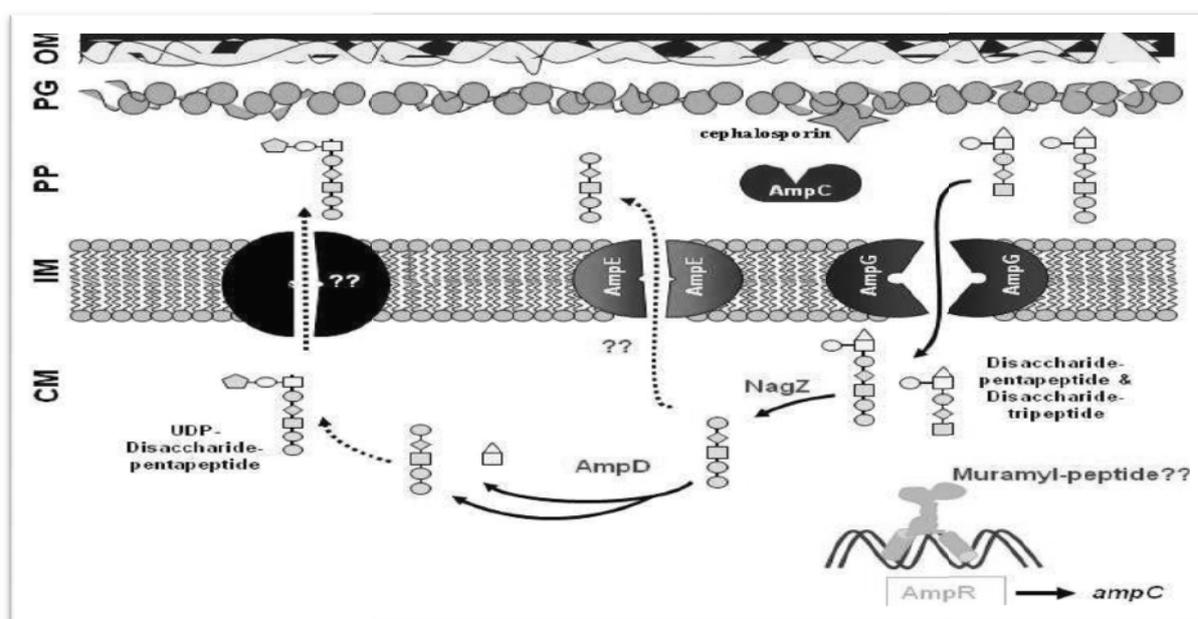


Figure 3 : Mécanisme d'induction de β -lactamines chez les *Enterobacteriaceae* (Kong et al., 2011).

Types de β -lactamases

✓ β -lactamases Class A

Cette classe moléculaire a été décrite, en premier temps, dans des plasmides de bactéries à Gram positif, il s'agit de pénicillinases exhibant un degré élevé de variabilité séquentielle et de propriétés cinétiques (Ambler, 1980). Cependant, chez les bactéries à Gram négatif, des médiateurs de β -lactamases (VHS, PER, TEM and SHV) ont été signalé, ils peuvent être d'origine chromosomique, transposon ou plasmide. Les β -lactamases dérivant

de VSH, PER et TEM ont été trouvés chez *Pseudomonas aeruginosa*. Elles sont codées par un plasmide et ont été identifiées chez *Pseudomonas aeruginosa*, comme étant actives sur les carbapénèmes, c'est pourquoi elles ont été considérées comme des carbapénémases ou des β -lactamases spécifiques à *Pseudomonas aeruginosa* (PSE) (**Kong et al., 2011**).

Un nouveau sous-groupe de BLSE de la classe A, nommée CTX-M, a émergé en 2000 et il est actuellement trouvé dans le monde entier. Ce sous groupe est impliqué dans les infections nosocomiales et communautaires. Elle a été observée dans les espèces bactériennes hautement virulentes, telles que : *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* ou *Neisseria meningitidis* (**Delmas et al., 2008**).

✓ **β -lactamases Class B**

Cette classe contient un petit nombre d'enzymes, il s'agit des metallo- β -lactamases (MBL) qui nécessitent généralement un cofacteur (Zn^{2+}), par contre, leur activité peut-être inhibée par l'EDTA. La première metallo- β -lactamase a été décrite chez *Pseudomonas aeruginosa* (**Ambler, 1980**).

Le gène *blaIMP* qui code pour les metallo- β -lactamases, a été transmis de *Pseudomonas aeruginosa* à d'autres clones de Gram négatif. Les MBL, dont les carbapénémases, sont actuellement trouvées sur des plasmides transmissibles chez de nombreuses espèces. C'est le cas des enzymes ou carbapénémases de *Klebsiella pneumoniae* KPC, qui hydrolysent toutes les β -lactamines, et ne sont inhibées par les inhibiteurs thérapeutiques utilisés. Par contre, les MBL n'hydrolysent pas l'aztréonam, mais elles ont été retrouvées chez des bactéries productrices de BLSE, ayant la capacité d'hydrolyser l'aztréonam (**Bush, 2010**).

✓ **β -lactamases Class C**

Cette classe est active à l'égard de céphalosporines, donc dites céphalosporinases. Elles sont codées par le chromosome et synthétisées par la majorité des bactéries à Gram négatif. La céphalosporinase chromosomique de *Pseudomonas aeruginosa*, codée par *ampC* (*PA4110*), a été clonée et séquencée (**Kong et al., 2011**).

✓ **β -lactamases Class D**

Cette classe était l'une des plus importantes enzymes impliquées dans le mécanisme de résistance aux céphalosporines chez les Enterobacteriaceae, particulièrement chez *E. coli* et *Klebsiellae*. Elles ont eu l'origine de plasmides transmissibles, qui fréquemment co-

transfèrent la résistance vis-à-vis d'autres classes d'antibiotiques. Comme conséquence à la prolifération de ces BLSE à sérine, certains hôpitaux se sont plutôt orientés au traitement d'infections par les carbapénèmes, ce qui a causé à son tour la sélection de carbapénèmases. La plus importante est celle de *Klebsiella pneumoniae* (KPCs), nait d'un plasmide transmissible, ce dernier a diffusé dans toutes les Enterobacteriaceae voire même les bactéries non fermentaires (**Bush, 2010**).

II.4.2. Autres enzymes

Les aminoglycosides combinés avec les β -lactamines à spectre élargi sont largement utilisés pour le traitement d'infections dues aux bactéries. Cependant, une série de méthylases qui protège l'ARNr 16S, a été récemment identifiée chez les bactéries pathogènes à Gram négatif. Ces enzymes sont capables de conférer de manière extraordinaire un taux élevé de résistance à tous les aminoglycosides (4,6-deoxystréptamines) (**Gurung et al., 2010**).

1. Recueil des données

Notre étude est effectuée durant la période allant du premier Mars jusqu'au 15 Avril 2012. Durant cette période nous avons pu collecter des souches d'entérobactéries isolées des ECBU au niveau de deux laboratoires d'analyses médicales privés : *Dr Djama* et du *Dr Laalaoui*. Ces souches ont été transportées au Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA) de l'université de Bejaia, ont été ré-identifiées et ont fait l'objet de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques, ainsi que la détermination de certains facteurs de risque liés à l'infection par les souches résistantes aux antibiotiques. Pour cela, une fiche de renseignement est établie (Annexe I), pour chaque patient.

2. Repiquage des souches d'entérobactéries

Les souches collectées sont sélectionnées sur la base de leurs résistances à au moins une famille majeure d'antibiotique, dont les fluoroquinolones (acide nalidixique, ciprofloxacine, péfloxacin) et les β -lactamines (céfotaxime, céftazidime) puis repiquées sur des milieux sélectifs d'entérobactéries (BCP, l'EMB, le Mac Conkey et la gélose SS) dont la composition est donnée en Annexe II.

3. Confirmation de l'identification

3.1. Observation macroscopique des colonies sur gélose sélective

L'observation de l'aspect, de la couleur et des diamètres des colonies sur géloses sélectives, constitue une étape primordiale dans l'identification des souches et permet une meilleure orientation vers les groupes taxonomiques, voire le genre dans certains cas.

3.2. Galerie biochimique classique

Nous avons réalisé l'identification des souches (Annexe VII) par une galerie permettant l'étude de plusieurs caractères biochimiques à savoir :

✓ Test d'oxydase

Déposer 1 à 2 colonies fraîches sur le disque d'oxydase (Biomérieux, France) préimprégné de solution révélatrice de cette enzyme, ensuite, laisser quelques minutes à température ambiante et faire la lecture.

Interprétation

Si le disque, étant au départ de couleur blanche, se colore en rose claire, cela signifie que la bactérie est dépourvue d'oxydase (test négatif). Par contre, s'il se colore en violet, donc la bactérie possède une oxydase (test positif).

✓ Assimilation du Citrate de Simmons

Prendre 2 à 3 colonies,ensemencer par des stries serrées la gélose du citrate de Simmons et incuber le tube 24 h à 37° C.

Interprétation

Le virage de l'indicateur de pH au bleu est expliqué par une alcalinisation du milieu. De ce fait, la souche assimile le citrate (unique source de carbone), donc test positif → souche Citrate +.

✓ Fermentation du glucose, lactose et production de gaz et du H₂S

Prendre 2 à 3 colonies,ensemencer abondamment le milieu KIA par des stries serrées et faire une piqûre centrale, ensuite incuber le tube 18-24 h à 37° C.

Interprétation

Ce test permet l'étude de plusieurs caractères.

- 1) La fermentation du glucose en premier temps est révélé par un virage du culot au jaune ;
- 2) La fermentation du lactose par un virage de la pente au jaune ;
- 3) Oxydation de la pente, virage de la pente au rouge → souches lactose⁻ (test négatif) ;
- 4) Production de gaz ;
- 5) Production d' H₂S.

✓ Test du Mannitol-Mobilité

Prendre 2 à 3 colonies,ensemencer le milieu par piqûre centrale puis l'incuber 18-24 h.

Interprétation

Deux caractères peuvent-être mis en évidence :

- 1) L'acidification du milieu (virage de couleur au jaune) indique l'assimilation du mannitol → souche mannitol + ;
- 2) La mobilité apparait plutôt sous forme de diffusion dans la gélose → souche mobile.

✓ Test des voies de fermentation VP/RM

Afin de réaliser ce test, il faut :

Prendre 2 à 3 colonies,ensemencer le milieu Clark-Lubs, ensuite incuber 24- 48 h à 37°C.

Interprétation

Ce test est divisé en deux étapes donc le contenu du tube doit être divisé en deux volumes :

a) RM

Ajouter 2 à 3 gouttes du rouge de méthyle et faire la lecture immédiatement.

Ce test consiste à mettre en évidence la voie de fermentations acides mixtes et il est considéré comme test positif lors de l'apparition d'une couleur rouge.

b) VP

La lecture est faite après 48 h d'incubation.

Ajouter quelques gouttes des réactifs VP₁+VP₂, puis chauffer au bec. Il consiste à mettre en évidence la voie de fermentation butanediolique en cas de virage du milieu au rouge (test positif).

✓ Recherche d'une nitrate réductase NR

Tout d'abord, prendre 2 à 3 colonies, ensuite ensemencer le bouillon nitraté et enfin, incuber le tube 24 h à 37°C.

Interprétation

L'interprétation n'est faite qu'après ajout de quelques gouttes des réactifs NR₁+NR₂, la lecture est immédiate.

Le virage du milieu au rouge est expliqué par la réduction des nitrates en nitrites, donc présence d'une nitrate réductase et la bactérie dans ce cas est NR +.

✓ Recherche d'une uréase / tryptophanase

Ensemencer le milieu par 2 à 3 colonies et incuber 18-24 h à 37°C.

Interprétation*** Uréase :**

L'alcalinisation du milieu est due à la présence d'une uréase, c'est pourquoi il y'aura virage du milieu au rose.

*** Indole :**

Ajouter quelques gouttes du réactif de Kovacs et lire immédiatement, ce test permet de mettre en évidence la présence d'une tryptophanase, et le test n'est considéré comme positif qu'après apparition d'un anneau rouge en surface.

4. Etude de la résistance des souches d'entérobactéries aux antibiotiques

Dans notre étude, nous avons réalisé des antibiogrammes complémentaires à ceux effectués dans les laboratoires privés pour déterminer la résistance/sensibilité des souches collectées aux antibiotiques non testés (Annexe V).

4.1. Antibiogramme standard

L'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques est effectuée par la technique de l'antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller-Hinton (coulée dans des boîtes de Pétri et d'une épaisseur de 4 mm, voir Annexe II pour la composition du milieu), selon les recommandations du Comité Français de l'Antibiogramme-Société Française de Microbiologie (CFA-SFM 2010).

*** Inoculum**

A partir d'une culture fraîche de 18-24 h sur milieu solide, une suspension bactérienne de 3ml est préparée dans une solution d'eau physiologique stérile en dissociant 3 à 5 colonies identiques est bien séparées ($\approx 10^8$ UFC/ml) (**Communiqué du CA-SFM, 2010**).

*** Ensemencement**

Ensemencer par écouvillonnage avec la suspension diluée au **1/10** ($\approx 10^7$ UFC/mL) (**Communiqué du CA-SFM, 2010**). Ensuite, les disques d'antibiotiques sont déposés bien à plat à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile. L'incubation est faite pendant 18-24 h à 37°C (**Ploy, 2007 ; Communiqué du CA-SFM, 2010**).

*** Lecture**

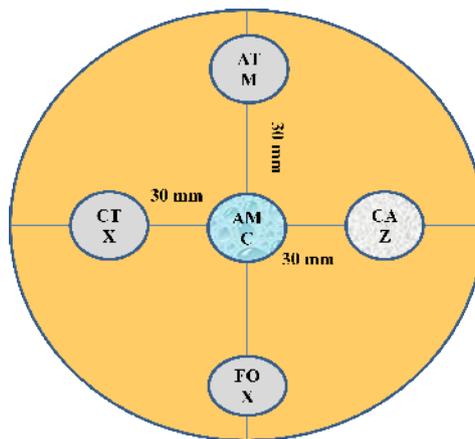
Après 18 à 24 h d'incubation à 37°C, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse. L'interprétation en sensible / intermédiaire/ ou résistant est faite selon les recommandations du CASFM, 2010 (Tableau IV en Annexe V).

Pour l'antibiogramme complémentaire, nous avons testé Kanamicine (Bioanalyse, Turquie), Amikacine (Bio-Rad, France), céfotaxime, ceftazidime (Himedia, Inde), Oloxacine

(Bioanalyse, Turquie), céfuroxime (Liofelchem, Italie), Colestine (Bio-Rad, France), Amoxicilline/clavulanate (Bioanalyse, Turquie ; Bio-Rad, France), gentamicine (Bioanalyse, Türkiye), et la fosfomycine (Bio-Rad, France).

4.2. Recherche de BLSE par le test de synergie (DD-test)

La production d'une β -lactamase à spectre élargi a été détectée par l'épreuve de la synergie qui consiste à placer des disques de ceftazidime, céfotaxime, céfoxitine et l'aztréonam (30 μ g chacun) à une distance de 30 mm (centre à centre) d'un disque d'augmentin (amoxicilline/clavulanate) (20/10 μ g). L'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'augmentin et les disques de ceftazidime, céfotaxime indique la production d'une BLSE (figure 4).



ATM : Aztréonam, FOX : céfoxitine, CAZ : céftazidime, CTX : céfotaxime,
AMC : amoxicilline+acide clavulanique

Figure 4 : Schéma représentant le DD-test.

4.3. Recherche de BLSE par DD-test sur gélose additionnée de la cloxacilline

Si la présence d'une céphalosporinase hyperproduite est suspectée, le test de synergie est aussi réalisé sur une gélose Mueller-Hinton additionnée de 250 mg/l ou 500 mg/ml de cloxacilline (Leotard et Negrin, 2010). Ce test est positif lorsqu'on observe une augmentation d'au moins 5 mm du diamètre autour du disque de C3G plus acide clavulanique par rapport à celui du disque de C3G, après addition de la cloxacilline (David et al., 2008).

4.4. Détermination des CMI sur milieu solide

Dans notre étude, la détermination des CMI du céfotaxime et de la ciprofloxacine ont été effectuée ; pour les souches présentant une résistance à 2 antibiotiques ou plus, dont ceux cités ci-dessus.

➤ Préparation des boîtes

A partir d'une solution mère de chaque antibiotique (à concentration déterminée), cités ci-dessous, on réalise une gamme de concentrations d'antibiotiques pour un volume final de 100 mL de milieu de Mueller-Hinton en surfusion, pour chaque antibiotique.

Après ajout des volumes calculés de chaque antibiotique, une homogénéisation préalable est nécessaire, suivie de l'écoulement de la gélose dans des boîtes de Pétri et de séchage à l'étuve à 37 ° C.

Réalisation de la gamme d'antibiotique pour un volume final de MH de 100 mL
SM (solution mère) → CIP = 2 mg/mL,
→ CTX = 100 mg/mL.

Tableau I : Gamme d'antibiotiques préparée pour déterminer les CMI.

		Concentration finale en ATB (µg/ml)	2	4	8	16	32
CIP	Volume de la solution d'ATB (mL)		0,1	0,2	0,4	0,8	1,6
	Volume de MH (mL)		99,9	99,8	99,6	99,2	98,4
CTX	Volume de la solution d'ATB (mL)		0,002	0,004	0,008	0,016	/
	Volume de MH (mL)		99,998	99,996	99,992	99,984	/

CIP : ciprofloxacine, CTX : céfotaxime, ATB : antibiotique, MH : Mueller-Hinton.

C'est une méthode recommandée par le CA-SFM, appelée aussi méthode de dilution sur milieu solide. Son principe est presque identique à celui de l'antibiogramme mais cette fois-ci, l'antibiotique est incorporé dans la gélose Mueller-Hinton et chaque boîte de Pétri correspond à une concentration donnée d'antibiotique. De plus, il est possible de tester sur la série de boîtes contenant la gamme des concentrations d'antibiotiques plusieurs souches déposées en spot avec un inoculum de 10^4 UFC/spot (Ploy, 2007 ; CA-SFM, 2010).

➤ **Ensemencement et interprétation:**

Une suspension bactérienne de 10^8 UFC/ml est diluée à **1/100**. Un volume de 10 μ L de cette suspension diluée est prélevé et ensemencé par spot sur le milieu gélosé en trois répétitions, ensuite les boîtes sont incubées 18-24h à 37 °C.

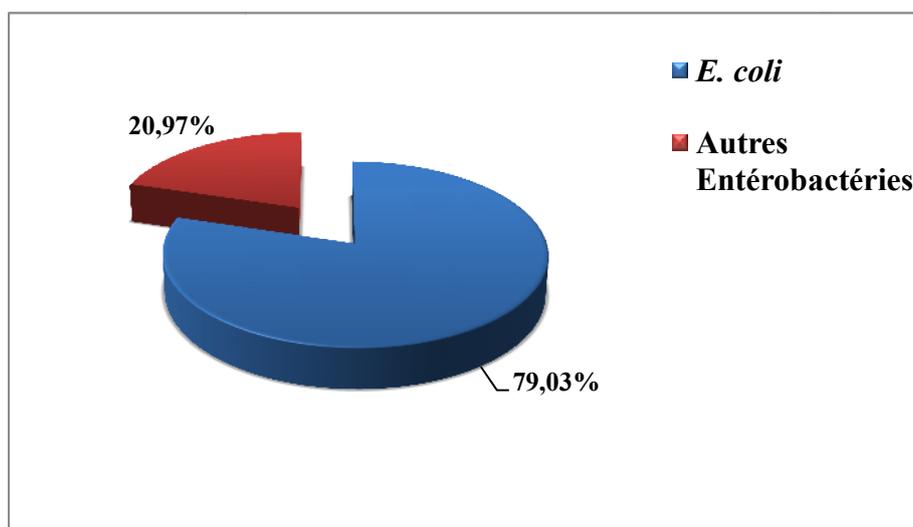
➤ CMI (Concentration Minimale Inhibitrice), correspond alors à la concentration d'antibiotique présente dans la première boîte où la bactérie ne pousse pas, et ça après incubation de 18-24 h à 37 °C (**Ploy, 2007**). La présence d'une à deux colonies ou d'un film n'est pas prise en compte.

I. Collecte des souches

La collecte de souches d'entérobactéries des laboratoires d'analyses médicales privés D^r Djama, et D^r Lalaoui est réalisée durant la période allant du premier Mars jusqu'au 15 Avril 2012. Soit au total **143** souches isolées toutes à partir des urines, dont **90** souches provenant du laboratoire du D^r Lalaoui et **53** souches du laboratoire D^r Djama. Les résultats de l'identification des souches d'entérobactéries sont donnés dans le tableau en Annexe VIII.

I.1. Taux d'entérobactéries impliquées dans les infections urinaires communautaires

D'après les résultats obtenus, représentés dans la figure 5, les souches en cause des infections urinaires appartiennent le plus souvent à l'espèce *E. coli* qui représente un taux de 79,03 % (113/ 143) contre un taux de 20,97 % (30/143) pour les autres *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella sp*, *Enterobacter sp*, *Proteus sp*, *Citrobacter sp* et *Morganella sp*).



Autres Entérobactéries : *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp*, *Proteus sp*, *Morganella sp*, et *Citrobacter sp*.

Figure 5 : Représentation graphique en secteur des pourcentages des souches impliquées dans l'infection urinaire.

Nos résultats concordent avec les résultats obtenus par **Tagajdid et coll. (2010)** au Maroc. Cette étude, effectuée à l'hôpital, sur 819 cas d'infections urinaires a révélé que *E. coli* était impliquée dans 57 % de l'ensemble des cas. Chez les patients consultants (externes), la fréquence d'isolement de *E. coli* était en moyenne de 67 % (étude réalisée entre 2005-2007). Dans le même contexte, **Ben Abdallah et coll. (2008)** ont menée une étude sur 8505 souches d'entérobactéries, soit 91% du total des germes uropathogènes isolés. Les

souches provenaient de malades hospitalisés et de malades consultants dont respectivement 32,3% et 67,7% des cas *E. coli* a occupé la première place (76%) suivie de *Klebsiella sp.* (10,5%) et de *P. mirabilis* (4%).

I.2. Les caractéristiques de la population

→ Selon le sexe

D'après les résultats du tableau ci-dessous, nous constatons que l'infection urinaire communautaire est élevée chez le sexe féminin, soit 86,71% contre 13,29% chez le sexe masculin.

Tableau II : répartition des patients selon le sexe.

Sexe	Féminin	Masculin	Total
Nombre des patients	124	19	143
Taux %	86,71	13,29	100

Et le sexe ratio Femme/Homme est de 6,52 (124/19). De ce fait, les personnes de sexe féminin sont beaucoup plus susceptibles d'être atteintes d'infection urinaire 6,52 fois plus que les personnes de sexe opposé. En effet, l'infection urinaire est plus fréquente chez la femme et la jeune fille car l'urètre féminin est généralement court, s'ouvre à la vulve au voisinage du vagin et de l'anus (Barza, 1999 ; Denis et al., 2007).

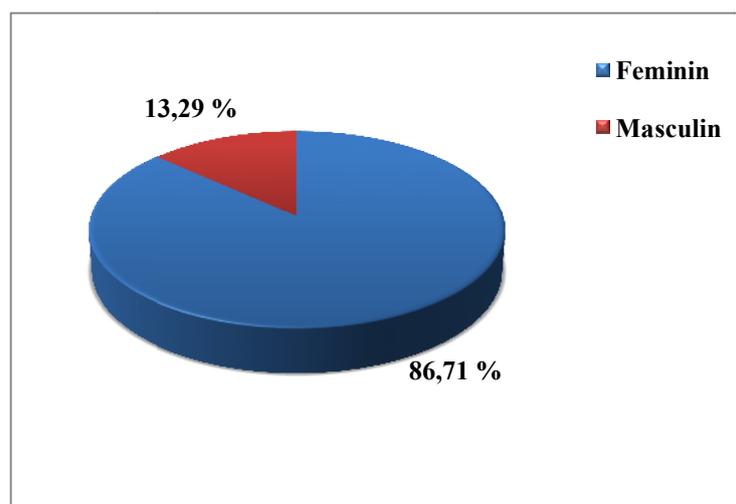


Figure 6 : Répartition des infections urinaire communautaires selon le sexe.

→ Selon l'âge

La répartition des souches d'entérobactéries, isolées des infections urinaire au cours de notre étude, selon l'âge des patients est donnée dans le tableau ci-dessous.

Tableau III : Répartition des patients selon l'âge.

Classe d'âge des patients	Nombre	%
[0 à 15 ans[13	9,09
[15 à 65 ans[124	86,71
[65 à >65 ans[6	4,2
Total	143	100

Au cours de cette étude, il est noté que la classe d'âge la plus touchée par les infections urinaires est celle de **15 à 65 ans** avec un pourcentage de 86,71%. Cependant, les classes d'âge **0 à 15 ans** et **65 à > 65 ans** sont moins touchées et représentent respectivement des taux de 9,09% et 4,2%.

→ Selon l'âge et le sexe

La répartition de la population étudiée selon le sexe et l'âge est donnée par la figure 7.

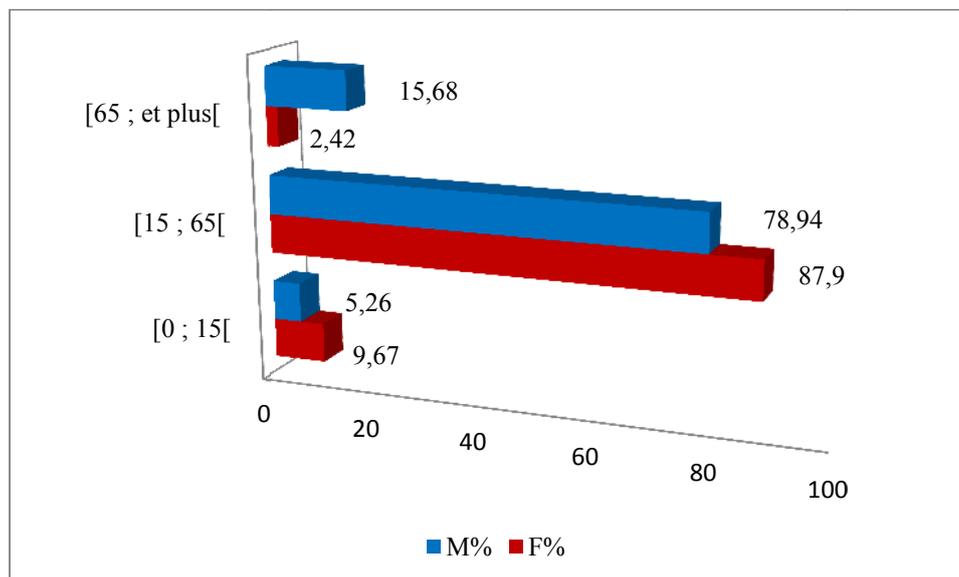


Figure 7 : Répartition de la population étudiée selon le sexe et l'âge.

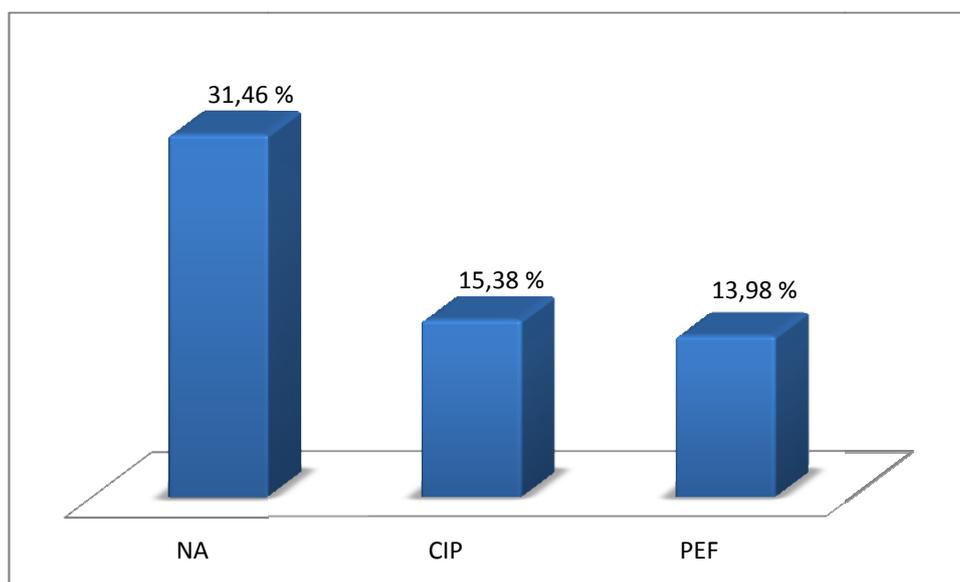
Les résultats obtenus montrent que la catégorie d'âge la plus touchée par les infections urinaires des deux sexes est celle des personnes âgées entre **15 et 65 ans** avec un taux de 78,94% pour le sexe masculin et de 87,9% pour le sexe féminin. De ce fait, l'âge peut-être donc un facteur de risque d'acquisition d'infection urinaire.

Un facteur protecteur de la circoncision vis-à-vis du risque d'infection urinaire haute chez l'enfant pendant les premières années de vie, a été mis en évidence (Bréaud et Guys, 2005).

II. Profil de résistance des *Enterobacteriaceae* aux antibiotiques

II.1. Résistance aux fluoroquinolones

Au cours de notre étude, la résistance à l'acide nalidixique, 1^{ère} molécule de quinolones découverte, est la plus observable avec un taux de 31,46 %. Une résistance à la ciprofloxacine et la péfloxacin (quinolones de 2^e génération) est également observée chez ces souches avec des taux de 15,38 % et 13,98 % respectivement (figure 8).



NA : acide nalidixique, CIP : ciprofloxacine, PEF : péfloxacin.

Figure 8 : Taux de résistance au quinolones/fluoroquinolones chez les souches d'entérobactéries.

Les entérobactéries sont naturellement sensibles aux fluoroquinolones. Jusqu'à 1999, la résistance des souches communautaires de *E. coli* aux fluoroquinolones était faible et stable (< 20 %). L'utilisation abusive de ces molécules en médecine humaine et vétérinaire a fait augmenter la résistance des entérobactéries aux fluoroquinolones, notamment chez *E. coli*, au cours de la dernière décennie (Tagajdid et al., 2010).

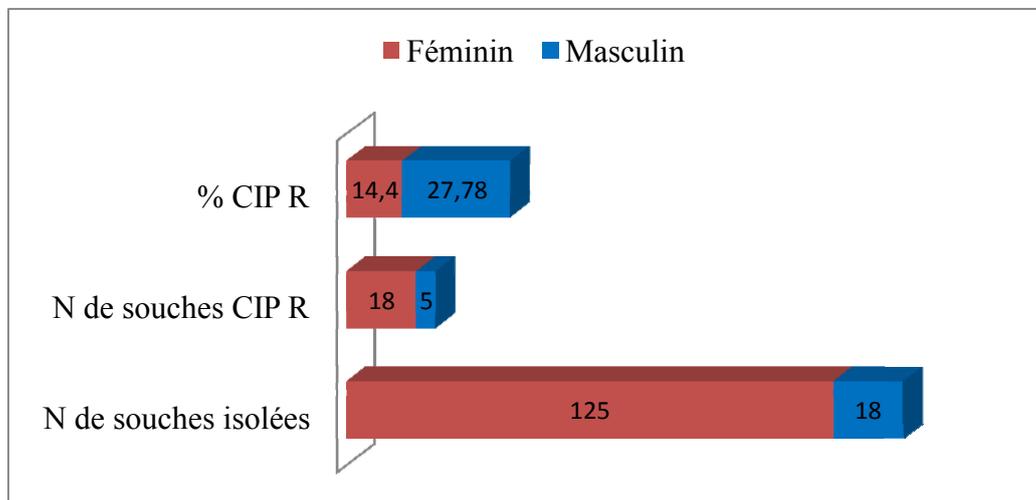
Quoique la recherche des gènes *qnr* est souvent effectuée chez les entérobactéries productrices de BLSE, certaines études ont rapporté la présence de ces gènes chez des souches non-BLSE et chez des souches résistantes à l'acide nalidixique et/ou fluoroquinolones avec ou sans production de BLSE (Meradi et al., 2011).

II.1.1. Caractéristiques de la population

→ Selon le sexe

Au cours de notre étude, nous avons 23 souches d'entérobactéries qui résistent à la ciprofloxacine. La figure illustrée ci-dessous, compare le taux d'infection et le taux de résistance à la ciprofloxacine selon le sexe des patients.

Le taux de souches résistantes à la ciprofloxacine chez les patients du sexe masculin est environ 28% ($n/N= 5/18=27,78\%$) contre un taux de 14,4 % chez le sexe féminin. De ce fait, le sexe masculin est- probablement un facteur de risque dans l'acquisition de souches résistantes à la ciprofloxacine, car malgré que le taux d'infection est beaucoup plus élevé chez le sexe féminin mais la résistance à la ciprofloxacine est plus élevé chez le sexe masculin.



CIP R : résistance à la ciprofloxacine.

Figure 9 : Proportion des souches d'entérobactéries isolées et résistantes à la ciprofloxacine selon le sexe.

→ Selon l'âge

Au cours de notre étude, nous avons observé une fréquence élevée de la résistance à la ciprofloxacine chez les patients faisant partie de la catégorie de patients âgés de **65 ans ou et plus**, qui représente 33,33 %, suivie par les patients appartenant à la catégorie d'âge de **[15 ; 65 [** avec un taux de 16,12 %, et enfin, les patients appartenant à la catégorie d'âge **[0 ; 15 [** sont les moins touchés et représentent un taux de 7,69 %. Ces résultats sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV : Répartition de la population par catégorie d'âge.

Catégories d'âge	N Souches CIP R	N Souches CIP S	Total	% CIP R
[0 ; 15 ans[1	12	13	7,69
[15 ; 65 ans[20	104	124	16,12
[65 ans ; et plus [2	4	6	33,33
Total	23	120	143	16,08

CIP R : résistance à la ciprofloxacine. CIP S : sensible à la ciprofloxacine.

Selon **Raymond et coll. (2011)** les sujets âgés, fragiles, sont particulièrement sensibles aux infections bactériennes, et certain nombre de caractéristiques telles que le déclin fonctionnel, la poly-pathologie, la poly-médication, la dénutrition, peuvent participer à la modification de la présentation clinique de ces infections.

En outre, les infections urinaires communautaires de la femme de 15 à 65 ans représentent plus de la moitié des infections urinaires communautaires diagnostiquées en pratique de ville devant celle des femmes de plus de 65 ans (le quart des cas), celles des hommes et des enfants qui constituent le quart restant. De ce fait, l'âge avancé peut-être un facteur de risque d'acquisition d'infection urinaire causée par des germes résistants (**De Mouy et al., 2001**).

La figure 10 illustre les taux de résistance à la ciprofloxacine et les taux d'infection des entérobactéries par catégorie d'âge, à partir de là, on constate une distribution hétérogène dans la population étudiée car on observe des taux importants de résistance à la ciprofloxacine pour la catégorie d'âge [65 ; et plus [avec 33,33 %, or un taux d'infection important par les entérobactéries est plutôt observé pour la catégorie d'âge [15 ; 65 [.

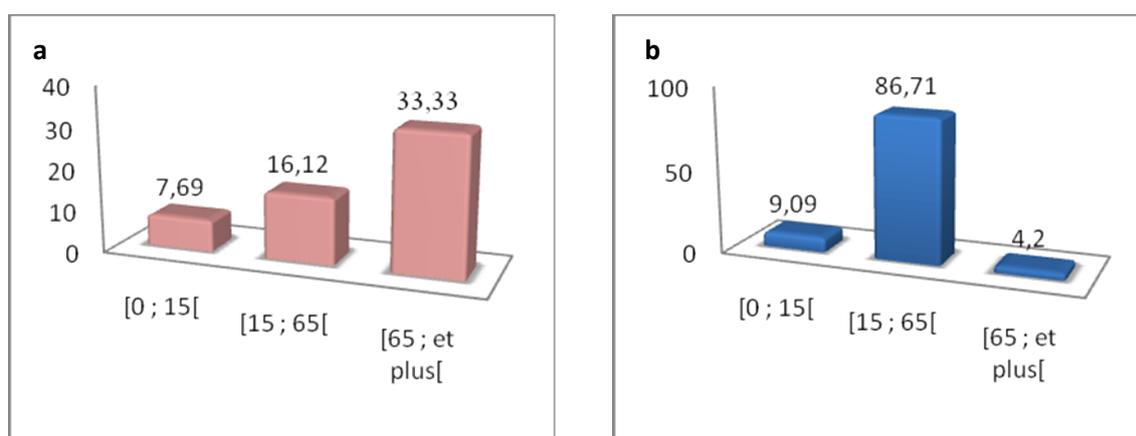


Figure 10 : a) Taux de souches résistantes à la ciprofloxacine par catégorie d'âge ; b) Taux d'infection par les entérobactéries par catégorie d'âge.

→ Selon le sexe et l'âge

Durant notre étude, nous avons constaté que la catégorie d'âge [15 ; 65 [est la plus touchée que ce soit pour le sexe féminin (12,9 %) ou masculin (21,05 %). Ensuite, la catégorie d'âge [0 ; 15[est moins touchés chez les deux sexes, avec un taux de 0% contre 0,8 % pour le sexe masculin et féminin, respectivement. En revanche, la catégorie la moins touchée pour le sexe féminin est celle entre [65 ; et plus [avec un pourcentage de 0,8 % contre 5,26 % pour le sexe masculin et pour la même catégorie d'âge.

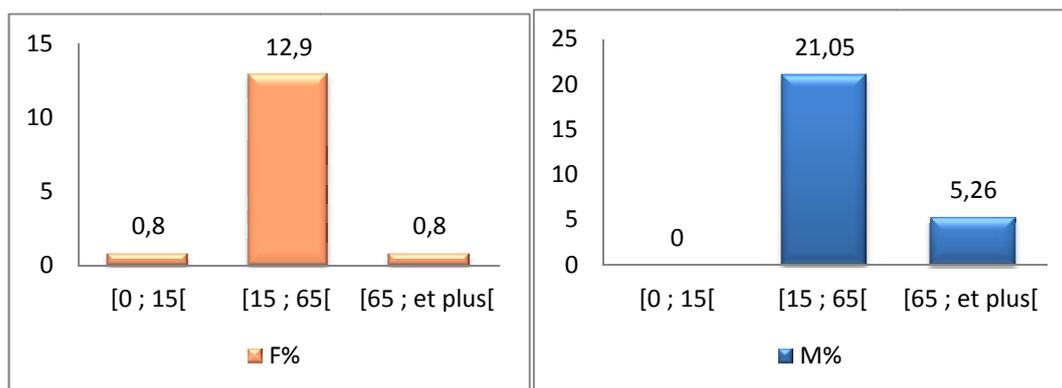


Figure 11 : Répartition des souches d'entérobactéries résistantes à la ciprofloxacine selon l'âge et le sexe.

II.1.2. Répartition des souches résistantes a la ciprofloxacine par espèce

Durant notre étude, nous avons pris en compte les souches d'entérobactéries résistantes à la ciprofloxacine, comme le montre le tableau cité ci-dessous.

Tableau V : Répartition des entérobactéries étudiées par espèces.

Souches	<i>E. coli</i> (n=113)	<i>Klebsiella sp</i> (n=10)	<i>Enterobacter sp</i> (n=11)	Autres (n=9)	Total
N Souches CIP S	96	6	9	7	121
N Souches CIP R	17	4	2	2	24
Total	113	10	11	8	143
% CIP R	14,91	40	9,09	25	16,78

Autres: *Proteus sp*, *Citrobacter sp*, *Morganella sp* ; CIP S : sensible à la ciprofloxacine, CIP R : résistante à la ciprofloxacine.

D'après les résultats obtenus du tableau ci-dessus, les taux de résistance aux quinolones de deuxième génération les plus élevés sont ceux des souches d'*E. coli* (17/113) et *Klebsiella sp* (4/10), suivie par *Enterobacter sp.* avec un taux de 9.09% (2/9). Par contre, les autres entérobactéries (*Proteus sp*, *Citrobacter sp*) représentent 25 % des souches résistantes à la ciprofloxacine. Ces résultats restent à confirmer du fait des faibles fréquences des entérobactéries isolées et étudiées au cours de ce travail.

Lobel et coll. (2008) ont réalisé une étude comparative de la sensibilité aux antibiotiques de 1217 isolats consécutifs de *E. coli*, responsable d'infection urinaire communautaire ou d' d'infection urinaire nosocomiale, et ont trouvé une prévalence élevée de la résistance de *E. coli* à l'amoxicilline avec ou sans inhibiteur de pénicillinase, au cotrimoxazole, aux quinolones de 1^{ère} génération, et l'augmentation progressive de la résistance aux fluoroquinolones.

Selon **Mérens et Servonnet (2010)**, chez les entérobactéries, la résistance aux quinolones résulte principalement d'une accumulation de mutations au niveau des gènes codant les cibles de ces molécules, l'ADN gyrase et la topoisomérase IV. Les autres mécanismes chromosomiques, comme une hyperexpression des pompes d'efflux ou une imperméabilité entraînant une diminution de la concentration intracellulaire d'antibiotique peuvent également être impliqués. De ce fait, la majorité des souches pathogènes exhibant une résistance aux fluoroquinolones, font parties le plus souvent des bactéries multirésistantes (BMR) (**Dielubanza et Schaeffer, 2011**).

La prise de quinolones dans les 6 mois précédents une infection urinaire communautaire a *E. coli* est un facteur de risque d'acquisition de souches résistantes aux quinolones (**Colodner et al., 2008**).

Une étude épidémiologique menée par **Soussy (2007)** a démontré que l'évolution de la résistance à l'acide nalidixique (plus de 20 % aujourd'hui) et de la ciprofloxacine (14 %) peut-être due le plus souvent à des mutations au niveau du gène codant l'ADN gyrase et/ou celui codant la topoisomérase IV éventuellement associées à une diminution de la perméabilité membranaire ou à une augmentation de l'efflux actif.

II.1.3. CMI des souches d'entérobactéries résistantes à la ciprofloxacine

Au cours de notre étude, 23 souches d'entérobactéries sont résistantes à la ciprofloxacine, c'est pourquoi nous avons déterminé les CMI à cet antibiotique. Nous remarquons que certaines souches des entérobactéries étudiées dans cette étude présentent des CMI élevées pour la ciprofloxacine.

Dans la même perspective, **De Mouy et coll. (2001)** ont rapporté dans une étude que l'exposition aux fluoroquinolones est bien identifiée par plusieurs auteurs comme un facteur important de risque d'émergence de souches résistantes à la ciprofloxacine. Cela peut s'expliquer par l'émergence de mutations de premier niveau de l'ADN gyrase (GyrA) qui confèrent une résistance à l'acide nalidixique chez *E. coli*. La multiplication de telles souches est susceptible de faire le lit de mutations additionnelles à la suite d'une exposition à l'antibiotique et ainsi d'une émergence des résistances aux fluoroquinolones.

Selon **Lecaillon et coll. (2004)**, résultats d'une étude réalisée sur la sensibilité des souches d'*E. coli* impliquées dans les infections urinaires non compliquées, la résistance à la ciprofloxacine a une valeur prédictive sur la résistance aux autres fluoroquinolones ainsi qu'à l'acide nalidixique. En effet, 100 % des souches catégorisées résistantes à la ciprofloxacine, présentaient une résistance aux autres fluoroquinolones testées dans cette étude. Ce n'est pas le cas de la norfloxacine et de l'ofloxacine pour lesquels les souches intermédiaires peuvent être sensibles à la ciprofloxacine.

L'utilisation des fluoroquinolones et la durée du traitement par cette classe d'antibiotiques semblent être les facteurs de risque les plus importants d'émergence de résistance aux fluoroquinolones et de résistance croisée. D'autre part, l'utilisation de faibles posologies de fluoroquinolones est un facteur de risque important d'échec thérapeutique et d'émergence ultérieure de résistance car la concentration maximale inhibitrice n'est pas atteinte dans le sang ni dans les tissus infectés quand une dose trop faible est administrée (**De Mouy, 2001 ; Nseir et al., 2005**).

Les résultats des CMI réalisées au cours de notre étude sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VI : Détermination des CMI à la ciprofloxacine pour les souches d'entérobactéries étudiées.

Souches	Code	Concentration (µg/ml)					CMI	S, I ou R
		2	4	8	16	32		
	/						/	/
<i>E. coli</i>	L.12	N	N	N	N	/	< 2 µg/ml	S
<i>E. coli</i>	L.14	N	N	N	N	/	< 2 µg/ml	S
<i>E. coli</i>	L.15	N	N	N	N	/	< 2 µg/ml	S
<i>E. coli</i>	D.09	P	P	P	P	/	> 16 µg/ml	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	L.26	P	P	P	P	/	> 16 µg/ml	R
<i>E. coli</i>	L.44	P	P	P	N	/	16 µg/ml	S
<i>Enterobacter sp</i>	L.49	P	P	P	P	N	32 µg/ml	R
<i>E. coli</i>	D.07	N	N	N	N	N	< 2 µg/ml	S
<i>Serratia sp</i>	L.33	P	P	P	N	N	16 µg/ml	S
<i>Enterobacter sp</i>	L.29	P	P	P	P	P	>32 µg/ml	R
<i>E. coli</i>	L.28	P	P	P	P	N	32 µg/ml	R
<i>E. coli</i>	L.40	P	P	P	P	N	32 µg/ml	R
<i>Citrobacter sp</i>	L.38	P	P	P	P	N	32 µg/ml	R

N : négatif, P : positif, S/I/R : sensible, intermédiaire, résistant.

La diminution de sensibilité aux fluoroquinolones (spécialement la ciprofloxacine) peut être due soit à une mutation chromosomique (gyr A, parC), un mécanisme d'efflux, une imperméabilité, un plasmide (protéine type Qnr), une enzyme (aac(6')-Ib-cr) (Leotard et Negrin, 2010).

II.2. Résistance des entérobactéries aux β -lactamines

II.2.1. Résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération

Au cours de notre étude, nous avons 8 souches d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime CTX), le tableau ci-dessous illustre les souches d'entérobactéries résistantes à 2 céphalosporines ou plus.

Le taux de résistance des entérobactéries, à au moins une céphalosporine de 3^e génération est de 5,59 %, illustrées dans ce tableau, sachant que ces souches sont toutes issues d'urines.

Tableau VII : Profile de résistance aux céphalosporines de 3^e génération.

Code	Souches	CFM	CTX	CAZ
L.28	<i>E. coli</i>	R	R	ND
L.08	<i>K. pneumoniae</i>	R	S	ND
D.02	<i>Enterobacter sp</i>	R	S	ND
L.10	<i>E. coli</i>	R	S	ND
L.26	<i>E. cloacae</i>	R	R	R
L.27	<i>K. pneumoniae</i>	R	R	R
L.12	<i>E. coli</i>	R	S	ND
L.13	<i>Klebsiella sp</i>	R	S	ND
L.44	<i>E. coli</i>	R	S	ND
L.15	<i>E. coli</i>	R	R	ND
L.51	<i>E. coli</i>	R	R	R
L.16	<i>Klebsiella sp</i>	R	S	ND
L.52	<i>M. morganni</i>	R	R	S
D.01	<i>Enterobacter sp</i>	R	S	ND
D.09	<i>E. coli</i>	R	R	R
D.04	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	ND
L.49	<i>E. coli</i>	R	S	ND

R : résistant, S : sensible, ND : non déterminée, CFM : céfoxitine, CTX : céfotaxime, CAZ : céftazidime.

II.2.2. Caractérisation de la population

→ Selon le sexe

Au cours de notre étude, nous avons remarqué que la majorité des souches résistantes au céfotaxime sont isolées des patients du sexe féminin qui est représenté avec un taux de 5,6 % contre un taux de 5,56 % chez les patients de sexe masculin, comme le montre le tableau VIII.

Tableau VIII : Répartition des souches résistante au céfotaxime selon le sexe.

SEXE	CTX R	CTX S	Total	% CTX R
Féminin	7	18	125	5,6
Masculin	1	17	18	5,56
Total	8	135	143	5,59

CTX R : résistant au céfotaxime, CTX S : sensible au céfotaxime.

→ Selon l'âge

Les résultats obtenus pour la répartition des souches résistantes au céfotaxime, sont comme suit : la classe d'âge la plus touchée est celle de **[0 ; 15 ans[** avec un taux de 15,38 % suivie de 4,83 % pour la classe d'âge de **[15 ans ; 65 ans[**. En revanche, le taux de résistance des souches d'entérobactéries isolées chez les patients d'âge plus de 65 ans est nul.

Tableau IX : Répartition des souches résistantes au céfotaxime selon l'âge.

Tranche d'âge (année)	N de souches	CTX R	CTX S	% CTX R
[0 ; 15 ans[13	2	11	15,38
[15 ; 65 ans[124	6	118	4,83
[65 ans ; et plus [6	0	6	0
Total	143	8	135	5,59

CTX R : résistant au céfotaxime, CTX S : sensible au céfotaxime.

Les patients appartenant à la catégorie d'âge **[0 ; 15 ans[** (n=2) à partir desquels ont été isolés les souches d'entérobactéries résistantes au céfotaxime n'excèdent pas les 36

mois, ce qui pousse à réfléchir sur le mode d'acquisition des souches résistantes qui peut-être lors de la naissance.

→ **Selon l'âge et le sexe**

D'après les résultats obtenus de l'histogramme ci-dessous, la catégorie d'âge la plus touchée, par la résistance au céfotaxime, est celle de **[15 ; 65 ans[** pour les deux sexes, avec 4,83 % pour les femmes et 5,26 % pour les hommes, ensuite la classe d'âge **[0 ; 15 ans[** vient en deuxième chez le sexe féminin avec 1,61 % contre 0 % pour le sexe masculin. Enfin, la catégorie d'âge **[65 ans ; et plus [** n'est nullement touchée (0 %) chez les deux sexes.

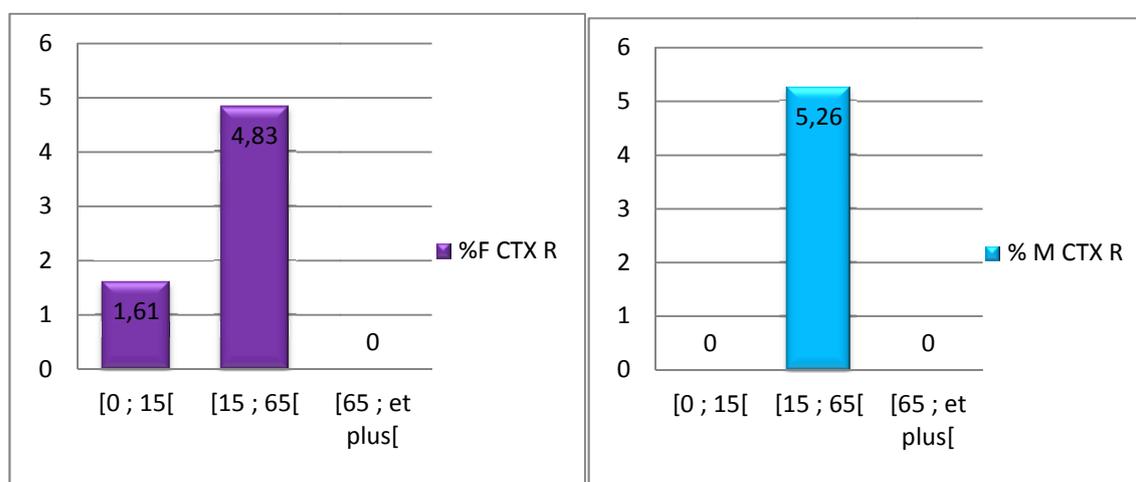


Figure 12 : Répartition des souches d'entérobactéries résistantes au céfotaxime selon l'âge et le sexe.

Cette répartition hétérogène de la résistance des entérobactéries peut-être expliquée par l'antibiothérapie empirique, sans avoir recours aux résultats d'analyses microbiologiques.

Au cours de notre étude, les bactéries souvent résistantes au céfotaxime (**C₃G**), sont *E. coli* avec **4/8** des souches résistantes au céfotaxime, suivies par *Klebsiella sp* avec **2/8** des souches résistantes au céfotaxime, enfin, *Enterobacter sp*, et les autres entérobactéries sont en troisième position avec une proportion de résistance de **1/8** par rapport aux souches résistantes au céfotaxime (tableau X).

Dans une étude rapportée par **Barbe et coll. (2010)**, étude recherchant les facteurs de risque d'infection par *E. coli* productrices de BLSE, en comparant les patients porteurs d'une infection à cette bactérie aux patients porteurs d'une infection à une autre bactérie, l'âge supérieur à 60 ans, le sexe féminin, le diabète, une infection urinaire récente, le caractère nosocomial de l'infection et l'antibiothérapie par aminopénicillines,

céphalosporines et fluoroquinolones étaient des facteurs de risque d'infection par *E. coli* productrices de BLSE.

Tableau X : Répartition des entérobactéries résistantes au céfotaxime par espèces.

Souches	<i>E. coli</i> (n=113)	<i>Klebsiella sp</i> (n=10)	<i>Enterobacter sp</i> (n=11)	Autres (n=9)	Total
N Souches CTX S	109	8	10	8	134
N Souches CTX R	4	2	1	1	9
Total	113	10	11	9	143
% CTX R	4,42	20	18,18	11,11	6,29

Autres: *Proteus sp*, *Citrobacter sp* et *M. morgani*, CTX R : résistantes au céfotaxime, CTX S : sensible au céfotaxime

II.2.3. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines

Elle a été réalisée selon le profil de résistance aux β -lactamines et par la méthode du double disque qui a pour but la recherche d'image de synergie sur gélose Mueller-Hinton normale ou additionnée de la cloxacilline.

* DD-test sur gélose Mueller-Hinton

Il a été effectué pour les souches d'entérobactéries étudiées caractérisées par leurs résistances aux céphalosporines de 3^{ème} génération. Une image de synergie sous forme de « bouchon de champagne » a été observée pour les souches D.09, L.26, L.27 et L.51, soit 4/8 des souches résistantes aux C₃G (figure 13). Les résultats du DD-test sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau XI : Résultats du DD-test et de l'antibiogramme complémentaire (cadre en rouge).

Code	Souche	A M C	C T X	C A Z	A T M	F O X	O A K	O F X	C S	F O S	Image de Synergie	Présence de BLSE
L.26	<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	R	R	I	R	S	S	Oui	Oui
L.27	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	R	S	I	R	S	/	Oui	Oui
L.51	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	I	R	R	S	I	R	S	/	Oui	Oui
D.09	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	I	I	/	/	/	Oui	Oui

R : résistant, I : intermédiaire et S : sensible, BLSE : β -lactamase à spectre étendu.

AMC: amoxicilline+clavulanate, CTX: céfotaxime, CAZ: céftazidime, ATM: aztréonam, FOX: céfoxitine, AK: amikacine, OFX: ofloxacine, CS: colistine, FOS: fosfomycine.



Figure 13 : DD-test pour les souches D.09 et L.26.

* **DD-test sur gélose Mueller-Hinton additionnée de la cloxacilline**

Les souches n'ayant pas présenté une image de synergie sur gélose Mueller-Hinton normale, soit par une production naturelle d'une céphalosporinase ou par résistance vis-à-vis de la céfoxitine, sont testées une autre fois par DD-test sur gélose Mueller-Hinton additionnée de la cloxacilline.

Seule la souche L.26 (*Enterobacter cloacae*) est testée par le DD-test sur gélose additionnée de la cloxacilline.

Les espèces d'*Enterobacter cloacae* possèdent une céphalosporinase chromosomique AmpC. Cette dernière peut être hyperproduite suite à une mutation survenant au niveau du répresseur du gène codant cette céphalosporinase (Gueudet et al., 2010).

Selon Bruyère et coll. (2007), la résistance aux quinolones, aux céphalosporines de 3^e génération et à la fosfomycine est élevée, sans diminution significative, et elle est due à l'existence d'une forte relation entre la consommation d'antibiotique et la résistance à ces derniers. D'autre part, la prévalence des gènes *qnr* chez les entérobactéries est très variable selon les études (0,2 % à 94 %) en fonction de l'origine géographique, mais aussi des critères de sélection des souches (communautaires, nosocomiales, résistantes ou non aux quinolones ou aux céphalosporines de troisième génération) (Mérens et Servonnet, 2010).

La résistance aux quinolones est très souvent présente chez les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (E-BLSE). Des études menées dans différents pays concluent que les souches CTX-M-14, CTX-M-15 sont plus en relation avec une résistance à la ciprofloxacine que les autres BLSE (Leotard et Negrin, 2010).

D'après De Mouy et coll. (2001), une corrélation est retrouvée entre les antécédents de traitement par β -lactamines et la résistance à l'amoxicilline et entre les antécédents de traitement par quinolones et la résistance à l'acide nalidixique.

La prévalence croissante des BLSE en milieu communautaire pose un problème inédit qui est l'afflux de bactéries multirésistantes de la communauté vers l'hôpital, d'autant plus compliqué à anticiper que les facteurs de risque s'appliquant aux BLSE de type TEM et SHV sont peu efficaces dans la prédiction des CTX-M (Ruppé, 2010).

Des mutations se produisant dans le système de régulation de la production de la céphalosporinase peuvent toutefois aboutir à une augmentation de production conférant une résistance permanente (dite « constitutive ») aux céphalosporines de troisième génération. Dans d'autres cas l'hyperproduction n'est que transitoire, induite par certaines molécules comme les inhibiteurs de bêta-lactamases qui ont ici, en pratique, un effet inverse de celui observé sur les bêta-lactamases de classe A (type TEM ou SHV par exemple). Le phénotype de résistance aux céphalosporines de troisième génération est alors dit « inductible » (Skurnik et Andremont, 2006).

II.2.4. Détermination des CMI du céfotaxime

Au cours de notre étude, des concentrations minimales inhibitrices (CMI) au céfotaxime (figure 14) ont été déterminées pour certaines souches d'entérobactéries, les résultats sont donnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau XII : Résultats des CMI du céfotaxime.

Code	Souches	Concentrations du CTX µg/ml				CMI	CTX R/I/S
		2	4	8	16		
L.08	<i>Klebsiella oxytoca</i>	N	N	N	N	< 2 µg/ml	S
L.09	<i>Citrobacter diversus</i>	N	N	N	N	< 2 µg/ml	S
L.12	<i>E. coli</i>	N	N	N	N	< 2 µg/ml	S
L.15	<i>E. coli</i>	P	P	P	P	> 16 µg/ml	R
D.09	<i>E. coli</i>	P	P	P	P	> 16 µg/ml	R
L.26	<i>Enterobacter cloacae</i>	P	P	P	P	> 16 µg/ml	R
L.27	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	P	P	P	P	> 16 µg/ml	R
L.28	<i>E. coli</i>	P	P	P	P	> 16 µg/ml	R
L.51	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	P	P	P	P	>16 µg/ml	R
L.52	<i>Morganella morganii</i>	N	N	N	N	< 2 µg/ml	S

N : négatif, P : positif, CTX : céfotaxime.

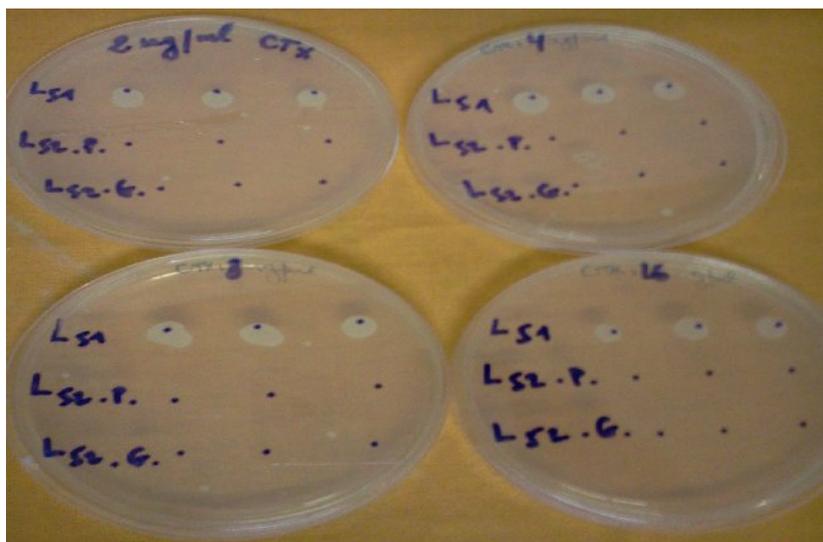


Figure 14 : Détermination de la CMI au céfotaxime.

D'après l'étude réalisée par **Picot et coll. (2010)**, ils ont observé une augmentation des résistances aux antibiotiques pour les germes communautaires avec des taux de résistance équivalents ou supérieurs aux taux métropolitains, cette augmentation rapide et inquiétante des résistances est probablement due aux consommations excessives d'antibiotiques. **Méchai et coll. (2008)** ont réalisé une étude sur des entérobactéries isolées de 46 examens cytotactériologique des urines (ECBU) positif provenant de patients non hospitalisés, et ils ont trouvé que seuls 35 % des entérobactéries à BLSE (EBLSE) isolées des ECBU étaient responsables de pyélonéphrites (62 % des cas isolés de la communauté). Le traitement probabiliste n'est pas associé à un pronostic défavorable.

L'évolution de la résistance des entérobactéries aux C3G est liée à l'émergence et la diffusion de certains mécanismes de résistance dont le plus important est la production de β -lactamases à spectre élargi (BLSE). D'autres mécanismes ont été aussi décrits, comme les céphalosporinases hyperproduites et les céphalosporinases plasmidiques. En Tunisie, la première souche d'entérobactérie productrice de BLSE (*K. pneumoniae*) a été isolée en 1984, à l'hôpital Charles-Nicolle. La première céphalosporinase plasmidique a été identifiée en 1996 chez une souche de *Proteus mirabilis* (**Mkaouar et al, 2008**).

L'émergence de nouveaux mécanismes de résistance plasmidique aux quinolones constitue une vraie menace concernant l'efficacité des fluoroquinolones, et ce à plusieurs niveaux. D'abord, leur présence sur des plasmides conjugatifs favorise leurs mobilités et leur dissémination chez les différents pathogènes. En plus, leur association à d'autres déterminants de résistance, essentiellement les β -lactamines et aminosides, concourt à une co-sélection de la résistance aux fluoroquinolones par ces derniers antibiotiques largement utilisés en thérapeutique humaine (**Meradi et al., 2011**).

Conclusion

Notre travail s'est porté essentiellement sur l'étude des entérobactéries impliquées dans les infections urinaires en médecine de ville. Ainsi la collecte de souches impliquées et les données bactériologiques s'est effectuée au niveau des laboratoires du Dr Lalaoui et du Dr Djama, durant une période de 45 jours.

Au total 143 souches d'entérobactéries collectées avec *E. coli* en tête des espèces impliquées avec un taux de 79,03 % (n=114), suivies d'autres entérobactéries avec un taux de 20,97 % (n=30).

La population la plus touchée est de sexe féminin avec un taux d'infection de 86,71 % contre 13,29 % chez le sexe masculin. Ainsi que la catégorie d'âge la plus touchée des deux sexes était celle entre 15 à 65 ans avec des taux de 87,9 % pour les femmes et 78,94 % pour les hommes.

L'étude de la résistance aux fluoroquinolones et aux C3G a révélée des taux de résistance allant jusqu'à 15,38 % pour la ciprofloxacine, contre 5,59 % pour les C3G.

Les résultats du DD-test ont montré que 4/9 des souches résistantes au céfotaxime sont productrices de BLSE, dont une d'elle est productrice de céphalosporinase, au même temps.

Ces résultats montrent l'émergence et l'augmentation des infections urinaires dans la communauté, de surcroît, l'implication d'espèces résistantes, ce qui nécessite une attention particulière dans la prise en charge des patients et la prévention de la dissémination de ces germes pathogènes.

Cependant, ces résultats restent préliminaires et nécessitent leur élargissement sur une population plus vaste et inclure plusieurs facteurs de risque d'acquisition. En outre, il serait également utile de mener une étude comparative entre les entérobactéries productrices de BLSE d'origine nosocomiales et celles d'origine communautaires.

Références bibliographiques

A

Alekshun M. N. et Levy S. B. (2007). Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell* **128**(6): 1037-1050.

Ambler R. P. (1980). The structure of β -lactamases. *Phil Trans R. Society. Londres.* **B 289** : 321-331.

Ambler R. P., Coulson A. F. W., Frère J-M., Ghuysen J-M., Joris B., Forsman M., Levesque R. C., Tiraby G., Waley S. G. (1991). A standard numbering scheme for the Class A β -lactamases. *Biochemical J.* **276** : 269-272.

B

Barbe C., Fusellier A., Bureau C., Brasme F., Vernet L., Garnier V., De Champs C., Bajolet O. (2010). Étude des facteurs prédictifs d'acquisition d'une souche épidémique d'*Escherichia coli* productrice de bêta-lactamase à spectre étendu. *Pathologie Biologie* **58**(1): 25-28.

Barza M. (1999). In : Schaechter M., Medoff G., Eeinstein B. I. (Eds). *Microbiologie et pathologie infectieuse.* Bruxelles. pp741-742.

Ben Abdallah H., Sahnoun O., Ben Romdhane F., Loussaief C., Noomen S., Bouzouaia N., Chakroun M., Mastouri M. (2008). Profil de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes isolées dans la région de Monastir. *Review Tunisian Infectiology.* **02** (02) : 5-8.

Bennett P.M. (2008). Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of pharmacology;* **153**: 347-357.

Bergsten G., Wullt B., Svanborg C. (2005). *Escherichia coli*, fimbriae, bacterial persistence and host response induction in the human urinary tract. *International Journal of Medical Microbiology* **295**(6–7): 487-502.

Bidet P., Bingen E (2007). Bacilles à Gram négatif aéro-anaérobies. In : Denis F., Ploy M., Martin C., Bingen E., Quentin R. (Eds). *Bactériologie Médicale. Techniques usuelles*. Paris. pp293-296.

Bréaud, J. et J. M. Guys (2005). Décalottage ou circoncision : quelle indication dans le phimosis ? *Archives de Pédiatrie* **12**(9): 1424-1432.

Bruyère, F., Lanotte P., Faivre D'arcier B., Bou S., Haillet O. (2007). Les leçons à tirer d'un an de surveillance de *Escherichia coli* dans un service d'Urologie. *Progrès en Urologie* **17**(5): 964-967.

Bryskier A. (1999). Fluoroquinolones (I). Classification, propriétés physicochimiques, activités antibactériennes et pharmacocinétiques. *Maladies infectieuses*. Edition : Elsevier. Paris. p 51.

Bush K. (1988). β -Lactamase Inhibitors from Laboratory to Clinic. *Clinical Microbiology Reviews*. **1**(1): 109-123.

Bush K. (2010). Alarming β -lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Current Opinion in Microbiology* **13**(5): 558-564.

e

Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R. (1987). *Bactériologie Médicale. Techniques usuelles*. Edition : SIMEP. Paris. pp 53-55.

Caron F, Galperine T, Dumarcet N, Azria R, Bingen E, Botto H, Cavallo JD, Chartier-Kastler E, Dacher JN. et Diatta T. (2008). Recommandation de bonne pratique. Diagnostic et antibiothérapie des infections bactériennes communautaires chez l'adulte. *Médecine et Maladie Infectieuses*. **28**, 203-252.

Caron F,. (2010). Prise en charge des infections urinaires communautaires de l'adulte : ce qui a changé. À propos des recommandations 2008 de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. *Maladies infectieuses/Urologie*. **39**, 42-48.

Cavallo J. D., Fabre R., Jehl F., Rapp C., Garrabé E. (2004). "Bêtalactamines." *EMC - Maladies Infectieuses* **1**(3): 129-202.

Chevallier J-M., Vitte E. (1998). Anatomie. Le Tronc. Edition : Médecine Science Publication Lavoisier. Paris. p 367.

Colodner R, Kometiani I, Chazan B, Raz R. (2008). Risk factors for community-acquired urinary tract infection due to quinolone-resistant *E. coli* Infections. **36**(1):41-5.

Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué 2010.

D

David M., Lemeland J.-F., Boyer S. (2008). Émergence de bêta-lactamases à spectre étendu chez *Pseudomonas aeruginosa* : à propos de 24 cas au CHU de Rouen. *Pathologie Biologie*. **56**. pp429–434.

De Moüy D., Cavallo J.-D., Weber P., Fabre R. (2001). Détection et surveillance épidémiologique des résistances bactériennes aux antibiotiques en milieu communautaire. *Revue Française des Laboratoires*. (335): 31-36.

Delmas V., Brémond D., Douard R., Dupont S., Le Minor J-M., Pirro N., Vacher C., Sèbe P., Yiou R. (2008). Anatomie générale. Edition : Elsevier Masson SAS. Paris. pp 215-219.

Denis F., Ploy M., Martin C., Bingen E., Quentin R. (2007). Bactériologie Médicale. Techniques usuelles. Edition : Elsevier Masson SAS. Paris. p 139.

Dielubanza, E. J. et A. J. Schaeffer (2011). Urinary Tract Infections in Women. Medical Clinics of North America **95**(1): 27-41.

℘

Elkharrat D., Arrouy L., Benhamou F., Dray A. et Grenet J. (2007). Monographie en urologie. In : Lobel B et Soussy C-J. Les infections urinaires, (Eds) Springer. Paris. pp 1-20.

ℑ

Gueudet T., Richter S., Szulc M., Jehl, F. (2010). Les nouvelles formes de résistance des bactéries aux antibiotiques : deux cas de *Klebsiella pneumoniae* produisant une céphalosporinase plasmidique. Médecine et Maladies Infectieuses **40**(3): 177-179.

Gurung M., Moon D. C., Tamang M., Dorji K-J., Lee Y-C., Seol S-Y., Cho D-T., Lee J-C. (2010). Emergence of 16S rRNA methylase gene *armA* and cocarriage of *blaIMP-1* in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from South Korea. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease **68**(4): 468-470.

℔

Hermieu J-F. (2007). Mise au point : urgence urologique au cours de la grossesse. In : Emergencies in urology. Springer. pp 61-72.

Hocquet D, Patry I. Dupont P, Bize M, Jeannot K, Chavanet P et Plésiat P. (2005). Résistance de bas niveau aux fluoroquinolones par surexpression de l'efflux chez *Pseudomonas aeruginosa* : conséquences thérapeutiques et détection au laboratoire. *Pathologie et Biologie* 53, 495-499.

Hooper D. C. (2002). Target Modification as a Mechanism of Antimicrobial Resistance. *Mechanisms of Aminoglycoside Antibiotic Resistance. In : Lewis K., Salyers A A., Taber W. H., Wax R. G. (Eds). Bacterial Resistance to antimicrobials. New York. Pp181-210.*

ℑ

Janvier F., Mbongo-Kama E., Mérens A., Cavallo J-D. (2008). Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines. *Revue Francophone des Laboratoires* (406): 51-59.

Joly B., Reynaud A. (2006). Entérobactéries. Edition : Lavoisier. Médicales internationales. Paris. pp. 17-19.

℔

Kong W., Wang J., Xing X., Jin C., Xiao X., Zhao Y., Zhang P., Zang Q., Li Z. (2011). Screening for novel antibacterial agents based on the activities of compounds on metabolism of *Escherichia coli*: A microcalorimetric study. *Journal of Hazardous Materials* **185**(1): 346-352.

ℓ

Lambert P.A. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites. *Advanced Drug Delivery Reviews* **57**(10): 1471-1485.

Larivière S. Résistance des bactéries aux agents antimicrobiens. Compte rendu du colloque. CRAAQ. 2002 Mars 14. Drummondville. pp1-7.

Lecaillon E., Blosser-Middleton R., Sahn D.F., Jones M.E. (2004). Activité de l'acide nalidixique et des fluoroquinolones sur des souches de *Escherichia coli* isolées d'infections urinaires non compliquées (réseau TSN – France, 1999 – 2001). Médecine et maladies infectieuses. 34. 450–454.

Leclercq R. (2002). Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of the Resistance Elements and Their Clinical Implications. Antimicrobial Resistance. Clinical Infectious Diseases. Invited article. 34 (0).

Leotard, S., N. Negrin (2010). Épidémiologie des entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre étendu (E-BLSE) au centre hospitalier de Grasse (2005–2008). Pathologie Biologie 58(1): 35-38.

Llarrull L.I., Testero S. A., Fisher J. F. et Mobashery S. (2010). The future of the beta-lactams. Current Opinion in Microbiology .13. p551–557.

Lobel, B., Valot A., Cattoir V., Lemenand O., Gaillot O. (2008). Comparaison de la sensibilité aux antibiotiques de 1 217 isolats consécutifs d'*Escherichia coli* responsables d'infections urinaires féminines en ville et à l'hôpital. La Presse Médicale 37(5, Part 1): 746-750.



Marieb E. N. (1999). Anatomie et physiologie humaine. Edition : De Boek & Larcier. Paris. pp 975-980.

Matthews S. J., Lancaster J. W. (2011). Urinary Tract Infections in the Elderly Population. The American Journal of Geriatric Pharmacotherapy. 9(5): pp.286–309.

Méchaï F., Lecuyer H., Zahar J. R., Degand N., Nassif X., Lortholary, O. (2008). Entérobactéries sécrétrices de Bêta-Lactamase à spectre élargi (ESBLE) dans les urines : où en sommes-nous ? Médecine et Maladies Infectieuses **38**, Suppl. 2(0): S183.

Mechkour S., Vinat A., Yilmaz M., Faure K., Grandbastien B. (2011). Qualité des prescriptions antibiotiques (fluoroquinolones, aminosides et amoxicilline-acide clavulanique) ; évaluation dans les secteurs de médecine d'un centre hospitalier universitaire. Pathologie Biologie **59**(1): 9-15.

Meradi L., Djahoudi A., Abdi A., Bouchakour, M., Perrier Gros Claude J. D.Moulin B., Peraldi M-N. (2007).Néphrologie. Edition : Ellipses. Paris. pp 290-300.

Mérens A., Servonnet A. (2010). Mécanisme et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones en 2012. Revue Francophone des Laboratoires ; **33** (422) : 33-41.

Mkaouar D., Mahjoubi F., Mezghani S., Znazen A., Ktari S., Hammami A. (2008). Etude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie (1999-2005). Médecine et maladies infectieuses ; **38** : 293-298.

Moulin B. et Péraldi M-N. (2007). Néphrologie. Edition : Ellipses. Paris. pp 289-300.

ℵ

Nakano R., Okamoto R., Nakano Y., Kaneko K., Okitsu N., Hosaka Y., Inoue M. (2004). CFE-1, a Novel Plasmid-Encoded AmpC β -Lactamase with an *ampR* Gene Originating from *Citrobacter freundii*. Antimicrob. Agents Chemother. **48**(4):1151-1158.

Nathanson S. et Deschênes G. (2002). Antibioprophylaxie urinaire. Archives de Pédiatrie. **9**(5): 511-518.

Nicolas-Chanoine M.-H. (2012). Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : où sont les dangers ? Réanimation. Springer. pp1-6.

Nseir S., Ader F., Marquette C. H., Durocher A. (2005). Impact de l'utilisation des fluoroquinolones sur l'émergence des bactéries multirésistantes. Pathologie Biologie **53**(8–9): 470-475.

P

Perrin M., Le Garzic J., Tas A., Avril J. L. (1998). Infections urinaires communautaires et nosocomiales à bacilles à Gram négatif en milieu gériatrique. Médecine et Maladies Infectieuses **28**(6–7): 505-510.

Picot S., Rakotomalala R. S., Farny K., Simac C., Michault A. (2010). Évolution de la résistance aux antibiotiques de 1997 à 2005 à la Réunion. Médecine et Maladies Infectieuses. **40**(11): 617-624.

Ploy M. (2007). Instauration et surveillance d'un traitement antibiotique. In: Denis F., Ploy M., Martin C., Bingen E., Quentin R. (Eds). Bactériologie Médicale. Techniques usuelles. Paris. pp545-547.

Przondo-Mordarska, A., D. Smutnicka K., Beuth J., Pulverer G. (1996). Adhesive Properties of P-like Fimbriae in Klebsiella-Species. Zentralblatt für Bakteriologie **284**(2–3): 372-377.

R

Radi L., Daoudi A., Nassib M., Chadli A., El Ghomari H., Farouqi A. (2008). Infection urinaire et diabète. Épidémiologie 2. Diabetes & Metabolism. **34**, Suppl.3. p. H77.

Raffi H. S., Bates J. M.Jr., Laszik Z., Kumar S. (2009). Tamm-Horsfall Protein Protects Against Urinary Tract Infection by *Proteus Mirabilis*. The Journal of Urology **181**(5): 2332-2338.

Raymond S., Bourdelin M., Becker M., Henon T., Patry I., Leroy J., Limat S. (2011). Antibiothérapie chez le sujet âgés : impact d'une démarche d'évaluation des pratiques professionnelles. Médecine et maladies infectieuses. Article in Press.

Riegel, P. (2003). Aspects bactériologiques des infections urinaires nosocomiales. Médecine et Maladies Infectieuses **33**, Suppl.4 : 255-265.

Ruppé, E. (2010). Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. Antibiotiques **12**(1): 3-16.

Ruppé E. et de Lastours V. (2012). Entérobactéries résistantes aux antibiotiques et microbiote intestinal : la face cachée de l'iceberg. Réanimation. Springer. pp1-8.

§

Soussy C-J. (2006). Quinolones et bactéries à Gram négatif. In : Corvalin P., Leclerc R. et Bingen R. (Eds). Antibigrammes. Edition : ESKA. Paris. pp 263-270.

Soussy C-J. (2007). Résistance bactérienne aux antibiotiques. In : Lobel B et Soussy C-J. Les infections urinaires, (Eds) Springer. Paris. pp 22-40.

Skurnik D., Andremont A. (2006). Antibiothérapie sélectionnante. De la théorie à la pratique. Réanimation. **15** : 198-204

§

Taber W. H. (2002). Antibiotic Permeability. In : Lewis K., Salyers A A., Taber W. H., Wax R. G. (Eds). Bacterial Resistance to antimicrobials. New York. Pp213-218.

Tagajdid M. R., Boumhil L., Iken M., Adnaoui M., Benouda A. (2010). Étude de la résistance des souches d'Escherichia coli isolées dans les urines aux fluoroquinolones et

aux céphalosporines de troisième génération. *Médecine et Maladies Infectieuses*. **40**(2): 70-73.

Thirion D J. G., Williamson D. (2003). Les infections urinaires : une approche clinique. *Pharmacothérapie* **36** (5) : 246-253

Trost O., Trouillaud P. (2010). Introduction à l'anatomie. Edition : Ellipses. Paris. pp 379-341.

w

Wright G. D. (2002). Mechanisms of Aminoglycoside Antibiotic Resistance. *In* : Lewis K., Salyers A A., Taber W. H., Wax R. G. (Eds). *Bacterial Resistance to antimicrobials*. New York. Pp113-143.

y

Yiou R. (2011). Anatomie du petit bassin. Edition : Elsevier Masson SAS. Paris. p 54.

z

Zunino, P., Geymonat L., Allen A., Legnani-Fajardo C., Maskell D-J. (2000). "Virulence of a *Proteus mirabilis* ATF isogenic mutant is not impaired in a mouse model of ascending urinary tract infection." *FEMS Immunology and Medical Microbiology* **29**(2): 137-143.

Liste des ANNEXES

ANNEXE I

Questionnaire

Date du prélèvement :		Age :		Sexe :									
Type de prélèvement :													
Code :			Code Univ. :										
Maladies chroniques ou anomalie : Oui/Non													
Séjourné(e) à l'hôpital : Oui/Non													
Antibiothérapie : Oui/Non			Date du début :										
Avez-vous déjà eu une ITU ? Oui/Non			Date :										
Souche identifiée :													
Confirmation de l'identification :													
Résultat de l'Antibiogramme :													
ATB													
ϕ													
R/I/S													
Résultat de l'antibiogramme complémentaire :													
ATB													
ϕ													
R/I/S													
Résultat du DD-test :													
Phénotype de résistance :													

ANNEXE II

Milieu de culture (composition en g/L)

I. Milieux gélosés

BCP

Peptone	10 g
Extrait de viande	1 g
Chlorure de sodium	5 g
Pourpre de bromocrésol	15 mg
Gélose	15 g

pH 6,8. Autoclaver 15 mn à 120 °C. On rajoute le sucre avant répartition en boîtes de Pétri.

EMB lactose-saccharose

Peptone	10 g
Lactose	5 g
Saccharose	5 g
Phosphate dipotassique	2 g
Eosine	0,4 g
Bleu de méthylène	65 mg
Gélose	15 g

pH 7,1. Autoclaver 15 mn à 120 °C.

Kligler-Hajna

Peptone	20 g
Extrait de viande	3 g
Extrait de levure	3 g

Lactose	10 g
Glucose	1 g
Sulfate ferreux	0,3 g
Chlorure de sodium	5 g
Hyposulfite de sodium	0,3 mg
Rouge de phénol	25 mg
Gélose	15 g

pH 7,4. Répartir en tubes à essais. Autoclaver 20 mn à 115 °C. Solidifier en position semi-inclinée.

Mac Conkey

Peptone tryptique de gélatine	17 g
Peptone de viande et de caséine	3 g
Lactose	10 g
Sels biliaires	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Rouge neutre	40 mg
Gélose	13 g

pH 7,4. Autoclaver 15 mn à 120 °C.

Mannitol-mobilité

Peptone	20 g
Nitrate de potassium	1 g
Mannitol	2 g
Rouge de phénol	40 mg

Gélose	4 g
--------	-----

pH 8,1. Répartir en tubes à essais. Autoclaver 15 mn à 120 °C. Solidifier en culot.

Müller-Hinton

Extrait de viande	2g
-------------------	----

Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
------------------------------	--------

Amidon	1,5 g
--------	-------

Gélose	10 g
--------	------

pH 7,4. Autoclaver 15 mn à 115 °C.

Simmons (citrate de Simmons)

Sulfate de magnésium	0,2 g
----------------------	-------

Phosphate monoammonique	1 g
-------------------------	-----

Phosphate dipotassique	1 g
------------------------	-----

Citrate de sodium	2 g
-------------------	-----

Chlorure de sodium	5 g
--------------------	-----

Bleu de bromothymol	80 g
---------------------	------

Gélose	12 g
--------	------

pH 6,8. Répartir en tubes à essais. Autoclaver 20 mn à 120 °C. Solidifier en position inclinée ou semi-inclinée.

SS (gélose *Salmonella-Shigella*)

Peptone	10 g
---------	------

Extrait de viande	5 g
-------------------	-----

Lactose	10 g
---------	------

Sels biliaires	6 g
----------------	-----

Citrate de sodium	8,5 g
Citrate de fer ammoniacal	1 g
Thiosulfate de sodium	8,5 g
Rouge neutre	25 mg
Vert brillant	0,33 mg
Gélose	13 g

pH 7. Stériliser par 1 à 2 mn d'ébullition (ne pas autoclaver).

II. Milieux liquides

Bouillon nutritif

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g

(Facultatif selon la formule)

pH 7,2. Repartir en tubes à essai (7 à 10 mL). Autoclaver 20 mn à 120 °C.

Clarck et Lubs

Peptone	10 g
Phosphate dipotassique	2 g
Glucose	5 g

pH 7. Repartir en tubes à essais (5 ml). Autoclaver 20 mn à 120 °C.

Nitrate de potassium (bouillon nutritif)

Bouillon nutritif	1 L
-------------------	-----

Nitrate de potassium	1 g
----------------------	-----

pH 7. Répartir en tubes à essais. Autoclaver 15 mn à 120 °C.

Schubert-Fennel

Tryptophane	0,2 g
-------------	-------

Acide glutamique	0,2 g
------------------	-------

Sulfate de magnésium	0,7 g
----------------------	-------

Citrate de sodium	0,5 g
-------------------	-------

Sulfate d'ammonium	0,4 g
--------------------	-------

Chlorure de sodium	2 g
--------------------	-----

Peptone	10 g
---------	------

Mannitol	7,5 g
----------	-------

Phosphate disodique	4 g
---------------------	-----

Phosphate monopotassique	0,6 g
--------------------------	-------

pH 7,4. Répartir en tubes à essais contenant une cloche de Durham. Autoclaver 10 mn à 115°C.

Urée-Indole

Tryptophane	3 g
-------------	-----

Phosphate monopotassique	1 g
--------------------------	-----

Phosphate bipotassique	1 g
------------------------	-----

Chlorure de sodium	5 g
--------------------	-----

Urée	20 g
------	------

Alcool à 95 °	10 mL
---------------	-------

Rouge de phénol	25 mg
-----------------	-------

pH 6,7. Stériliser par filtration. Répartir aseptiquement en tubes à essais.

* **Eau physiologique**

Chlorure de sodium 9 g

Eau distillée 1 L

Repartir en tubes à essais. Autoclaver 20 mn à 120 °C.

III. Réactifs

Kovacs (réactif pour révélation d'uréase)

Alcool amylique ou isoamylique 150 mL

p. diméthylaminobenzaldéhyde 10 g

Acide chlorhydrique concentré 50 mL

Conserver à +4 °C.

Réactif de Voges-Proskauer

◆ **VP I**

α -Naphthol 6 g

Alcool éthylique à 60 % 100 mL

◆ **VP II**

NaOH 4N

Conserver dans un flacon opaque au réfrigérateur.

Rouge de méthyle RM

Rouge de méthyle 0,5 g

Alcool éthylique à 60 % 100 mL

ANNEXE III

Tableau I : Infections urinaires ; interprétation des principales situations basées sur le contexte épidémiologique, la présence de signes cliniques, d'une leucocyturie et d'une bactériurie.

Contexte	Signes cliniques	Leucocyturie $\geq 10^4$ / ml	Bactériurie avec des Uro-pathogènes reconnus (au plus 2 μ -organismes différents)	Commentaires
Communautaire Non sondé	+	+	$\geq 10^3$ UFC/mL coliformes et <i>S.saprophyticus</i> $\geq 10^5$ UFC/mL pour les autres espèces, notamment enterocoque	Infection urinaire (cystite aigue) Dans le cas de suspicion de pyélonéphrite aigue, le seuil de bactériurie $\geq 10^4$ UFC/mL est considéré comme significatif
	-	+/-	$\geq 10^3$ UFC/mL $\geq 10^5$ UFC/mL pour la femme enceinte	Colonisation \square
Nosocomial ou associée aux soins Non sondé	+	+	$\geq 10^3$ UFC/mL	Infection urinaire
	-	+/-	$\geq 10^5$ UFC/mL	Colonisation \square
Nosocomial ou associé au soin Sondage urinaire	-	Non contributif	$\geq 10^5$ UFC/mL	Infection urinaire
	+		$\geq 10^5$ UFC/mL	Colonisation \square
Communautaire	+/-	+*	$< 10^3$ UFC/mL	Inflammation sans bactériurie Traitement antibiotique en cours Recherche micro-organismes a culture lente ou difficile ou étiologie non infectieuse

ou nosocomial		-*	< 10³ UFC/mL	Absence d'infection urinaire ou de bactériurie asymptomatique
----------------------	--	-----------	-----------------------------------	---

* La leucocyturie n'est pas contributive en présence d'un sondage urinaire.

□ La colonisation urinaire, anciennement dénommée bactériurie asymptomatique, correspond à une situation de portage, c'est-à-dire à la mise en évidence d'un micro-organisme, lors d'un prélèvement urinaire correctement réalisé, sans que ce micro-organisme ne génère en soi de manifestations cliniques (Rigel, 1993 ; Afssaps, 2008 cité par Cavallo et *al.*, 2008).

ANNEXE IV

Tableau II : Résistance naturelle chez les *Entérobactéries* (CASFM, 2010).

Espèce	AM	AMC	TIC/PIP	CIG	FOX	CTT	MA	CXM	GM	TET	COL	FT
<i>Klebsiella spp.</i>	R		R									
<i>C. koseri</i>	R		R									
<i>C. frundii</i>	R	R		R	R	R						
<i>E. cloacae</i>	R	R		R	R	R						
<i>E. aerogenes</i>	R	R		R	R	R						
<i>S. marcescens</i>	R	R		R			R	R			R	
<i>P. mirabilis</i>										R	R	R
<i>P. vulgaris</i>	R			R			R	R		R	R	R
<i>M. morgani</i>	R	R		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	R				

R : résistance naturelle

AM: aminopénicillines, **AMC**: amoxicilline + a. clavulanique, **TIC**: ticarcilline, **PIP**: pipéracilline, **CIG**: céphalosporines de 1^{ère} génération, **FOX**: céfoxitine, **CTT**: céfotétan, **CXM**: céfuroxime, **MA**: céfamandole, **GM**: gentamicine, **TET**: tétracyclines y compris la tigécycline, **COL**: colistine, polymyxine B, **FT**: nitrofuranes.

ANNEXE V

Tableau III : Antibiotiques à étudier par espèce ou par groupe bactérien.

Liste standard	Liste complémentaire
<i>Entérobactériaceae</i>	<i>Entérobactériaceae</i>
Amoxicilline ou ampicilline	Ticarcilline
Amoxicilline / ac. Clavulanique AMC ou ampicilline / sulbactam	Ticarcilline / ac. clavulanique
Mécillinam	Mezlocilline ou pipéracilline
Céfalotine	Pipéracilline / tazobactam
Ceftriaxone ou céfotaxime CTX	Céfamandole
Céfixime CF	Céfuroxime
Gentamicine GEN	Céfoxitine FOX
Amikacine AK	Céfotétan
Acide nalidixique NA	Latamoxef
Norfloxacine	Ceftazidime CAZ
Ciprofloxacine CIP	Céfépime ou cefpirome
Cotrimoxazole	Aztréonam ATM
Nitrofuranes	Imipénème ou méropénème
Fosfomycine FOS	Ertapénème
	Kanamycine
	Tobramycine
	Nétilmicine
	Isépamicine
	Chloramphénicol C
	Tétracycline
	Minocycline
	Tigécycline
	Péfloxacine ou ofloxacine PEF/OFX
	Sulfamides
	Triméthoprim
	Colistine CS

Tableau IV : Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour *Enterobacteriaceae*.

	Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
			S	R	S	R
β-Lactamines	Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 19	< 16
	Amoxicilline	25 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 16
	Ampicilline / sulbactam	10/10 µg	≤ 4/8	> 8/8	≥ 19	< 16
	Amoxicilline / ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 4/2	> 8/2	≥ 21	< 16
	Ticarcilline	75 µg	≤ 8	16	≥ 24	< 22
	Ticarcilline / ac. Clavulanique	75/10 µg	≤ 8/2	> 16/2	≥ 24	< 22
	Aztréonam	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 23	< 21
	Céfazoline	30 µg	≤ 1	> 2		
	Céfoxitine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
	Céfotaxime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23
Ceftazidime	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 26	< 19	
Céfixime	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 25	< 22	
Aminosides	Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
	Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
	Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16
Phénicol	Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23

Polypeptid	Colistine	50 µg	≤ 2	>2	≥ 15	< 15
Nitrofuranes	Nitrofuranes	300 µg	≤ 64	>64	≥ 15	< 15
Quinolones /Fluoroquinolone	Ac. Nalidixique	30 µg	≤8	>16	≥ 20	< 15
	Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	>1	≥ 25	< 22
	Ofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22
	Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16

ANNEXE VI

Tableau V : Famille des entérobactéries. Principaux caractères biochimiques différentiels des genres et espèces bactériennes rencontrées fréquemment en pathologie humaine et animale (Le Minor et Richard, 1993 cité par Joly et Reynaud, 2006).

	<i>Salmonella</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>E. coli</i>	<i>Shigella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. morgani</i> ¹	<i>P. rettgeri</i> ²	<i>Providencia</i>
Mobilité	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	+ ou (+)	+ ou (+)	-	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	-	+	+	d	+	+	+	-	-	-	-	-
H₂S	+	+	-	-	-	-	-			-	-	-
Uréase	-	-	-	-	+ ^w	-	-	+	+	+	+	-
Indole	-	-	+	d	-	-	-	+	-	+	+	+
Citrate de Simmons	+	+	-	-	+	+	+	d	d	-	+	+
VP	-	-	-	-	+	+	+	-	d	-	-	-
Gaz/glucose	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	d	d
Mannitol	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	+	d
Saccharose	-	d	d	-	+	+	+	+	d	d	-	d

+^W : positif lent (uréase + en 18 à 24 h), (+) : positif en 3 à 7 jours, + : positif en 1 à 2 jours, d : différents types biochimiques, 1 : ***P. morganii*** *syn. Morganella morganii*, 2 : ***P. rettgeri*** *syn. Providencia rettgeri*, ONPG : orthonitrophényl-β-D-galactopyronidase, VP : réaction de Voges-Proskauer.

ANNEXE VII

Tableau VI : Résultats de l'identification par la galerie biochimique classique.

Code	NIT	IND	URE	LAC	GLU	H2S	GAZ	CIT	RM	VP	MAN	MOB	SAC	OXY	Souche Identifiée
L.08	P	P	P	P	N	N	P	P	N	N	P	N	P	N	<i>Klebsiella oxytoca</i>
L.09	P	P	N	P	N	N	P	P	P	N	P	N	P	N	<i>Citrobacter diversus</i>
L.26	P	N	N	P	P	N	P	P	N	P	P	P	P	N	<i>Enterobacter cloacae</i>
L.27	P	N	P	P	P	N	P	P	N	P	P	N	P	N	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
L.51	P	N	P	P	P	N	P	P	N	P	P	N	P	N	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
L.52	P	P	N	N	P	N	P	P	N	N	P	N	N	N	<i>Morganella morganii</i>
D.09	P	P	N	P	P	N	P	N	P	N	P	P	P	N	<i>E. coli</i>
L.29	P	P	N	P	P	N	P	P	N	P	P	N	P	N	<i>Enterobacter sp</i>
L.49	P	P	P	P	P	N	N	N	P	N	P	N	P	N	<i>Enterobacter sp</i>
L.46	P	N	P	P	P	P	N	N	N	N	P	N	P	N	<i>Enterobacter sp</i>
L.20	P	P	N	P	P	N	P	N	P	N	P	P	P	N	<i>E. coli (production de gaz + indole à 44 °C)</i>
L.25	P	P	N	P	P	P	N	N	N	N	P	P	P	N	<i>Serratia fonticola</i>
D.10	P	P	P	P	P	N	P	P	P	N	P	P	P	N	<i>Serratia sp</i>

L.47	P	N	P	P	P	P	N	N	N	N	P	N	P	N	<i>Enterobacter sp</i>
L.42	P	P	P	N	P	N	N	N	P	N	P	P	N	N	<i>Proteus rettgeri</i>
L.38	N	N	N	P	P	N	P	P	P	N	P	P	P	N	<i>Citrobacter freundii</i>
L.39	P	P	N	P	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	<i>Citrobacter diversus</i>
L.40	P	P	N	P	P	N	P	N	P	N	P	P	P	N	<i>E. coli</i>
L.45	P	N	P	P	P	N	P	P	N	P	P	P	P	N	<i>Enterobacter cloacae</i>

P : positif, N : négatif

Résumé :

L'infection urinaire occupe la deuxième place après l'infection respiratoire et elle peut-être causée par certaines espèces d'entérobactéries. Dans le but d'étudier l'infection urinaire en médecine de ville causée par les entérobactéries, l'étude est effectuée au niveau de deux laboratoires d'analyses médicales privés, à savoir celui du Dr Lalaoui et celui du Dr Djama. Au total, 143 souches d'entérobactéries ont été collectées, ré-identifiées, puis testées vis-à-vis du céfotaxime et ciprofloxacine, et les souches résistantes ont fait objet de détermination de leur CMI pour ces 2 antibiotiques. Les résultats obtenus, ont révélé que les souches les plus retrouvées ont été *E. coli* (n=114), *Enterobacter sp* (n=11), *Klebsiella sp* (n=10), et autres entérobactéries (n=9). La population la plus touchée est le sexe féminin avec un taux d'infection de 86,71%. Ainsi que, l'étude de la résistance aux C3G a révélé que 4/9 des souches produisent des BLSE dont 1/9 de ces souches produit au même temps une BLSE et une céphalosporinase surexprimée.

Mots-clés : Infection urinaire communautaire, entérobactéries, antibiotiques, BLSE.

Abstract :

Urinary tract infection is the second before respiratory infection and it can be caused by enterobacteria. In aim of studying community-acquired urinary tract infection caused by enterobacteria, this study was carried out in two private laboratories: Dr Lalaoui lab. and Dr Djama lab. In all, 143 enterobacteria strains were collected, identified, then tested to Cefotaxim and Ciprofloxacin, and the MICs to these two antibiotics were determined for the resistant strains. The results obtained showed implication of different species: *E. coli* (n=114), *Enterobacter sp* (n=11), *Klebsiella sp* (n=10), and other enterobacteria (n=9). The most affected population was females with infection level of 86,71%. In other way, 3/9 enterobacteria strains resistant to C3G possess ESBL and 1/9 strain possesses, in the same time, two enzymes which are hyperexpressing céphalosporinase and ESBL.

Key-words: community-acquired urinary tract infection, enterobacteria, antibiotic, BLSE.