

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم الميكروبيولوجي

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

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences biologiques

**Spécialité :** Biologie Moléculaire des Micro-organismes

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Isolement et identification de *Proteus sp.***

**Étude de l'antibiorésistance**

---

**Présenté par :** Amraoui Raghda Insaf

**Le 26/06/2022**

Bensaad Aouatef

Beldjezzar Aya

**Jury d'évaluation :**

**Encadreur :** Mme Bouzeraib. L (M.A.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 1 :** Mme Guergouri. I (M.A.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 2 :** Mme Mergoud. L (M.A.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire**

**2021 – 2022**

## **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier profondément et sincèrement tous ceux qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre respect aux membres du jury.*

*Nous commençons d'abord par Mme Guergouri. I qui a accepté de consacrer du temps à examiner et juger ce travail comme présidente de jury. Qu'elle soit assurée de notre respectueuse considération.*

*On remercie infiniment Mme Mergoud .L pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de juger ce mémoire et d'être examinatrice.*

*Un remerciement tout particulier à notre encadreur Mme BOUZERAIB Latifa pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience,... tout au long de la réalisation de ce mémoire. Pour tout cela, nous tenons à vous exprimer nos sentiments de profonde gratitude.*

*Merci à tous les enseignants assistant de notre formation universitaire.*

*On remercie tous ce qui nous ont aidé surtout toute l'équipe du laboratoire d'hygiène*

*D.S.P.R.H département de bactériologie : BENDALI Maya, Wassila, Ilham, Amel ; pour leurs aides conseilles, ambiances et les bons moments durant la période du stage*

*Merci*

## ***Dédicace***

*Tout d'abord je tiens à remercier mon dieu, le tout puissant de m'avoir aidé à arriver au bout de mes études et réaliser ce modeste travail que je dédie:*

*Mes très chers parents :*

***Papa Stofa , Maman Boukelleb adra***

*En hommage à tous les sacrifices que vous avez consenti pour moi durant mes longues années d'études. Je vous remercie d'avoir fait de moi ce que je suis maintenant et de m'avoir appris de vivre dans l'honneur et dans la dignité. Aucun mot ne pourrait exprimer réellement votre juste valeur, mon profond amour que je vous porte, mon respect et ma vive gratitude. Que ce travail puisse encore vous honorer et faire votre fierté, je prie dieu qu'il vous garde, vous donne la santé je vous aime .*

*A ma très adorée grand-mère Zohra qui a rêvé de faire de moi ce que je suis aujourd'hui , mille merci mamie , pour tes sacrifices, ton amour, ta tendresse, et tes prières tout au long de mes études. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu a fait pour moi que dieu te bénisse et te garde pour moi .*

*A mon frère Mouhamed et mes sœurs Ines Roufaida Malak ,Rana merci pour le soutien et pour l'amour que vous me réservez que dieu vous protège et illumine vos chemins*

*A mon soutien moral mon fiancé Abd rahim rais et sa famille : j'aimerai bien que tu trouve dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères merci pour ta patience ,ton amour tes encouragements pendant toute la période de ce travail*

*,votre présence à mes côtés dans les moments de joie et de peine , Aucune dédicace ne saurait exprimer ma gratitude et ma fierté de faire partie de votre famille. Que ce travail soit le témoignage d'un amour profond et sincère.*

*A toutes mes tantes spécialement Amel , mes oncles , ma chère cousine Hadil mes amies , mes binomes : Aya, Aouatef et toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin à la réalisation de ce travail .*

*Insaf*

## **Dédicace**

*Aucune dédicace très **chère maman sabah** , ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Vous êtes ma fierté, ma force, ma soeur et mon amie, que dieux te garde pour moi.*

***Mon père Nacer , mon oncle Samir** qui m' ont aidés à devenir ce que je suis aujourd'hui, que*

*dieu les garde et les protège.*

***Ma très chère grande mère Zebaida et ma chère tante Mounira** je trouve chez vous le même amour et la confiance qui me donne ma mère je t'aime très très fort .*

***Mon frère Ayoub** tu es la toujours pour moi merci infiniment.*

***A ma moitié "I"** Ton amour ne m'a procuré que confiance et stabilité. Tu as partagé avec moi les meilleurs moments de ma vie, aux moments les plus difficiles de ma vie, tu étais toujours à mes cotés*

*Tu es toujours là pour moi, tu m'écoutes quand je te raconte mes soucis, tu me remontes le moral quand je suis triste et fatiguer, tu m'encourages quand je baisse les bras, Je te remercie de ne m'avoir jamais déçu. Aucun mot ne pourrait exprimer ma gratitude, mon amour et mon respect.*

***Dounia, rania, bouthiena mes chères amies** d'enfance je ne peux pas imaginer ma vie sans votre présence merci d'êtres à mes côtés merci d'êtres mes soeurs depuis notre enfance, adolescence et jusqu'àuce moment merci pour le soutien moral et les meilleures conseilles au long de mon travail. Je vous aime très fort.*

***Mes très chères cousines Roumaissa et abir** vous êtes mes préférés merci infiniment pour votre encouragement et compréhension au long de mon parcours. Je vous aime.*

***A mon trinôme insaf et Aouatef** je suis très contente, fière d'être parmi eux dans cette réalisation.*

***Ma chérie Inssaf** tu été toujours mon binôme Préféré pendant mes 5 ans d'études.*

**Aya**

## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à :*

***A Mon chér papa BRAHIM :** Mon offre précieux de dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect, je suis très fière d'être votre fille*

*.Que dieu vous protège et vous garde*

***A Ma chère maman SARAH :** A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non, merci d'avoir toujours été à mes côtés, d'avoir cru en ma réussite, merci pour ton amour, ta gentillesse, ton soutien. Que dieu vous protège et vous garde*

***A Mon chér mari YAHIA :** A mon homme de ma vie qui ma soutenu et encouragé durant ces années d'études et ta présence à mes cotés dansles moments de joie et de peine. Que dieu te protège et t'offre la chanceet le bonheur.*

***A ma petite fille meriem foutoune :** C'est toi ma joie, mon bonheur , quia donné un sens différent a ma vie , je t'adore.*

***A mes frères chawki wassim khalil :** Merci d'avoir toujours à mes côtés. Que dieu les protège et garde en sécurité pour moi.*

***A ma belle-famille :** je profite de la présente occasion pour vous remercier pour sa sympathie*

***A mes chères cousines MARWA, DINA, MAYSOUNE.***

***mes binômes Insaf et Aya pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.***

*Sans oublier tous ceux qui connue pré ou loin.*

***Aouatef***

## Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Introduction générale .....	1
<b>Partie 1 : Synthèse bibliographique</b>	
<b>CHAPITRE 1 : LES ENTEROBACTERIACEAE</b>	
1 Introduction .....	5
2 Classification .....	5
3 Habitat (Ecologie) .....	6
4 Caractères bactériologiques .....	6
4.1 Caractères morphologiques .....	6
4.2 Caractères cultureux .....	7
4.3 Caractères antigéniques : .....	7
4.4 Caractères biochimiques .....	7
5 Pouvoir pathogène .....	8
<b>CHAPITRE 2 : <i>PROTEUS SP.</i></b>	
1 Généralités .....	12
2 Classification .....	13
3 Habitat et écologie .....	13
4 Caractères bactériologiques .....	13
4.1 Caractères morphologiques .....	13
4.2 Caractères cultureux .....	14
4.3 Caractères biochimiques .....	15
4.4 Caractères antigéniques .....	16
5 Pouvoir pathogène .....	16
5.1 Types d'infections causées par Proteus .....	17

5.1.1	Les infections urinaires.....	17
5.1.2	Les infections cutanées.....	19
5.1.3	Les infections des voies respiratoires .....	19
5.1.4	Les infections broncho-pulmonaires à Proteus.....	19
5.2	Les facteurs de virulence.....	19
5.2.1	Uréase.....	19
5.2.2	IgA protéase.....	20
5.2.3	Hémolysine.....	20
5.2.4	Agglutinine toxique de Proteus .....	21
5.2.5	Flagelles et essaimage .....	21
5.2.5.1	Phénomènes d'essaimage ( Swarming).....	21
5.2.6	Les fimbriae.....	23
6	Réponse immunitaire.....	23

### CHAPITRE 3 : L'ANTIBIORESISTANCES

1	Historique .....	25
2	Découverte.....	25
3	Définition des antibiotiques.....	26
4	Critères de classification des antibiotiques.....	27
5	Les familles d'antibiotiques et leurs modes d'action .....	27
5.1	Les antibiotiques ciblant la paroi bactérienne .....	28
5.2	Les antibiotiques ciblant la membrane plasmique .....	28
5.3	Les antibiotiques qui ciblent les ribosomes.....	29
5.4	Les antibiotiques qui ciblent l'ARN .....	30
5.5	Les antibiotiques qui ciblent l'ADN .....	30
6	La résistance aux antibiotiques de Proteus sp. ....	30
6.1	Définition de la résistance d'antibiotiques.....	31
6.2	Les types de la résistance d'antibiotiques.....	31
6.2.1	La résistance naturelle .....	31
6.2.2	La résistance acquise .....	32
6.3	Mécanisme de résistance.....	32

6.4	Sensibilité aux antibiotiques des souches.....	33
7	Comment une bactérie devient résistante aux antibiotiques.....	34
8	Comment lutter contre la résistance aux antibiotiques.....	34
9	Symptômes .....	35
10	Traitements .....	35
10.1	Les antibiotiques utilisés pour les infections urinaires chez la femme.....	35
10.2	Les antibiotiques utilisées pour les infections urinaires chez l'homme.....	36

## Partie 2 : Synthèse Pratique

### CHAPITRE 4 : MATERIEL ET METHODES

1	Cadre de l'étude.....	39
2	Echantillonnage .....	39
2.1	Receuil des urines .....	39
2.2	Acheminement au laboratoire .....	40
2.3	Renseignements accompagnant les prélèvements.....	40
3	Tests préliminaires.....	40
3.1	Examen macroscopique .....	41
3.2	Examen microscopique .....	41
3.2.1	Examen à l'état frais:.....	41
3.2.1.1	Examen cytologiques (qualitative et quantitative).....	41
3.2.1.2	Examen entre lame et lamelle .....	41
3.2.2	Examen après coloration .....	42
3.2.2.1	Coloration non différentiel (au bleu de méthylène) .....	42
3.2.2.2	Coloration différentiel (Coloration de Gram) .....	42
4	Mise en culture et isolement.....	43
5	Tests d'orientation de l'identification biochimique .....	43
5.1	Test d'oxydase Principe .....	43
5.2	Test de catalase .....	44
5.3	Galerie classique (mini galerie ) .....	44
5.4	Galerie miniaturisée de type API 20E (Biomérieux ) .....	46

6	Détermination des profils de résistances .....	47
6.1	Antibiogramme selon le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie CA-SFM .....	47

## CHAPITRE 5 : RESULTATS ET DISCUSSION

1	Fréquence des ECBU positifs et négatifs selon les prélèvements .....	51
2	Examen macroscopique.....	51
3	L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU).....	51
3.1	Examen cytologique.....	51
3.1.1	Examen quantitatif .....	51
3.1.2	Examen qualitatif .....	52
3.2	Examen bactériologique.....	53
4	Résultats d'oxydase et de catalase.....	53
5	Résultats de la galerie classique .....	54
6	Résultats de la galerie API 20E .....	54
7	Répartition des résultats .....	55
7.1	Répartition des résultats selon le sexe.....	56
7.2	Répartition des cas positifs selon l'âge .....	56
7.3	Répartition des résultats selon l'année .....	57
7.4	Repartition des resultats selon le mois .....	58
8	Résultats de l'antibiogramme.....	60
9	Discussion des résultats.....	61
9.1	Discussion des résultats de l'isolement et de l'identification .....	61
9.2	Discussion des résultats de la répartition des cas .....	61
9.3	Interprétation des résultats de profils de résistance aux antibiotiques .....	64
	Conclusion.....	68
	References.....	71

Annexes

## Liste des abréviations

*P. mirabilis* : *Proteus mirabilis*

**BGN** : Bacille à Gram négatif

**LPS**: Lipopolysaccharide

**KCN** : Cyanure de potassium

**ONPG** : Ortho Nitrophényl Galactoside

**LDC**: Lysine décarboxylase

**ADH** :Arginine dihydrolase

**UTI** : Infection des voies urinaires

**ORL** : Oto-rhino-laryngologie

**ECBU** : Examen cytobactériologique des urines

**IgA** : Immunoglobuline A

**SHV** :Sulfydryl variable

**IgG** : Immunoglobuline G

**ATB** : Antibiotique

**NAM** : N-acétylmuramiques

**NAG** : N-acétylglucosamine

**ARN** : Acide ribonucléique

**ADN** :Acide désoxyribonucléique

**BMR** : Bactéries multirésistantes

**PLP** :Protéine de liaison aux pénicilline

**PLP 2A** : Protéine de liaison aux pénicilline 2A

**SCCmec** :Cassette chromosomique staphylococcique

**CTX-M** : Cefotaximémunich

**TEM** : Témoin d'origine du malade chez qui la première souche a été isolée

**OXA** : Oxacillinase rhumatoïde

**OMS** : Organisation mondiale de sante

**IST** : Inféction sexuellement transmissible

**PTA** : Proteine auto transporteur membrane

**PR** : Polyarthroiterhumathoide

**API 20E** : Analycal profile index 20E (E= Entérobacterie)

**R** : Résistante

**S** : Sensible

**I**: Intermédiaire

**URE** : Urée

**GN** : Gélose nutritive

**CA –SFM** : Comite de l' antibiogramme de la société francaise de microbiologie

**CLSI** :Clinique and laboratory standards institute

**VP**: Voges–Proskauer

**Gélose TSI** : Triple Sugar Iron

**Nit1**: nitrates 1

**Nit2** : nitrates 2

**TDA** :Tryptophan Deaminase

**GLU** : Glucose

**H2S** : Hydrogène Sulfuré

**IND**: Indole

**AMX**: Amoxicilline

**ODC** : Ornithine Décarboxylase

**AMP**: Ampicilline

**AMC** : Amoxicilline +Acide clavulanique

**AMY** :Amylose

**AMK** : Amikacine

**ARA** : Arabinose

**CZ**: Céfazoline

**FOX** : Céfoxitine

**CTX** : Céfotaxime

**COL** : Colistine

**NAL**: Acide nalidixique

**CIP** : Ciprofloxacine

**NIT** : Furane

**BM**: Bleu de Méthylène

**CIT** : Citrate

**CO2** : Dioxyde de Carbone

**MAN** : Mannose

**RHA** : Rhamnose

**SAC** : Saccharose

**H2O** : Oxyde d'hydrogène

**MH** : Muller- Hinton

**PN**: Pyélonéphrite

**%** : Pourcentage

**+** : Positif

**-** : Négatif

**GEL** : Gélatinase

**INO** : L'inositol

**LDC** : Lysine décarboxylase

**MEL** : Mélibiose

**ADH** : Arginine dihydrolase

**PG** : Peptidoglycane

## Liste des figures

Figure 1: Morphologie des bactéries de la famille de bacilles (bactéries en forme de bâtonnets).....	4-6
Figure 2 :Portrait de bactériologiste Hauser,Gustav .....	12
Figure 3: Morphologies des bactéries du genre <i>Proteus</i> sp.....	14
Figure 4: Aspect microscopique et culturaux du genre <i>Proteus</i> sur gélose nutritif.....	15
Figure 5 : Phénomène d'essaimage.....	22
Figure 6 :La Chronologie de découverte des principales classes d'antibiotiques.....	26
Figure 7: Région fonctionnelles des quinolones.....	30
Figure 8: Cible bactériennes et mécanisme de résistance aux antibiotiques.....	32
Figure 9: Exemple de récipient des urines.....	40
Figure 10: Exemple de récipient des urines.....	41
Figure 11: Réalisation de l'état frais (entre lame et lamelle).....	42
Figure 12: Les étapes d'analyse d'un ECBU.....	43
Figure 13: Les tests biochimiques issus la galerie classique .....	46
Figure 14: Galerie API 20E utilisés (avant l'incubation). .....	47
Figure 15 : Préparation de milieu de Muller-Hinton .....	48
Figure 16: Observation microscopique des germes après coloration au bleu de méthylène. ....	52
Figure 17: Observation microscopique après coloration de Gram .....	52
Figure 18: Résultat de test oxydase montrant une oxydase positive (côté gauche ) et une oxydase négative (côté droit).....	53
Figure 19 : Résultat test catalase positive.....	53
Figure 20: Résultat de la galleries classique .....	54
Figure 21: Résultat de la galerie API20E de <i>P.mirabilis</i> .....	55
Figure 22 : Répartition des cas positifs selon le sexe. ....	56
Figure 23: Répartition des cas positifs selon l'âge .....	57
Figure 24: Répartition des cas positifs selon l'année.....	58
Figure 25: Répartition des cas positifs selon le mois.....	59
Figure 26 : Répartition des cas positifs selon la pathologie .....	60
Figure 27: Profil de résistance de <i>Proteus</i> sp. aux antibiotiques.....	64
Figure 28 : Fiche technique ECBU des patients .....	90
Figure 29: Examen de la bandelette urinaires.....	95
Figure 30: Observation microscopique des cristaux urinaire. ....	96
Figure 31:Observation microscopique des leucocytes.....	97

Figure 32: Observation microscopique des hématies .....	97
Figure 33: Observation microscopique des cellules épithéliales. ....	97

## Liste des tableaux :

Tableau 1: Caractères biochimiques des souches pures d'entérobactéries. ....	4-8
Tableau 2 : Pouvoir pathogène des différentes espèces d'entérobactéries. ....	5-9
Tableau 3: Les principaux caractères métaboliques des différentes espèces du genre .....	15
Tableau 4: Classification des antibiotiques qui ciblent la paroi bactérienne. ....	28
Tableau 5: Classification des antibiotiques qui ont pour cible les ribosomes . ....	29
Tableau 6: Identification à l'aide de la galerie classique.....	45
Tableau 7: Fréquence des ECBU positifs et négatifs selon les prélèvements totaux.....	51
Tableau 8 : Résultat de la galerie classique de la souche <i>Proteus mirabilis</i> .....	54
Tableau 9: Résultats de la galerie API 20E de <i>Proteus mirabilis</i> : .....	55
Tableau 10 : Répartition des résultats selon le sexe .....	56
Tableau 11: Répartition des résultats selon l'âge. ....	56
Tableau 12: Répartition des résultats selon l'année.....	57
Tableau 13: Répartition des résultats selon le mois: Répartition des résultats selon le mois .....	58
Tableau 14: Répartition des résultats selon la pathologie.....	59
Tableau 15: Résultats de l'antibiogramme (n=11). ....	60
Tableau 16 : Résultat profils de résistance aux antibiotiques de 11 souches de <i>Proteus sp.</i> .....	64
Tableau 17: Tableau de lecture de la galerie API 20 E.....	91
Tableau 18: Interprétation bactério- clinique.....	94
Tableau 19: Résultat obtenus par les bandelettes urinaires.....	94

---

# Résumé

---

### Résumé

Notre travail vise la recherche et l'étude de quelques entérobactéries pathogènes ; parmi eux le genre *Proteus* sp. Qui provoque chez la majorité des personnes des infections urinaires ; ces dernières sont les plus connues et les plus dangereuses en constituant un véritable risque qui menace la santé publique vue leurs dominances et leurs difficultés de traitement.

Le diagnostic de l'infection urinaire nécessite un examen cyto bactériologique des urines ECBU.

Dans ce contexte on propose d'étudier et d'approfondir notre connaissance de la situation épidémiologique chez *Proteus* en Algérie. Parmi une collection de 16 isolats de *Proteus* durant deux années (2018-2021) et du premier semestre de l'année 2022, une seule souche identifiée comme *P. Mirabilis* ; suivant les tests d'orientations et d'identification biochimiques classiques; ainsi que la galerie API20E. Par la suite un antibiogramme a été réalisé selon les recommandations du comité du réseau algérien par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur un milieu gélosé.

L'antibiorésistance des entérobactéries aux antibiotiques est une menace à ne pas négliger. Ces bactéries uréolytiques étudiées présentent une résistance nette à 100 % aux cyclines aux polymyxines et aux furanes.

Une résistance importante vis-à-vis des céphalosporines, une résistance modérée aux bêta-lactamines, à l'opposé ces souches présentent un faible taux de résistance aux deux familles aminosides,quinolones/fluroquinolones.

Suite au développement de résistance des bactéries aux différents antibiotiques, des mesures de contrôle périodique et de surveillance doivent d'être suivis pour prévenir ces infections, surtout dans les différentes structures de soin au niveau local et national.

#### Les mots-clés :

*Proteus* sp., bactéries uréolytiques , identification , antibiorésistance.

### Abstract

Our work aims to research and study some pathogenic entérobacteria; among them the genus *Proteus sp.* which causes in the majority of people urinary tract infections; these are the most known and most dangerous constitute a real risk that threatens public health given their dominance and their difficulties of treatment.

The diagnosis of urinary identification requires a cyto-bacteriological examination of urine ECBU.

In this context we propose to study and deepen our knowledge of the épidemiological situation of *Proteus* in Algeria. Among a collection of 16 isolates of *Proteus* during two years (2018, 2021) and the first semester of 2022 there is only one strain identified as *P.Mirabilis*; following the classical biochemical orientation and identification tests; in addition to the API 20 E gallery. An antibiotic susceptibility test was then carried out according to the recommendations of the Algerian network committee by the method of diffusion of antibiotic discs on an agar medium.

Antibiotic resistance of entérobacteria to antibiotics is a threat that should not be neglected. The strains of *Proteus* studied show a net resistance of 100% to cyclins, polymyxins, furans, etc.

Significant resistance to céphalosporins moderate resistance to beta-lactams, On the other hand, these strains have a low rate of resistance to both aminoglycosides and quinolones/fluroquinolones.

As a result of the developpement of bacterial resistance to the différents antibiotics and the prevalence of UTIs, periodic control and surveillance measures must be followed to prevent these infections, especially in the different health care structures at the local and national level .

### Key words:

*Proteus sp.*, ureolytic bacteria, identification , antibiotic resistance

## المخلص

يهدف عملنا الى البحث ودراسة بعض البكتيريا المعوية، من بينها جنس *Proteus sp.* الذي يسبب عند غالبية الناس التهابات بولية، فهؤلاء هم الأكثر شهرة والأخطر يشكلون خطرا حقيقيا يهدد الصحة العامة نظرا لهيمنتهم وصعوبات علاجهم. يتطلب تشخيص التعرف على البول فحص البكتيريا الخلوية للبول. ECBU. وفي هذا السياق، نقترح دراسة وتعميق معرفتنا بالحالة الوبائية ل *Proteus sp.* في الجزائر. من بين مجموعة من العزلات 16 ل *Proteus sp.* خلال السنتان (2018,2020) والسادسي الأول من سنة 2022 هناك سلالة واحدة فقط تم تحديدها على انها *P. Mirabilis*، تم تحديدها بعد اختبارات التوجيهات الكيميائية الحيوية التقليدية وتحديد الهوية، تم تحديد هذه السلالة من قبل معرض AP20E. وفي وقت لاحق تم اجراء مضاد حيوي وفقا لتوصيات لجنة الشبكة الجزائرية بطريقة نشر أقراص المضادات الحيوية على الوسط. تعتبر مقاومة المضادات الحيوية للبكتيريا المعوية تهديدا بعدم اهمالها. تتمتع هذه البكتيريا المحللة للبولي التي تمت دراستها بمقاومة صافية بنسبة 100% les cyclines و les beta-، مقاومة معتدلة -، مقاومة عالية les cephalosporines، le furane و les polymixines، في المقابل تتمتع هذه السلالات بمستوى منخفض من المقاومة للعائلتين les lactamines و les quinolones/fluroquinolones، aminosides

بعد تطور مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية المختلفة وانتشار التهابات المسالك البولية، يجب اتباع تدابير مراقبة ومراقبة دورية لمنع هذه العدوى، خاصة في مختلف مرافق الرعاية على المستويين المحلي والوطني.

## الكلمات الرئيسية :

*Proteus sp.*, تحديد الهوية , البكتيريا المحللة للبول , مقاومة المضادات الحيوية

---

# **Introduction**

---

## Introduction générale

Tout au long de l'histoire, il y a eu une bataille continuelle entre l'homme et la multitude de micro-organismes qui causent l'infection et la maladie (leulmi,2015) A partir de milieu du 20ème siècle, des avancées majeures dans le développement des médicaments antibactériens et autres moyens de lutte contre les infections ont aidés à renverser la tendance en faveur de l'Homme. Cependant , cette révolution n'a pas duré longtemps. Presque aussitôt de l'utilisation de médicaments antibactériens, les bactéries ont répondu en manifestant diverses formes de résistance (Leulmi,2015).

Ces bactéries sont des bacilles à Gram négatif, retrouvés partout dans le sol, dans l'eau et surtout dans le tube digestif de l'Homme et des animaux, elles comprennent un nombre très élevé de genre et d'espèces (chekroud et fathi,2017)

Les espèces de *Proteus* , membres de la famille des enterobacteriaceae, sont; *Proteus penneri* , *Proteus hauseri* , *Proteus myxofaciens*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* (Drzewiecka,2016) ces dernières espèces sont les plus abondantes.

Généralement ce genre de microorganisme considéré comme des commensaux dans l'intestin (Hamilton al.,2018) ou des pathogènes opportunistes provoquant différents types d'infections et surtout les infections urinaires. L'examen cytobactériologiques des urines (ECBU) est l'examen clé pour bien diagnostiquer l'infection urinaire (Hamilton al.,2018, Malek , chohbane,2020).

En Algérie le facteur d'âge et la qualité d'Hygiène influence significativement cette infection (Malek et Chohbane, 2020).

Les antibiotiques sont des substances biochimiques qui peuvent-être naturellement produites par des micro-organismes, peuvent être synthétique, ou semi synthétique, avec un effet bactériostatique qui inhibe la multiplication des microorganismes ou bien un effet bactériolytique qui détruit l'activité bactérienne.

Il y'a 12 familles d'antibiotiques , leur classification est basée sur plusieurs principes. (Vidal,2020) dont certains ont été utilisés dans nos études ex : les bêta lactamine , les céphalosporines, les aminosides, les cycline, les quinolones, les colistine etc.

Certains bactéries s'adaptent et développent une résistance au traitement antibiotiques selon deux types de résistances : une résistance naturelle et une résistance acquise. (Cardot Martin, 2019)

Au cours d'un mois de pratique au niveau de laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine D.S.P.R.H cité Mentouri (Daksi), on a répondu à quelques questions sur l'isolement et l'identification de la bactérie *Proteus* sp. et la détermination des profils de résistance aux antibiotiques de ces souches.

Dans ce contexte, nos objectifs sont:

- l'Isolement et l'identification de *Proteus* sp.
- La détermination des profils de résistances aux antibiotiques des souches isolées.
- La mise en évidence d'une étude prospective et rétrospective des années (2018,2020,2021).

Notre présentation manuscrite a été faite selon la méthodologie suivante :

- Une partie théorique subdivisée en 3 chapitres essentiels :
  - Le chapitre 1 : les enterobacteriaceae,
  - Le chapitre 2 :*Proteus* sp.
  - Le chapitre 3 : l'antibiorésistance .
- Une partie pratique ; discute les résultats obtenus lors du stage et les statistiques d'études rétrospective en deux chapitres
  - Chapitre 4 : Matériel et méthodes
  - Chapitre 5 : Résultats et discussion.

---

# **Partie I**

## **Synthèse bibliographique**

---

---

# **Chapitre 1**

## **Les Enterobacteriaceae**

---

## 1 Introduction

Les entérobactéries forment une vaste famille de bacilles à Gram négatif regroupés en plusieurs genres et espèces. Tous ces germes font partie de la flore normale du tube digestif de l'Homme et des animaux. (Fatnassi, 2020, Aquaportail, 2008).

Ces bactéries sont très largement distribuées dans la nature et leur localisation préférentielle est au niveau du système digestif. Dans ce groupe de bactéries entériques figurent des bactéries pathogènes strictes comme *Salmonella* et *Shigella*, d'autres sont considérées comme opportunistes ou pathogènes occasionnels comme *Proteus* et *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* et *Serratia*, ou *Morganella* et *Providencia*, normalement présentes dans les sols, dans les eaux d'égout et à l'état normal en faible quantité dans le tube digestif, enfin ce sont des bactéries essentiellement saprophytes du tube digestif dans certaines circonstances peuvent être responsables d'infections comme *Escherichia* (wainsten,2012).

Leur identification est basée surtout sur des tests culturaux, des caractères biochimiques et antigéniques, leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication et l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques de la famille la plus utilisée de ses derniers en thérapeutique c'est les Bêta lactamine. (Fatnassi, 2020).

Ces bactéries occupent une place importante en pathologie humaine et constituent plus de 80% des germes isolés au laboratoire de biologie médicale.

Ils sont responsables de nombreuses infections nosocomiales et infections communautaires notamment les infections urinaires, les infections respiratoires, septicémies (Fatnassi,2020).

## 2 Classification

Classification d'entérobactéries selon le Bergey's manual ,1998.

- Règne : Bacteria
- Embranchement : Proteobacteria
- Classe : Gamma Proteobacteria
- Ordre : Enterobacteriales
- Famille: Enterobacteriaceae

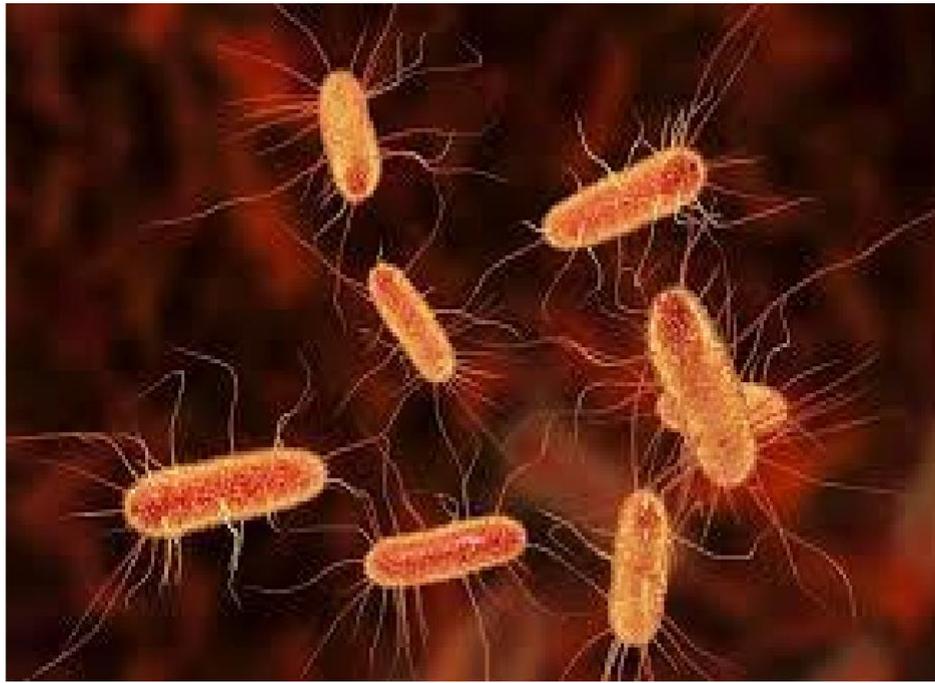
### 3 Habitat (Écologie)

Les entérobactéries sont des bactéries ubiquitaires retrouvées partout dans le sol, dans l'eau, dans certaines denrées alimentaires. On les trouve aussi dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux, mais la plupart des espèces qui composent cette famille sont des hôtes normaux ou pathogènes du tube digestif de l'Homme et des animaux, pour cela elles sont nommées entérobactéries (Fatnassi, 2020).

### 4 Caractères bactériologiques

#### 4.1 Caractères morphologiques

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique, sous forme de bacilles à Gram négatif (BGN) (2- 4µm longueur/0,4- 0,6 µm largeur), soit mobile par ciliature péritriche ou immobiles, non sporulés et peuvent être capsulés. La plupart des espèces pathogènes pour l'Homme possèdent des fimbriae ou pili communs qui sont des facteurs d'adhésion. (Fatnassi, 2020)



**Figure 1: Morphologie des bactéries de la famille de bacilles (bactéries en forme de bâtonnets).**

(Ray, 2022)

## 4.2 Caractères culturaux

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobiose et en anaérobiose.

Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose.

- Colonies S (smooth) : arrondies, lisses, humides, blanches ou translucides.
- Colonies R (rugueuses) : sèches à contours irréguliers et mates (bactéries vieilles ou anormales).
- Colonies M (muqueuses) : grosses colonies ± confluentes (*Klebsiella* sp.).
- Colonies envahissantes ou nappantes : formation d'un tapis uniforme (*Proteus*).
- Colonies naines : Elles s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques. (Fatnassi, 2020)

## 4.3 Caractères antigéniques :

Antigènes O : Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables (résistants 2 heures à un chauffage à 100°C) ; et résistants à l'alcool ou l'acide.

Antigènes H : Ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine, la flagelline, ils sont thermolabiles détruits par l'alcool à 50 % et par les enzymes protéolytiques (Philippon, 2001).

Antigènes K : Ces antigènes capsulaires sont ; généralement constitués d'une couche externe polysaccharides , parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B d'*E.coli*

Antigène Vi : de certains *Salmonelle* ou *Citrobacter*. (Fatnassi, 2020)

## 4.4 Caractères biochimiques

Quelques caractères définissent aisément la famille: bacille à Gram négatif , immobiles ou mobile (ciliature , péritriche ) aéro-anaerobies facultatif , cultivant sur gélose ordinaire, fermentant le glucose , réduisant le nitrate en nitrite , oxydase négative .

Elles présentent des diversités enzymatiques, d'où une identification biochimique fermentation des glucides, dégradation des acides organiques, des substances azotées; désaminases, décarboxylases ; formation d'indole, d'acétoïne, etc . (Philippon,2001).

**Tableau 1: Caractères biochimiques des souches pures d'entérobactéries.**  
(Biothechnologie au lycée,2016)

Caractères des souches pures d'Entérobactéries										
Bactérie \ Caractère	mobilité	lactose	ONPG	mannitol	citrate	Gaz en glucose	H <sub>2</sub> S	VP	Nitrate réductase	Nitrite réductase
<i>Salmonella typhimurium</i>	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	-/+	+	+	+/-	+	+/-	-	+	-
<i>Citrobacter koseri</i>	+	+/-	+	+	+	+	-	-	+	-
<i>Escherichia coli 1</i>	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-
<i>Escherichia coli 2 Alcalescens</i>	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>Escherichia coli 2 Dispar</i>	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>Shigella sonnei</i>	-	- (+tardif)	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>Enterobacter agglomerans</i>	+	+/-	+	+	+	-	-	+	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	+	-/+	+	+	+	-	-	+/-	+	-
<i>Serratia marcescens</i>	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	+	-	-	-	+/-	+	+	-	+	-
<i>Morganella morganii</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-

## 5 Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène des entérobactéries chez l'Homme est considérable.

Beaucoup d'entérobactéries, d'origine intestinale, peuvent à des degrés divers, être agressives pour l'homme. On les dit "pathogène opportunistes". Les infections sont soit bien définies et peuvent concerner tous les sujets soit non spécifiques touchant les sujets immunodéprimés, en particulier ceux qui sont hospitalisés. Dans la majorité des cas, l'origine de l'infection est soit ;

Endogène à partir des flores bactériennes, soit exogène provenant de milieu extérieur (à partir des matières fécales, des aliments, de l'eau, du sol, des végétaux, des céréales... (Philippon,2001, Fatnassi,2020).

Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections :

-Les infections communautaires, il s'agit principalement des infections urinaires majoritairement provoquées par *E.coli*.

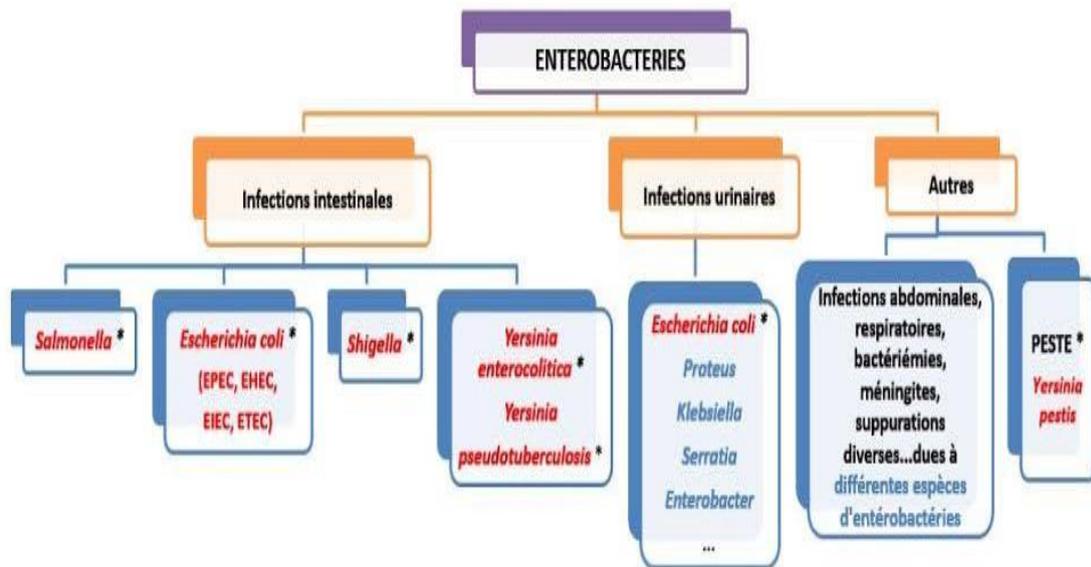
-Les intoxications alimentaires provoquées par les *Salmonelles*.

-Les infections pulmonaires provoquées par *Klebsiella pneumoniae*.

-Les infections nosocomiales, sont fréquentes à type d'infections urinaires, des plaies opératoires par *Proteus sp.*

-D'infections pulmonaires, de septicémies, ainsi que d'autres localisations, En plus des bactéries déjà citées dans les infections communautaires avec un profil de multirésistance on cite: *Klebsiella pneumoniae* , *Enterobacter sp.* , *Serratia sp.* (Fatnassi,2020)

**Tableau 2 : Pouvoir pathogène des différentes espèces d'entérobactéries. (France online, 2022)**



---

# **Chapitre 2**

***Proteus sp***

---

## 1 Généralités

Les espèces de *Proteus*, sont des membres de la famille des Enterobacteriaceae. (Hamilton et al.,2018)

Il a été découvert par Gustav Hauser en 1885, cependant le genre est divisé en plusieurs espèces qui sont *Proteus mirabilis* , *Proteus vulgaris* , *Proteus penneri* , *Proteus hauseri* et trois espèces génomiques sans noms 4, 5 et 6 (Drzwiecka,2016).



**Figure 2 :Portrait de bactériologiste Hauser,Gustav (Astro Data Bank,2017)**

Entre autres changements, l'exclusion du genre *Proteus* de plusieurs espèces qui ont créés de nouveaux genres *Providencia* et *Morganella* mérite d'être mentionnées . Ces trois genres étroitement apparentés ont formé la tribu *Proteeae* dans la famille des Enterobacteriaceae (Drzwiecka,2016).

Le genre *Proteus* comprend les bâtonnets à Gram-négatifs, anaérobies facultatifs, hétérotrophes et protéolytiques étant des agents épidémiques humains qui sont généralement considérés comme des commensaux dans l'intestin ou parasites et sont le plus souvent reconnues cliniquement comme une cause d'infections des voies urinaires.

Cependant des exemples intéressants de leurs relations symbiotiques avec des organismes supérieurs ont également été décrits (Drzwiecka,2016 ,Hamilton, et al.,2018).

Ces bactéries sont connues pour être des agents pathogènes opportunistes humains qui possèdent de nombreux facteurs de virulence potentiellement pertinents pour la pathogénicité gastro-intestinale.

*Proteus spp* ont été isolées de différents environnements humains et non humains et leur présence dans les organismes supérieurs, le sol et l'eau est bien documentée (Drzwiecka,2016).

Cependant, leurs caractéristiques spécifiques et les rôles joués dans leurs habitats naturels n'ont pas été résumés jusqu'à présent (Hamilton et al ,2018).

## 2 Classification

Selon la classification hiérarchique de bergey's manual ,1998. *Proteus* appartient à la

La famille des Enterobacteriaceae .

Genre : *Proteus*

Espèce : *P.mirabilis* , *.P. vulgaris* ,*P. penneri* , *P. hauseri* , *P.myxofaciens*

## 3 Habitat et écologie

Les microorganismes du genre *Proteus* sont largement répandus dans l'environnement naturel, cela incluant les eaux souillées, les sols, et le fumier. Du fait de leur activité protéolytique, leur habilité à hydrolyser l'urée en ammoniacque et en dioxyde de carbone, ainsi que la désamination oxydative des acides aminés, ces bactéries sont impliquées dans la décomposition des matières organiques d'origine animales (Leulmi,2015).

De plus, ces bactéries sont également des commensaux du tractus digestif chez l'Homme et l'animal (souris, rats , chiens, chats, bovins , porcins, oiseaux, reptiles...). On remarque toutefois que *P. mirabilis* est plus fréquemment isolé chez les canidés, les bovins et les oiseaux, alors que *P. vulgaris* est plus souvent retrouvé chez les porcins et les vertébrés à sang froid.

*P. myxofaciens* n'a été isolé que des adultes et des larves du papillon zigzag (Porthétricadispar). (Schultz, 2018)

## 4 Caractères bactériologiques

### 4.1 Caractères morphologiques

Ce sont des bacilles à Gram négatif ; très polymorphe. Dans les cultures jeunes, il existe des formes longues et filamenteuses qui peuvent disparaître pour donner des petits bacilles droits de 0,3 à 3 µm .

Elles possèdent des ciliatures très abondantes et longues (bactérie envahissante, sous forme nageuse) ou (sous forme rampant par essaimage ou swarming) (Bourquia et al., 1992) (Guessoum et Yakhlef, 2017).

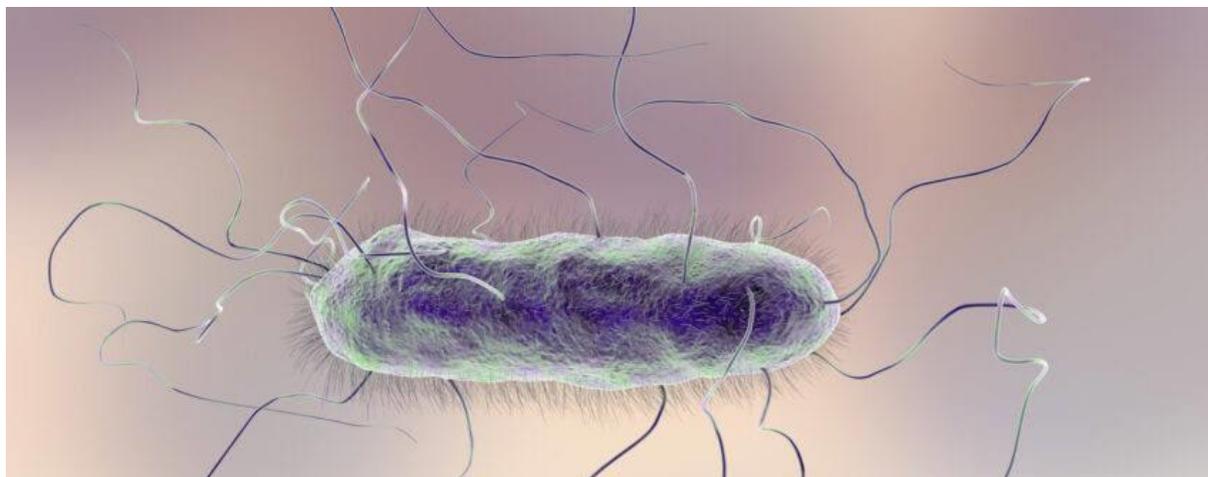


Figure 3: Morphologies des bactéries du genre *Proteus sp.* (Lohmann et al, 2022)

## 4.2 Caractères cultureux

Sur les géloses nutritives ou sur géloses au sang incubées à 37°C, *P. mirabilis*, *P. vulgaris* et parfois *P. penneri* peuvent envahir la surface des milieux en formant soit des halos de culture en ondes concentriques, lorsque l'envahissement est moins important, en donnant des images en hérisson ou en fil barbelé (Schultz, 2018).

Sur les milieux d'isolement classiquement utilisés pour les entérobactéries, les colonies sont proches de celles du genre *Salmonella*. Ces milieux contiennent des substances destinées à inhiber l'envahissement par les *Proteus sp.* qui empêcherait l'isolement des autres bactéries. Sur gélose *Salmonella-Shigella*, les colonies de *P. mirabilis*, de *P. penneri* et de *P. vulgaris* sont incolores avec ou sans centre noir. Les colonies dépourvues de centre noir sont fréquentes avec *P. penneri*.

Sur gélose désoxycholate-citrate-lactose, *P. mirabilis* et *P. vulgaris* donnent des colonies incolores au centre noir alors que les colonies de *P. penneri* sont souvent dépourvues de centre noir. Sur gélose Hektoen, les colonies ont une coloration saumon et un centre noir ou elles sont bleues avec ou sans centre noir.

Sur gélose de Drigalskiaux sels biliaries, les colonies sont bleutées, peu irisées et plates. (Schultz, 2018) En milieu liquide (bouillon nutritif, bouillon trypto-caséine soja, eau péptoné) croissance

se traduit par un trouble abondant avec parfois un voile en surface et un dépôt qui dégage une odeur fétide particulière (Guessoum, yakhlef,2017).

Dans les milieux d'enrichissement utilisés pour les salmonelles (milieu au sélénite de Leifson ou milieu tétrathionate de Müller-Kauffmann) et incubés à 37°C, les *Proteus sp* ont une croissance comparable à celle des *Salmonella sp*. Par contre, lorsque ces milieux sont incubés à 42 ou 43°C, leur croissance est inférieure à celle des salmonelles (Schultz, 2018).



**Figure 4: Aspect microscopique et cultureux du genre *Proteus* sur gélose nutritif.**  
(printrest,2022)

### 4.3 Caractères biochimiques

Les caractères biochimiques d'identification les plus couramment rencontrés sont présentés dans le Tableau 3 et permettent de différencier chaque espèce de *Proteus*. (Schultz, 2018)

**Tableau 3: Les principaux caractères métaboliques des différentes espèces du genre**

Test/propriétés	<i>P.mirabilis</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>P.penneri</i>	<i>P.hauseri</i>	<i>P.myxofaciens</i>
Production d' indole	-	+	-	+	-
Ornithine décarboxylase	+	-	-	-	-
Fermentation du Maltose	-	+	+	+	+
Fermentation de la salicine	-	+	-	-	-
Fermentation du D-Xylose	+	+	+	+	-
Hydrolyse de l'éscoline	-	+	-	-	-

Sensibilité chloramphenicol	au S	V	R	S	S
--------------------------------	------	---	---	---	---

+ : positive - : négative S : sensible R : résistante V : variable

#### 4.4 Caractères antigéniques

Les bactéries du genre *Proteus* peuvent également être différenciées sur la base de leur variabilité de l'antigène O, bien que le sérotypage ne soit pas inclus dans le diagnostic de routine de ces bâtonnets.

Jusqu'à présent, 80 sérogroupes O-antigéniques ont été établis dans le genre, certains d'entre eux étant divisés en sous-groupes, et de nombreux nouveaux sérotypes O sont encore en cours de découverte.

La structure chimique de la partie sucre du lipopolysaccharide peut jouer un rôle important dans l'adaptation de *Proteus sp.* aux conditions environnementales et augmentant leur pathogénicité, car certains sérotypes O sont plus répandus et plus fréquemment isolés de sources cliniques que les autres (Drzewiecka, 2016).

### 5 Pouvoir pathogène

#### ▪ Chez l'homme :

Les *Proteus* sont des pathogènes opportunistes, provoquant différents types d'infections en particulier chez l'hôte immunodéprimés : 10 % à 20% des infections nosocomiales sont en effet due à ces germes. Près de 70% à 90% des souches isolées appartiennent à l'espèce *P. mirabilis* (Patrick, 1994)

Compris les infections de plaies, la méningite du nouveau-né ou des nourrissons, la polyarthrite rhumatoïde (PR) et la gastro-entérite, cependant, ces bactéries sont rarement associés au infections d'origine alimentaire. Ils peuvent également coloniser le tractus urinaire, dans certaines circonstances, où il est considéré comme un pathogène opportuniste et l'une des principales causes des infections des voies urinaires (UTI) chez les patients hospitalisés avec sondes urinaires ou à des anomalies structurelles et / ou

fonctionnelles au niveau des voies urinaires, comme après une intervention chirurgicale dans le système génito-urinaire.

*P. mirabilis* provoque une infection urinaire avec la fréquence la plus élevée parmi toutes les espèces de *Proteus*. Il est impliqué dans les infections compliquées et les infections chez les patients cathétérisés pendant une longue durée.

Les *Proteus* sont souvent associés aux infections nosocomiales et peuvent causer deux types d'infections urinaires ; les infections hématogènes et les infections ascendantes, cependant ces dernières sont les plus causées par ces micro-organismes (Leulmi,2015).

▪ **Chez l'animal :**

Les *Proteus sp.* sont responsables d'infections urinaires (chevaux, porcs, carnivores), d'endométrites (chevaux et bovins), de mammites (vaches), de diarrhées(veaux, porcs), d'arthrites (veaux), de surinfections des plaies, ou encore d'otites externes(notamment chez les carnivores où ils sont souvent isolés en association avec *Pseudomonas aeruginosa* ou avec des staphylocoques à coagulase positive (Schultz,2018).

Les *Proteus* ont également été isolés à partir de produits alimentaires tel que les saucisses fabriqués et emballés sous vide , les poissons d'eau douce et d'eau salée, dont la consommation de poisson contaminé conduit à la maladie connue sous le nom scombroidose .

Récemment les souches de *P. mirabilis* ont été retrouvées accumulées dans les huîtres recueillies de la zone côtière du Venezuela . La présence de ces bactéries peut être attribuée à une contamination fécale de cette zone, en particulier durant les périodes pluvieuses.

En plus *Proteus sp.* a été identifié dans les échantillons de lait cru acheté illégalement dans deux grandes villes du Ghana indiquant la contamination fécale du lait due à une mauvaise hygiène .

D'autres études récemment ont montré que les souches de *P. vulgaris* présente à la surface des fromages français mûrs avaient la plus grande capacité à produire des quantités élevées et de grandes variétés de composés volatils, qui jouent un rôle majeur dans la formation de l'arôme du fromage (Leulmi,2015).

## **5.1 Types d'infections causées par *Proteus***

### **5.1.1 Les infections urinaires**

▪ **Définition :**

Le terme infection urinaire regroupe l'ensemble des infections du tractus urinaire, qui englobe les infections des différents constituants de l'appareil urinaire ou de certaines annexes. Elle se manifeste le plus souvent par des douleurs ou une sensation de brûlures lors de la miction, parfois par des douleurs abdominales et de la fièvre (Guessoum, Yakhlef, 2017).

Les espèces du genre *Proteus* (*P. mirabilis* à 90%) sont souvent responsables d'infections symptomatiques des voies urinaires hautes et peuvent générer des urolithiases (formation de cailloux dans les reins ou la vessie). Quel que soit le germe en cause de l'infection

des voies urinaires, entraîne souvent des signes de cystites (pollakiurie, dysurie) et des pyélonéphrites aiguës (Schultz, 2018, Patrick, 1994).

En effet, après fixation aux parois et colonisation des voies urinaires, les bactéries libèrent de l'uréase dont la catalyse de l'urée va entraîner une diminution du pH des urines ce qui favorise la formation de calculs rénaux et vésicaux.

De plus, ces infections peuvent aussi générer des bactériuries asymptomatiques, particulièrement chez les personnes âgées et les patients diabétiques de type 2 et chez les femmes.

De par leur présence naturelle dans le tube digestif, il est admis que la majorité des infections urinaires par *Proteus* résultent de l'ascension des bactéries depuis le tractus gastro-intestinal. Cette hypothèse est supportée par le fait que chez de nombreux patients souffrant d'infections urinaires, la souche de *Proteus* mise en cause est également retrouvée dans des échantillons de la selle du malade (Schultz, 2018).

#### ▪ **Les bactéries uréolytiques**

On peut penser que ces bactéries exercent leurs effets uréolytiques à des niveaux différents du tube digestif. Ces dernières sont présentes dans le sol et, aussi dans les urines et les déjections humaines et animales. (Moreau, et al, 1973, Chenost et al, 2011)

On distingue des bactéries par leur forme (notamment les coques et les bacilles), d'autres par la coloration de Gram et leurs caractéristiques biochimiques, fermentation du lactose ex : les entérobactéries (Guessoum, Yakhlef, 2017)

La plupart du temps, il s'agit de la bactérie *E. coli*. C'est la raison pour laquelle le médecin demande un ECBU (Examen CytoBactériologique des Urines) lorsque ces symptômes sont rencontrés. (Fornero, 2022)

Parmi elles , on reconnaît les genres suivantes : *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et l'espèce *E. coli*.

Les « bacilles à Gram négatif non fermentant » les plus fréquents sont *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et le *Chryseomonas*.

Les coques à Gram positif notamment les familles des staphylocoques et streptocoques comme *streptocoque pneumoniae* sont responsables de pneumonie.

Les coques à Gram négatif comme *Neisseria gonorrhoea* ou gonocoque responsable de la gonorrhée (maladie sexuellement transmissible) (Guessoum, Yakhlef, 2017).

### **5.1.2 Les infections cutanées**

Surtout observées en milieu hospitalier, il s'agit de surinfections en général causées par *Proteus mirabilis* siégeant sur des plaies chirurgicales , des brûlures localisées ou étendues , des ulcères variqueux , des escarres de décubitus (Patrick, 1994).

### **5.1.3 Les infections des voies respiratoires**

Les infections de la sphère oto-rhino-laryngologique (ORL) font suite le plus souvent à un processus infectieux chronique de surinfection secondairement par des *Proteus* . Il s'agit

d'otites chroniques suppurées, d'otomastoïdites ou de sinusites qui ont été drainées de multiples fois et traités par diverses antibiotiques (Patrick, 1994).

### **5.1.4 Les infections broncho-pulmonaires à *Proteus***

Sont habituellement la conséquence d'une surinfection secondaire à une pneumopathie grave. L'implantation de bactéries sélectionnées chez le malade par une antibiotique préalable est favorisée par les troubles de la ventilation (atélectasie , anesthésie , décubitus , insuffisance respiratoire ou cardiaques...) et par la diminution des défenses immunitaires ( traitement immuno-suppresseur...) (Patrick, 1994).

## **5.2 Les facteurs de virulence**

### **5.2.1 Uréase**

*P. mirabilis* présente une activité d'uréase . L'enzyme de l'uréase est composée de trimères en UreA, UreB, UreC et un co-enzyme de nickel . Lors d'un contact avec l'urée, l'uréase provoque la décomposition de ce dernier en ammoniac et en dioxyde de carbone.

L'ammoniac augmente le pH et provoque la précipitation des minéraux, ce qui peut conduire à des calculs de la vessie et du rein, ainsi que la formation de biofilms cristallins le long d'un cathéter .

*P. mirabilis* est particulièrement aptes à former ces biofilms en raison de leur capsule, qui non seulement aide à l'adhérence des cellules, mais aussi dans la formation de structures en cristal.

Ces cristaux ont un effet sur la virulence de *P. mirabilis* de multiples façons.

Tout d'abord, l'augmentation de l'ammoniac peut provoquer la lyse des cellules hôtes ce qui conduit en une augmentation de nutriments pour les bactéries

Deuxièmement, les cristaux vont créer un refuge pour les bactéries de se cacher et d'échapper non seulement des cellules immunitaires, mais également des antibiotiques.

Au cours d'une infection l'activité de l'uréase est très importante .Des études ont montré que lorsque les gènes de structure de l'enzyme ont mutés , il y'a un grand désavantage concurrentiel quand on introduit des mutations dans l'un des gènes de l'uréase,

*P. mirabilis* ne parvient pas à coloniser la vessie ou les reins tel que la bactérie sauvage . (Leulmi, 2015)

L'uréase exerce cette fonction catalytique selon l'équation suivante:



### 5.2.2 IgA protéase

Une souche de *Proteus mirabilis* associée à une infection chronique des voies urinaires s'est avérée produire une protéase IgA sensible à l'EDTA qui a clivé la chaîne lourde d'IgA en deux fragments à des sites différents de ceux attaqués par d'autres protéases microbiennes IgA1. Cette enzyme peut être un déterminant de la virulence de *P. mirabilis* (Sénior,1987).

### 5.2.3 Hémolysine

La synthèse d'hémolysines cytotoxiques est courante chez les bactéries à Gram négatif et à Gram positif Le répertoire complet des facteurs pathogènes de *Proteus* est complété par différentes sortes d'hémolysines (HpmA et HlyA) (Rosalski,et al ,1997).

La fonction de l'hémolysine est de former des pores dans les cellules hôtes cibles, ce qui permet au *P. mirabilis* de se propager dans les reins lors de l'infection . Ceci est probablement médiée par la capacité accrue des cellules hémolytiques de *P. mirabilis* à envahir les tissus de l'hôte (Leulmi,2015).

#### **5.2.4 Agglutinine toxique de *Proteus***

Une toxine récemment découverte, la Pta, produite par *P. Mirabilis* est à la fois cytotoxiques et possédant la capacité d'agglutination .

La Pta est une protéine calcium dépendante qui reste à la surface de la cellule. L'activité cytotoxique est liée au Pta quand elle est associée à une cellule ou dans une forme purifiée (Leulmi,2015)

En plus de l'internalisation, *P. mirabilis* est capable de lyser les cellules épithéliales de la vessie en utilisant une combinaison de l' agglutinine toxique *Proteus* (Pta) et de l'hémolysine (Armbruster et al., 2017)

#### **5.2.5 Flagelles et essaimage**

En général, la présence de Flagelles à la surface des bactéries pathogènes et opportunistes a été pensée pour faciliter la colonisation et la dissémination à partir du site initial.Les bacilles *Proteus* subissent une morphogenèse en cellules essaimeuses et essaient à la surface du milieu solide. Ce type de croissance des bâtonnets de *Proteus* sur un milieu nutritif solidifié est appelé phénomène d'essaimage (Rosalski.,et al ,1997).

##### **5.2.5.1 Phénomènes d'essaimage ( Swarming)**

On parle alors d'un phénomène d' « essaimage » ou« swarming » (en anglais). Ensemencées au centre d'une boîte de milieu gélosé, les bactéries se multiplient pour donner une colonie. Quand le milieu s'épuise, on voit apparaître des bactéries de formes longues, fortement mobiles, aptes à se déplacer à la surface du milieu afin de coloniser un endroit de la gélose riche en nutriments. Elles donnent alors naissance à des bactéries de formes courtes et faiblement mobiles mais l'appauvrissement progressif du milieu provoquera à nouveau l'apparition de bactéries de formes longues qui repartiront vers des zones de milieu neuf. Ces cycles périodiques de migration, dus à la transcription d'une série de gènes (40 à 60 gènes seraient impliqués) se traduisent par la formation caractéristique de halos de culture concentriques (Figure 5) (Schultz, 2018).



**Figure 5: Phénomène d'essaimage. (Sagar,2021)**

Le « swarming » requiert une réelle transformation des bactéries. Les cellules peuvent s'allonger jusqu'à 80  $\mu\text{m}$ , elles deviennent polyploïdes (par exemple, les formes de 40  $\mu\text{m}$  de longueur contiennent environ 20 chromosomes), leur membrane externe devient plus fluide, le lipopolysaccharide (LPS) possède des chaînes latérales plus longues, la synthèse d'uréase, de protéase et d'hémolysine extracellulaire augmente et elles sont pourvues d'une abondante ciliature (de plusieurs centaines à plusieurs milliers de flagelles). Le « swarming » est également un phénomène collectif et coordonné car une cellule isolée est incapable d'essaimer à la surface d'une gélose. L'induction du « swarming » est déclenchée par des facteurs inhibant la rotation des flagelles (telle que l'augmentation de la viscosité du milieu) et par la présence de signaux extracellulaires. De ce point de vue, la glutamine semble jouer un rôle important. En effet, dans un milieu minimum, la glutamine est le seul acide aminé capable d'initier la transformation des bactéries en formes longues pourvues d'une forte ciliature. Des mutants incapables de coder pour le système de transport de la glutamine ont un comportement analogue aux souches sauvages ce qui montre bien que l'induction par la glutamine est indépendante du système de transport de cet acide aminé (Schultz, 2018).

Ainsi, il semble que les flagelles se comportent comme des structures capables d'analyser les conditions du milieu ambiant et de transmettre des signaux à la bactérie.

Les capacités à générer le « swarming » sont variables selon les espèces et les souches.

Le « swarming » est peu prononcé chez *P. penneri* et il peut ne pas exister avec certaines

souches de *P. mirabilis* et *P. vulgaris* qui forment alors soit un voile continu car l'envahissement de la gélose ne présente aucune périodicité, soit des colonies parfaitement isolées

(absence totale d'envahissement). Au final, cette capacité à ramper sur les surfaces est donc un avantage non négligeable (Schultz, 2018).

### 5.2.6 Les fimbriae

Sont des appendices de surface bactérienne utilisés pour l'adhésion. Différents types de Fimbriae pour la pathogenèse des bâtonnets de *Proteus* ont été documentés dans des études in vivo .Le séquençage récent du génome de *P. mirabilis* a révélé qu'il y a 17 opérons fimbriaux différents.

Les types les plus importants de fimbriae semblent être le PMF et le MR/P impliqués dans la virulence, qui se lient respectivement aux récepteurs de la vessie et de l'épithélium rénal. (Rosalski et al .,1997).

## 6 Réponse immunitaire

L'immunité contre les *Proteus* est essentiellement humorale, basée sur la production d'anticorps opsonisants et éventuellement bactéricides en présence de complément , Les anticorps apparaissent quelques jours après le début clinique de l'infection et peuvent être mis en évidence dans le sérum (IgG ,IgA) , et dans l'urine seulement en cas d'infection des urinaires hautes (pyélonéphrite).

Il s'agit alors d'IgA spécifique facilement mise en évidence sur les bactéries émises dans les urines fraîches par immunofluorescence (test des anticorps fixes sur les bactéries ) .

L'immunité contre *Proteus* serait spécifique du stéréotype infections. De très nombreux antigènes O et H ont été définis pour chacune des espèces. Par exemple dans le groupe *P. mirabilis* et *P. vulgaris* ,on a dénombré non moins de 49 spécificité O et 19 spécificité H. Certains stéréotypes sont retrouvés avec prédilection lors d'épidémies d'infections nosocomiales, sans que l'on puissent attribuer un rôle particulier aux lipopolysaccharides (antigène O) dans la virulence de ces souches (Patrick,1994).

---

# **Chapitre 3**

## **L'antibiorésistance**

---

## 1 Historique

Les produits naturels ont été une riche source de pistes pour le développement de médicaments pour le traitement des infections bactériennes. Cependant, au-delà de la découverte du produit naturel, la thiénamycine et du plomb synthétique, l'oxazolidinone dans les années 1970, il y a eu une pénurie de nouveaux composés. Ce commentaire donne un aperçu des pistes actuelles d'antibiotiques et de leur mécanisme d'action, et met en évidence les outils qui peuvent être appliqués à la découverte de nouveaux antibiotiques. (Singh, et al,2006)

## 2 Découverte

La découverte des antibiotiques a été une découverte médicale majeure qui a permis desauver des millions de vie en traitant des infections jusqu'a là incurables : tuberculose, pneumonie, septicémie... ( figaro,2022).

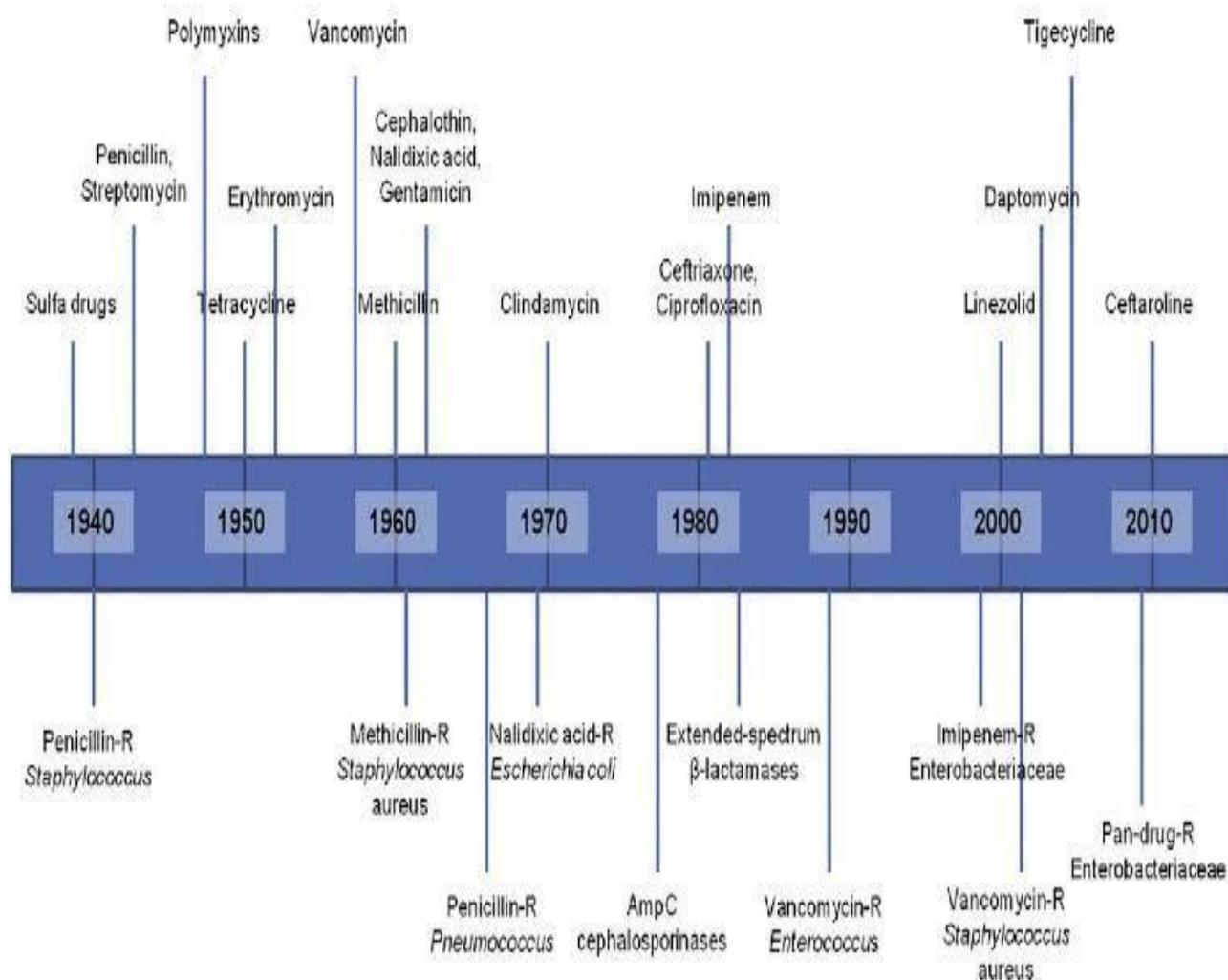
ils sont des substances naturelles, hémi-synthétiques ou synthétiques qui sont capables d'inhiber la croissance bactérienne ou de tuer les bactéries.

Le tout premier d'entre eux fut la pénicilline, découverte en 1928, par Alexander Fleming, médecin biologiste et pharmacologue Britannique qui a découvert par hasard, qu'une ou des substances produites par un champignon, *Penicillium notatum*, avaient la faculté d'inhiber la croissance bactérienne.

Il faut ensuite attendre 1932 pour voir apparaître sur le marché le premier antibiotique de l'histoire commercialisé par les laboratoires Bayer, ; le Prontosilun sulfamide utilisé comme antibactérien contre certaines infections à streptocoque. Ce n'est qu'en 1945, à la fin de la seconde guerre mondiale que la pénicilline est fabriquée industriellement en grande quantité et commercialisés.

Ses bénéfices sont menacés par le développement de résistances aux antibiotiques, quelques années plus tard en 1942, la première résistance aux sulfamines est décrite suivie en 1946 de la résistance à la pénicilline G mais c'est le japonais T.Watanabe qui démontre pour la première fois l'origine génétique de l'antibiorésistance en montrant que le gène responsable est porté par un plasmide bactérien..(Veysiere,2019)

La chronologie de la découverte des principales classes d'antibiotiques est représentée sur la figure 6.



**Figure 6 :La Chronologie de découverte des principales classes d'antibiotiques (Fanny,2015)**

### 3 Définition des antibiotiques

Le terme antibiose a été créé en 1889 par Vuillemin pour désigner les phénomènes d'antagonisme entre les organismes vivants car l'antibiose est un cas particulier d'antagonisme, c'est un effet produit par voie chimique par l'intermédiaire de substances antibiotiques.

D'autre part un antibiotique est défini comme étant une substance biochimique qui peut être naturellement produite par des micro-organismes, ou être synthétisée, semi synthétisée artificiellement et qu'a la capacité d'inhiber la multiplication des bactéries (effet bactériostatique) ou de les détruire (effet bactériolytique). (CNRTL,2012 , Schultz, 2018)

#### 4 Critères de classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)
- **Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques
- **Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- **Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle  $\beta$  lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse , La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$  lactamines, aminosides, tétracyclines...).(Microbiologie-clinique, 2022)

#### 5 Les familles d'antibiotiques et leurs modes d'action

Il existe plusieurs familles d'antibiotiques. Les principales sont les bêta-lactamines (pénicillines et céphalosporines), les macrolides, les aminosides, les cyclines et les quinolones.

Ces grandes familles d'antibiotiques se différencient par :

- **Leur spectre d'activité**, c'est-à-dire l'ensemble des germes sensibles à chaque famille d'antibiotiques.
- **Leurs indications**, directement liées au spectre d'activité et à la diffusion de l'antibiotique dans les différents organes : par exemple, certains antibiotiques se concentrent dans les urines et sont particulièrement intéressants en cas d'infection urinaire.
- **Leur voie d'utilisation** : les antibiotiques peuvent être pris par voie orale, à l'exception des aminosides qui sont détruits dans l'intestin. Il existe également des collyres, des solutions auriculaires ou nasales et des pommades contenant des antibiotiques. Ces formes locales sont parfois suffisantes pour combattre des certaines infections.
- **Leur mode d'emploi et leur fréquence d'utilisation** il existe pour certaines infections des traitements monodoses par exemple.
- **leurs contre-indications** Leurs effets indésirables : réaction allergique, diarrhée, photosensibilisation, tendinite, toxicité rénale sont des effets indésirables qui caractérisent

certaines familles d'antibiotiques. L'apparition d'un effet indésirable grave limite l'utilisation ultérieure des médicaments appartenant à la même famille. (Vidal, 2020)

### 5.1 Les antibiotiques ciblant la paroi bactérienne

Le peptidoglycane (PG) est un biopolymère complexe constitué de chaînes polysaccharidiques reliées entre elles par des segments peptidiques. Tout défaut dans l'assemblage de cette paroi est dommageable, voire fatal pour la bactérie.

Ainsi, la majorité des antibiotiques utilisés chez l'Homme ciblent spécifiquement les enzymes de biosynthèse du PG afin de bloquer la croissance bactérienne (Rousseau,2016)

**Tableau 4: Classification des antibiotiques qui ciblent la paroi bactérienne.**

Mode d'action	Famille	Sous- famille	Exemple	Spectre d'action
Inhibiteurs de la transpeptidase	Pénicillines	Pénicilline G	Oxacilline	Germes à Gram positif
		Pénicilline M		
		Pénicilline A	Amoxicilline	Germes à Gram positif et à Gram négatif
		Carboxypenicillines Urédopénicilline Amidopénicillines	Ticarcilline	
		Carbapénèmes	Imipénème	
	céphalosporines	Première génération	Cefalexine	Germes à Gram positif et à Gram négatif
		Deuxième génération	Cefuroxime	
Troisième génération		Ceftazidine		
Inhibiteurs de la polymérisation du peptidoglycane	Glycopeptides		Vancomycine	Germes à Gram positif
Inhibiteurs de la formation d'acide N-acétyl muramique	Fosfomycine		Fosfomycine	Germes à Gram positif et à Gram négatif

### 5.2 Les antibiotiques ciblant la membrane plasmique

La membrane plasmique, barrière qui isole le microorganisme du milieu extérieur tout en permettant des échanges par transport passif ou actif.

L'énergie nécessaire au transport actif peut provenir de l'hydrolyse de l'ATP ou d'un gradient de protons.

La membrane plasmique est également le siège de la respiration et de la phosphorylation oxydative. De plus, les ribosomes sont situés à la partie interne de cette membrane. Un certain nombre d'antibiotiques modifient la membrane déjà constituée, d'autres perturbent sa synthèse (Elaissaoui., et al, 2017)

On peut les diviser en deux sous familles :

- Les polypeptides tensio-actifs
- Les polypeptides non tensio-actifs (leulmi,2015)

### 5.3 Les antibiotiques qui ciblent les ribosomes

Le ribosome est une particule ribonucléo protéique, complexe jouant le rôle d'« unité centrale » de la synthèse protéique et relativement conservé au cours de l'évolution. Chez *E. Coli*, modèle le mieux connu, la particule ribosomale de 70S est composée de deux sous-unités de 30S et de 50S.

Un antibiotique peut inhiber la synthèse des protéines, c'est-à-dire qu'il vise directement l'ARN des ribosomes bactériens, étant à l'origine de la synthèse des protéines. (Elaissaoui et al , 2017)

Les familles des antibiotiques concernées ainsi que leur mode d'actions sont présentées sur le Tableau 5.

**Tableau 5: Classification des antibiotiques qui ont pour cible les ribosomes .  
(Leulmi,2015)**

Mode d'action	Famille	Sous-famille	Exemple	Spectre d'activité
Inducteur d'erreur de decodage	Aminosides		Netilmicine	Germes à Gram positif (sauf Streptocoques) et germes à Gram négatif
Inhibition de l'élongation par le site P	Macrolides , Lincosamides Synergistines	Macrolides	Erythromycine	Germes à Gram positif et à Gram négatif sauf Enterobacter et Pseudomonas
		Lincomamides	Lincomycine	
		Synergistine	Dalfapristine	

Inhibition De l'activité de l'apéptidyl transférase	Phénicoles		chloramphénicol	Germes à Gram positif et à Gram négatif
Inhibition de la fixation de l'ARN de transfert	Cyclines		tétracycline	

### 5.4 Les antibiotiques qui ciblent l'ARN

Pour ce mode d'action, on dénombre la famille des rifamycines, la rifampicine et la rifabutine sont des molécules hémi synthétisées à partir de la rifamycine B, En se liant à l'ARN polymérase, ces antibiotiques bloquent la formation de la chaîne d'ARN messager et par conséquent on assiste à un arrêt de la synthèse protéique (Leulmi,2015)

### 5.5 Les antibiotiques qui ciblent l'ADN

Les antibiotiques peuvent également inhiber la réplication de l'ADN. Lors de celle-ci, l'ADN gyrase crée des coupures dans le double brin d'ADN. Ces coupures normalement transitoires, sont suivies d'un recollage des deux brins par la gyrase. L'activité des quinolones (ofloxacin) est expliquée par la formation d'un complexe ternaire irréversible quinolone-ADN-gyrase. Le

fonctionnement de l'enzyme est altéré et la coupure de l'ADN n'est pas réparée aboutissant à la mort cellulaire.(Cardot martin,2019)

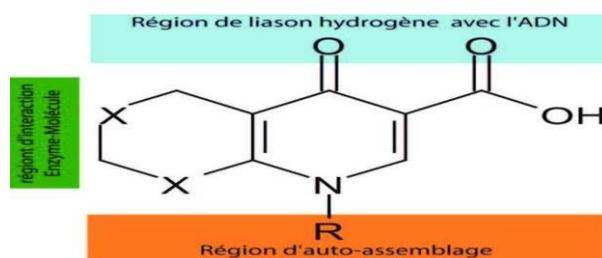


Figure 7: Région fonctionnelles des quinolones ; (Aboya moroh,2013)

## 6 La résistance aux antibiotiques de *Proteus sp.*

Après une période de forte efficacité contre les maladies infectieuses, les antibiotiques se présentent de moins en moins efficaces face à certaines infections bactériennes. Dès 1940, juste après la découverte de la pénicilline, Abraham et Chain avaient mis en évidence l'existence de résistance aux antibiotiques pour la première fois. (Leulmi,2015)

### 6.1 Définition de la résistance d'antibiotiques

Les bactéries résistantes provoquent chez l'homme ou l'animal des infections plus difficiles à traiter que celles dues à des bactéries non résistantes (aussi dites bactéries « sensibles »). Le choix de l'antibiotique qui peut être prescrit est en effet alors plus limité.

Des bactéries peuvent être résistantes à un ou à plusieurs antibiotiques on parle alors de bactéries multirésistantes ou BMR.

Dans des cas extrêmes, heureusement encore très rares, une bactérie peut être résistante à tous les antibiotiques utilisables chez l'homme. Elle est dite alors pan-résistante peut entraîner une impasse thérapeutique avec plus aucun traitement possible.

La résistance aux antibiotiques ou antibiorésistance est définie par l'inefficacité du traitement antibiotique sur l'infection bactérienne ciblée.

Les antibiotiques sont des médicaments qui servent à soigner les infections dues à des bactéries. Les bactéries peuvent devenir insensibles à ces drogues : on parle alors de résistance aux antibiotiques et de bactéries résistantes. (Institut Pasteur, 2021)

### 6.2 Les types de la résistance d'antibiotiques

Il existe deux types de résistances des bactéries pour les antibiotiques : les résistances naturelles et les résistances acquises.

#### 6.2.1 La résistance naturelle

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques, leur patrimoine génétique les rend insensibles à certaines familles d'antibiotiques et elles transmettent ces résistances à leur descendance. On parle de résistance "naturelle", c'est-à-dire de manière innée. On sait par exemple, que le germe *Pseudomonas aeruginosa* n'est jamais sensible à l'ampicilline, c'est-à-dire de manière innée. Cette résistance naturelle (ou intrinsèque) concerne toutes les souches d'une même espèce bactérienne et détermine le phénotype sauvage de résistance. Elle est alors portée par le chromosome et se transmet verticalement lors de la division cellulaire. (Cardot Martin, 2019, Sanofi, 2021)

### 6.2.2 La résistance acquise

Par ailleurs, quand les bactéries sont soumises à des traitements antibiotiques, elles finissent par développer des résistances contre des antibiotiques auxquelles elles étaient auparavant sensibles : on parle de “résistances acquises”. (figaro,2022)

Ces résistances sont dues, soit à la mutation du patrimoine génétique de la bactérie, soit à l'acquisition par la bactérie, d'un “plasmide”, matériel porteur de gènes de résistance provenant d'une autre bactérie.

Ce dernier mode de résistance acquise est le plus fréquent, il représente plus de 80% des résistances acquises. Elle est alors retrouvée dans une proportion plus ou moins importante des souches d'une espèce et est variable dans le temps. Dans ce cas, la transmission est verticale ou horizontale (entre bactéries via des éléments génétiques mobiles).(Cardot Martin,2019)

### 6.3 Mécanisme de résistance

Il existe quatre principaux mécanismes de résistance : imperméabilité bactérienne, modification de la cible, inactivation de l'antibiotique, efflux actif (figure8).

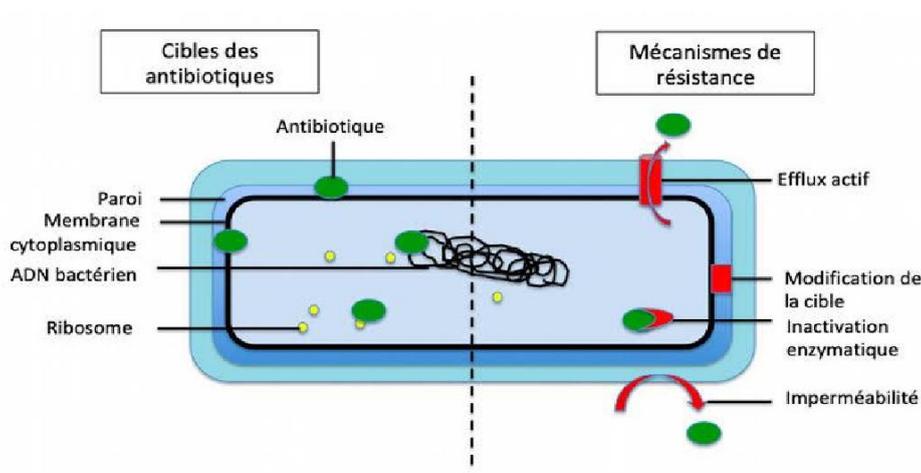


Figure 8: Cible bactériennes et mécanisme de résistance aux antibiotiques (Cardot Martin, 2019)

- L'imperméabilité bactérienne est impliquée dans la résistance naturelle des bacilles à Gram négatif aux glycopeptides (vancomycine), molécules de grande taille ne pouvant pas entrer dans les porines de la membrane externe de ces bactéries. L'imperméabilité est également impliquée dans la résistance acquise des bactéries, par exemple celle de *Pseudomonas*

*aeruginosa* à l'imipénème par perte de la porine D2 de la membrane externe, voie d'entrée de l'antibiotique.

- Une modification de la cible de l'antibiotique entraîne une perte d'activité de celui-ci. Un exemple incontournable est la résistance acquise de *Staphylococcus aureus*, pathogène humain très répandu, à la méticilline. La bactérie possède une nouvelle PLP, la PLP2A ayant très peu d'affinité pour les  $\beta$ -lactamines. La PLP2A est codée par le gène *MecA*, inclus dans un élément génétique mobile intégré dans le chromosome et appelé en anglais *staphylococcal cassette chromosome mec* ou SCCmec. (Cardot Martin, 2019)

- Un troisième mécanisme d'action très répandu est l'inactivation enzymatique de l'antibiotique. Par exemple, la bactérie peut acquérir des gènes de résistance codant des enzymes nommées  $\beta$ -lactamases et capables d'hydrolyser le noyau  $\beta$ -lactame des  $\beta$ -lactamines, les transformant en produits inactifs. Chez les bacilles à Gram négatif, il existe une grande diversité des  $\beta$ -lactamases impliquées dans des résistances naturelles (TEM, SHV) et acquises (CTX-M, TEM, SHV, KPC, OXA, NDM) aux antibiotiques. Quelques années après l'utilisation d'une nouvelle  $\beta$ -lactamine en thérapeutique (amoxicilline, céphalosporines, carbapénèmes), on voit toujours apparaître la résistance à ces antibiotiques par production de  $\beta$ -lactamases. (Cardot Martin, 2019)

Des systèmes de pompes à efflux permettent également d'éliminer l'antibiotique en dehors de la bactérie.

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

### 6.4 Sensibilité aux antibiotiques des souches

Les espèces du genre *Proteus* sont généralement sensibles aux céphalosporines, aux aminoglycosides et à l'imipénème à large spectre. *P. mirabilis* est aussi sensible à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole, à l'ampicilline, à l'amoxicilline et à la piperacilline. *P.*

*vulgaris* et *P. penneri* sont quant à elles sensibles à la céfoxitine, au céfépime et à l'aztréonam. Maintenant pour la résistance des espèces du genre *Proteus* : *P. mirabilis* est résistante à la nitrofurantoïne, et elle peut aussi développer une résistance à la ciprofloxacine lorsque cet antibiotique n'est pas soumis à des restrictions d'utilisation. *P. vulgaris* et *P. penneri* sont résistantes à la pipéracilline, à l'amoxicilline, à l'ampicilline, à la céfopérazone, au céfuroxime et à la céfazoline. *P. penneri* présente une plus grande résistance à la pénicilline que *P. vulgaris*. Une résistance aux  $\beta$ -lactamases émerge actuellement chez les bactéries du genre *Proteus* on a aussi observé une résistance aux carbapénèmes en Inde, où certains isolats étaient pan-résistants (Gouvernement du Canada, 2011)

### **7 Comment une bactérie devient résistante aux antibiotiques**

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques, d'autres peuvent devenir résistantes à la suite de la mutation de certains de leurs gènes. (Green facts ,2014)

Les bactéries ont en effet la capacité à s'échanger des gènes. Ces échanges sont particulièrement problématiques dans le cas de gènes rendant la bactérie qui l'héberge résistante aux antibiotiques. En effet si l'acquisition de la résistance par mutation est un phénomène rare, de l'ordre d'une bactérie sur cent millions, les gènes de résistance peuvent s'échanger entre bactérie à très haute fréquence, jusqu'à une bactérie sur 100. ( Institutue pasteur, 2022)

### **8 Comment lutter contre la résistance aux antibiotiques**

La question est brûlante et le danger bien réel, selon l'OMS : «Cette grave menace n'est plus une prévision, mais bien une réalité dans chaque région du monde, et tout un chacun, quels que soient son âge et son pays, peut être touché.»

Que faire, collectivement et individuellement, pour écarter la menace d'infections que l'on ne saurait plus traiter ? (Le figaro, 2022).

Des chercheurs travaillent pour développer de nouveaux vaccins contre des maladies bactériennes. Ces vaccins pourraient permettre de réduire l'utilisation des antibiotiques et donc le développement de bactéries résistantes. (Vidal,2019)

Par ailleurs, certains spécialistes s'intéressent de près à la phagothérapie. Les bactéries peuvent elles aussi être infectées, par des virus appelés des phages. Les phages s'attaquent exclusivement aux bactéries et il existe un type de phage spécifique pour chaque souche bactérienne. Les bactéries sont incapables de résister à l'action des phages. La phagothérapie ;

est basée sur l'utilisation thérapeutique des phages pour traiter des infections bactériennes. (Estelle, 2019)

### 9 Symptômes

Les symptômes sont notamment :

- Des brûlures lors des mictions, des envies fréquentes d'uriner, une urine trouble et parfois malodorante, si l'infection concerne la vessie (une infection urinaire chez la femme, ou plus précisément une cystite aiguë, cystite) ou l'urètre (il s'agit une urétrite)
- De la fièvre, des frissons, des douleurs au niveau des lombaires, si l'infection concerne le rein
- L'ensemble de ces symptômes peuvent être présents si l'infection concerne la prostate.
- Les infections urinaires sont plus graves chez l'homme que chez la femme. (Ooreka, 2022)

### 10 Traitements

Le traitement des infections localisées à *Proteus*, en particulier des infections urinaires basses, est basé sur l'utilisation d'un antibiotique actif par voie buccale, et tel que le triméthoprime sulfaméthoxazole, ampicilline, les céphalosporines orales, l'acide nalidixique. En cas de pyélonéphrite, le traitement doit être prolongé au moins deux semaines.

En présence de germes polyrésistants, le recours aux aminosides et aux céphalosporines de troisième génération type céfotaxime ou ceftriaxone (particulièrement efficace sur les *Proteus* comparé à autre céphalosporines de ce type) peut-être nécessaire. Ces antibiotiques peuvent être utilisés seul ou associés.

Les infections graves à *Proteus*, incluant les infections respiratoires, méningées ou septicémique, impliquent l'utilisation de deux antibiotiques bactéricides par voie parentale pendant 2 à 3 semaines. L'association d'un aminoside à un céphalosporines de troisième génération se révèle actuellement particulièrement efficace. (Patrick 1994)

#### 10.1 Les antibiotiques utilisés pour les infections urinaires chez la femme

Selon les recommandations officielles françaises, en cas de cystite aiguë sans signe de gravité, les antibiotiques préconisés en premier lieu sont :

- La fosfomycine ; administrée en une dose unique (traitement monodose).
- Le pivmécillinam ; La durée du traitement est habituellement de 5 jours.
- La cystite ; se soigne avec des antibiotiques et en buvant beaucoup d'eau ».

(Vidal,2022)

### **10.2 Les antibiotiques utilisées pour les infections urinaires chez l'homme**

Les hommes ne peuvent pas faire de cystite aiguë mais peuvent souffrir d'autres types d'infections urinaires. Il peut s'agir d'une urétrite causée par une IST (Infection Sexuellement Transmissible) ou d'une prostatite aiguë, fréquente chez l'homme de plus de 60 ans.(Zoe,2022)

On utilise les antibiotiques de la famille des ; fluoroquinolones ou des céphalosporines en première intention. La durée totale du traitement varie de 2 semaines pour les formes simples à 4 semaines, voire plus, selon la gravité de l'infection. (Livi,2021)

---

## **Partie II**

# **Synthèse pratique**

---

---

# **Chapitre 4**

## **Matériel et méthodes**

---

## 1 Cadre de l'étude

Nous avons choisi de mener ce travail sur la recherche et l'étude de *Proteus sp.* et d'étudier l'antibiorésistance au sein de laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Constantine D.S.P.R.H cité Mentouri (Daksi).

Les prélèvements ont été réalisés au niveau de la paillasse des urines , durant un mois de la période allant du 10 avril au 05 mai 2022.

Dans notre travail nous avons fait aussi une étude rétrospective de deux années (2018,2021 et du premier semestre de l'année 2022) qui a été basée sur l'interprétation des résultats à partir des données recueillies des registres et des fiches d'antibiogrammes archivés au niveau du laboratoire de microbiologie.

## 2 Échantillonnage

Un échantillon de 110 prélèvements a été examiné durant la période de notre étude à partir des patients de plusieurs catégories (traitements ambulatoires , des patients hospitalisés au niveau de la clinique rénale ...)

### 2.1 Recueil des urines

Pour obtenir des résultats fiables il faut remplir les conditions suivantes :

- L'échantillon doit être frais
- Il doit être concentré
- Il doit être acide

Pour cela il faut prélever l'urine au milieu du jet l'urine est récoltée après une première brève miction en dehors du récipient et avant la miction complète. On procède comme suit : Les organes génitaux doivent être soigneusement lavés à l'eau tiède, à la rigueur au savon. Ne pas utiliser de désinfectants !

Le personnel soignant doit faire un lavage hygiénique des mains pour ne recueillir dans le tube à urine stérile que les 20 ml en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du récipient. (Takilt,taleb,2014 ,Guessoum,yakhlef,2017)



**Figure 9 : Exemple de récipient des urines**

## **2.2 Acheminement au laboratoire**

Les urines doivent êtreensemencées dans un temps le plus court possible après leur émission (1/2 heure), car elles constituent un excellent milieu de culture pour les bactéries.

Au delà de ce délai le flacon d'urine sera placé dans un récipient contenant de la glace. Les urines pouvant êtres gardés 24h à 4°C sachant que la réfrigération ne préserve pas les leucocytes.

## **2.3 Renseignements accompagnant les prélèvements**

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignement qui comporte :

- Nom et prénom
- Age et sexe
- Service d'hospitalisation.
- Nature de prélèvement.
- Date de prélèvement. (**Annex 09**)

## **3 Tests préliminaires**

L'identification des bactéries se fait suivant une clé dichotomique qui va des caractères les plus vastes aux plus pointus pour aboutir à une espèce bactérienne. Dans le but d'identification des isolats infectieux, on a procédé à une étude phénotypique présentée par les tests suivants.

### 3.1 Examen macroscopique

Après incubation, le premier critère d'identification sur lequel on se base est celui de l'aspect macroscopique des colonies vu à l'œil nu., Il consiste à :

Laisser reposer les urines recueillies durant quelque instants. Examiner le dépôt ; s'il en existe un.

L'examen macroscopique oriente la recherche bactériologique et il précise la couleur ou l'aspect du prélèvement, on doit noter :

- L'aspect du liquide : trouble, purulent, clair.
- La couleur : hématique, jaunâtre, blanchâtre.
- La consistance : fluide, semi- fluide, épais, visqueux.
- L'odeur: une odeur fétide peut orienter vers un germe anaérobie.

### 3.2 Examen microscopique



Figure 10: Exemple de récipient des urines

#### 3.2.1 Examen à l'état frais:

##### 3.2.1.1 Examen cytologiques (qualitative et quantitative)

L'examen quantitative est essentiel pour notre étude. Cet examen comporte la numération à l'aide d'un dispositif à numération. (Annexe 10)

L'examen qualitative permet d'observer et d'apprécier les cellules présentes dans l'échantillon(hématies, leucocytes, cristaux, levures).

##### 3.2.1.2 Examen entre lame et lamelle

Un examen direct à l'état frais permet d'apprécier l'abondance de la flore microbienne et surtout d'observer la mobilité des bactéries. Il permet aussi de renseigner sur la présence ou l'absence des cellules telles que les globules blancs, les hématies, les cellules épithéliales . dont la technique est en (Annex 06)

### 3.2.2 Examen après coloration



Figure 11: Réalisation de l'état frais (entre lame et lamelle)

#### 3.2.2.1 Coloration non différentiel (au bleu de méthylène)

Cette coloration permet de faire la mise en évidence éventuelle de l'état de ces cellules (intactes ou altérées), et de la bactérie, sa forme (cocci, bacille) et sa disposition par rapport aux cellules (intra ou extra cellulaire). La présence d'image de phagocytose du germe est évocatrice de sa responsabilité dans le déclenchement de l'infection. De plus, elle permet d'apprécier l'agencement des bactéries (isolées, diplocoques, flammes de bougies, diplobacilles...)

#### 3.2.2.2 Coloration différentiel (Coloration de Gram)

La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Elle doit être parfaitement maîtrisée car c'est le point de départ du choix des examens complémentaires à effectuer, des milieux à ensemencer. Au terme du processus de coloration, les bactéries dites

« Gram Négatives » apparaissent roses tandis que les bactéries dites « Gram Positives » sont colorés en bleu foncé/violet et les étapes de coloration sont en ( **Annex :07**)

#### 4 Mise en culture et isolement

Pour chaque prélèvement urinaire on fait une analyse d'ECBU ( examen cytobactériologique des urines) sur GN avec un dénombrement des germes (bactériens) et une deuxième uroculture sur milieu Hektoen si le patient est immunodéprimé (femme enceinte, patient hospitalisée, diabétique, sondé) pour l'isolement des bacilles à Gram négatif

En cas d'isolement des *Proteus* les colonies poussent après 18 à 24H d'incubation à 37°C sur les géloses d'Hektoen, gélose nutritive, gélose au sang cuit ou gélose au sang frais.

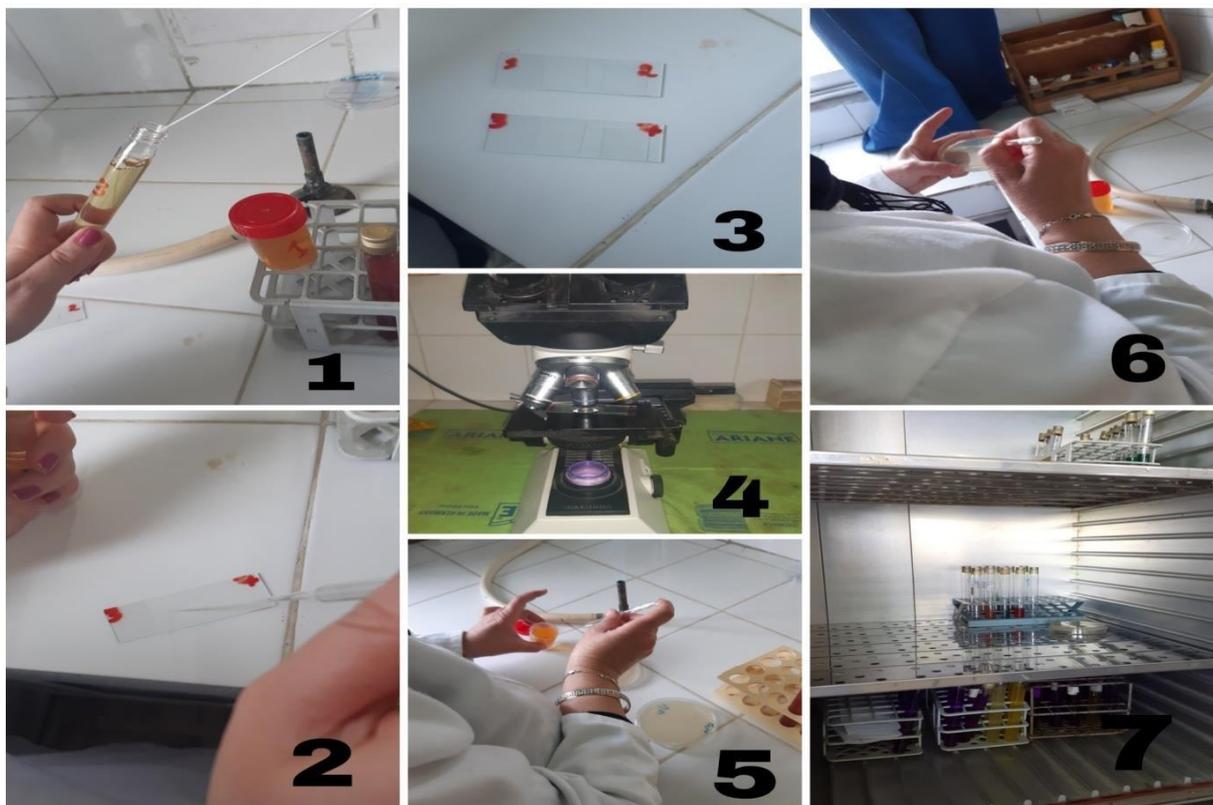


Figure 12: Les tests biochimiques issus de la galerie classique

#### 5 Tests d'orientation de l'identification biochimique

##### 5.1 Test d'oxydase Principe

Ce test permet la mise en évidence de la production de la bactérie étudié de l'enzyme

«oxydase ». Les bactéries possédant une chaîne respiratoire complète sont dotées d'une enzyme cytochrome oxydase. L'oxydation de Tétraméthyl-p-phénylènediamine indique la présence d'une oxydase chez la bactérie oxydase positive .

### **Technique**

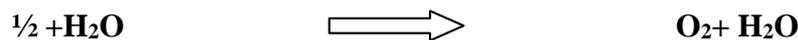
Sur une lame de verre propre, un disque imprégné de solution d'oxydase fixé par l'eau distillée stérile est déposée à l'aide d'une pipette Pasteur stérile flambée, la colonie à étudier est déposée sur le disque et observer immédiatement.

### **Lecture**

Une réaction positive se traduit par une coloration violette en quelques seconds, qui met en évidence la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semiquinonique rose violacé.

## **5.2 Test de catalase**

La catalase est une enzyme qui est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes  $H_2O_2$  ce qui a un effet létal pour la bactérie. Ce test repose sur la décomposition de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau et en oxygène selon la réaction suivante :



### ➤ **Technique**

Sur une lame propre sèche, déposer quelques gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes;

ajouter l'inoculum bactérien à l'aide d'une anse de platine ou pipette pasteur boutonnée. Observer immédiatement à l'œil nu.

### ➤ **Lecture**

La réaction positive se traduit par l'apparition des bulles d'air, dégagement gazeux de dioxygène et la réaction négative se manifeste par l'absence des bulles d'air ou d'effervescence.

## **5.3 Galerie classique (mini galerie )**

La réalisation de la galerie classique consiste à effectuer des tests biochimiques permettant l'identification des bactéries en étudiant leur métabolisme enzymatique (tableau 6).

**Tableau 6: Identification à l'aide de la galerie classique. (Fatnassi, 2020)**

Test	Technique	Lecture
Mannitol Mobilité nitrate réductase	-Ensemencement par piqure centrale à l'aide d'une pipette Pasteur. Incubation à 37°C pendant 24h. Après l'incubation. Ajouter les réactifs Nit 1 et Nit 2 .	-La fermentation du mannitol a été matérialisée par un virage du milieu de rouge au jaune. L'ajout des réactifs Nit1 et Nit2 conduit à l'apparition d'une teinte rouge-orangé en présence d'ions nitrites, ce qui indique que la bactérie est capable de réduire les nitrates en nitrites. La bactérie immobile ne se développe que le long de la piqure centrale.
Milieu Citrate de Simmons	-Ensemencement par des stries le long de la pente à l'aide de la pipette Pasteur, incubation à 37°C pendant 24h	-L'utilisation du citrate de Simmons se traduit par un virage de couleur du vert au bleu qui signifie qu'il y a eu une alcalinisation du milieu et que la bactérie possède un citrate perméase
Gélose TSI (Triple Sugar Iron)	-Ensemencement du culot par piqure centrale et la pente par des stries serrées à l'aide de la pipette Pasteur. -Incubation à 37°C pendant 24h	-Pour la fermentation du lactose: La surface inclinée vire au jaune. Dans le cas contraire, sa couleur reste inchangée. - Pour la fermentation de glucose: le culot vire au jaune. Dans le cas contraire, sa couleur reste inchangée - S'il y a production du gaz, il est possible d'observer, soit seulement quelques bulles, soit une poche gazeuse qui décolle complètement le milieu du fond du tube. -la production de H <sub>2</sub> S se traduit par un noircissement du milieu dans la zone joignant le culot à la pente

<p>Test urée-indole</p>	<p>-Prélever à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée stérile et flambée quelques colonies bactériennes puis les déposer sur le milieu « urée --indole ».</p> <p>-Incuber à 37°C pendant 24 heures, puis diviser le contenu en 2 tubes, On peut rechercher la production d'indole par des réactifs de Kovacs, et le TDA est révélé par l'ajout de perchlorure de fer</p>	<p>-Production d'une Uréase: coloration rose violette.</p> <p>-Production d'indole: apparition d'unanneau rouge à la surface.</p> <p>- La tryptophane-désaminase détecté par l'apparition d'une couleur brune après l'ajout de perchlorure de fer.</p>
-------------------------	--	--



Figure 13: Les tests biochimiques issus la galerie classique

#### 5.4 La galerie miniaturisée de type API 20E (Biomérieux )

C'est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries à Gram négatif, dont les entérobactéries. Elle comporte 20 microtubes contenant des 3ne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation (18h-24h à 37C°) se traduisaient par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

##### Échantillons (prélèvement et répartition)

L'API 20E ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autre ; les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu

de culture adapté à la culture des Enterobacteriaceae et/ou des bacilles à Gram négatif non fastidieux selon les techniques usuelles de bactériologie (**Annex08**)

## Lecture

La lecture des galeries API 20E se fait selon les indications du fournisseur. Après codification des réactions en un profil numérique, on se réfère à un catalogue analytique où l'identification est donnée avec un pourcentage et une appréciation. (**Annexe 09**).

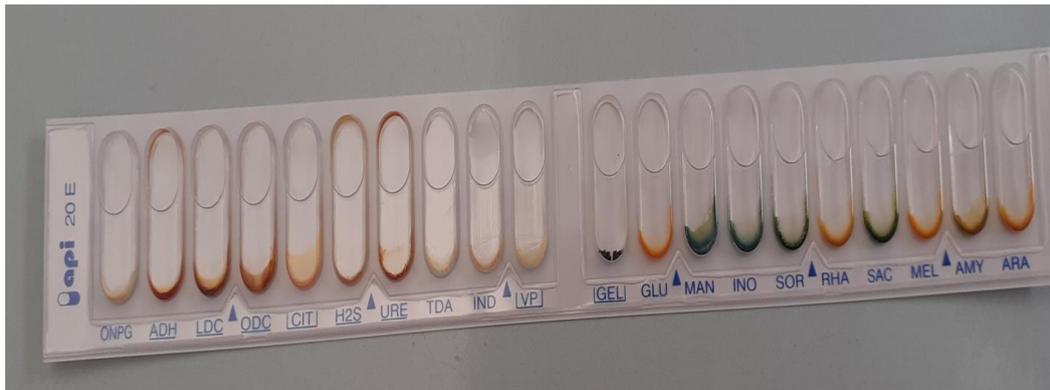


Figure 14 : Galerie API 20E utilisés (avant l'incubation).

## 6 Détermination des profils de résistances

### 6.1 Antibiogramme selon le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie CA-SFM

- **Principe**

dans les laboratoires cliniques l'antibiogramme est réalisé par méthodes de diffusion en disque sur milieu Muller Hinton selon les recommandations du CLSI pour chaque germe isolé.

elles consistent à disposer des disques de papier buvard imprégnés d'une concentration déterminée d'antibiotiques à la surface d'un milieu gélosé, dès que les disques sont appliquées, l'antibiotique diffuse à partir du disque de manière uniforme dans la gélose .

après incubation, les disques s'entourent des zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture

s'il est efficace, l'antibiotique va détruire les bactéries à proximité et former ainsi une auréole visible à l'œil nu

le diamètre du disque formé va donner une indication de la sensibilité de la bactérie à l'antibiotique testé, plus le diamètre du disque est élevé, plus l'antibiotique est efficace.

- **Milieu**

Muller-Hinton non sélectif qui doit être coulé en boîte de pétri sur une épaisseur de 4 mm, les boîtes doivent être séchées avant leur emploi.



**Figure 15 : Préparation de milieu de Muller-Hinton**

➤ **Préparation de l'inoculum bactérien**

a partir d'une culture pure de 18h a 24h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

et les transférer dans l'eau physiologique stérile (2,5 ml) puis bien homogénéiser la suspension bactérienne.

➤ **Ensemencement**

L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum. Il est réalisé par écouvillonnage ou par inondation de telle façon à avoir après incubation des colonies distinctes mais jointives.

1. Plonger l'écouvillon dans la suspension et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.
2. Frotter la surface entière de la boîte d'agar trois fois, en faisant tourner la boîte d'environ 60 ° C entre les stries pour assurer une distribution uniforme. Pour minimiser les aérosols, évitez de heurter les côtés de la plaque. Enfin, passez un tampon sur le bord de la gélose pour éliminer tout excès d'humidité.

➤ **Antibiotique utilisés**

les antibiotiques utilisés dans notre étude sont : les  $\beta$ -lactamines (ampicilline, Amoxicilline + acide clavulanique, céfazoline, céfoxitine, céftriaxone, imipénème, les sulfamides

(Sulfaméthoxazole+ Triméthoprime) ; les quinolones (acide nalidixique, ciprofloxacine) ; les polymyxines (colistine) ; les aminosides (gentamycine, amikacine) ; les nitrofurantoines (furanes). Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité *in vitro* : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I).

Les souches de catégories S : sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans les cas d'un traitement par voie systématique avec la posologie recommandée.

-Les souches de catégories R : sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soit le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.

Les souches de catégorie I : sont celles pour lesquelles de succès thérapeutique est imprévisible, ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus *in vitro* ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique, en effet ces souches peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression *in vitro* est faible.

---

# **Chapitre 5**

## **Résultats et discussion**

---

## 1 Fréquence des ECBU positifs et négatifs selon les prélèvements

Sur les 110 prélèvements d'urine effectués , nous constatons que le taux des ECBU négatifs (88.18 %) est nettement supérieur à celui des ECBU positifs (11.82 %) ; les prélèvements considérés comme positifs ont montré après incubation sur milieux de culture , un développement bactérien remarquable (**Tableau 7**).

Vu qu'on n'a trouvé une seule souche bactérienne du genre recherché parmi les 110 prélèvements , nous avons fait aussi une étude rétrospective sur deux années (2018,2021) et sur le premier semestre de l'année 2022 qui a été basée sur l'interprétation des résultats obtenus.

**Tableau 7: Fréquence des ECBU positifs et négatifs selon les prélèvements totaux**

Prélèvements	Positifs	Négatifs	Total
Nombre	13	97	110
Fréquence (%)	11.82 %	88.18 %	100%

## 2 Examen macroscopique

Plusieurs aspects ont été observés

- Urine claire ou jaune brun : renseigne sur la concentration en eau d'urine
- Urine trouble ou purulente : cet aspect suggère la présence des leucocytes
- Urine sanglante : présence des hématies
- Urine rouge ou verte : la présence de dépôt du à la présence des cristaux. Ou due à l'alimentation ou la prise des médicaments,

## 3 L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

### 3.1 Examen cytologique

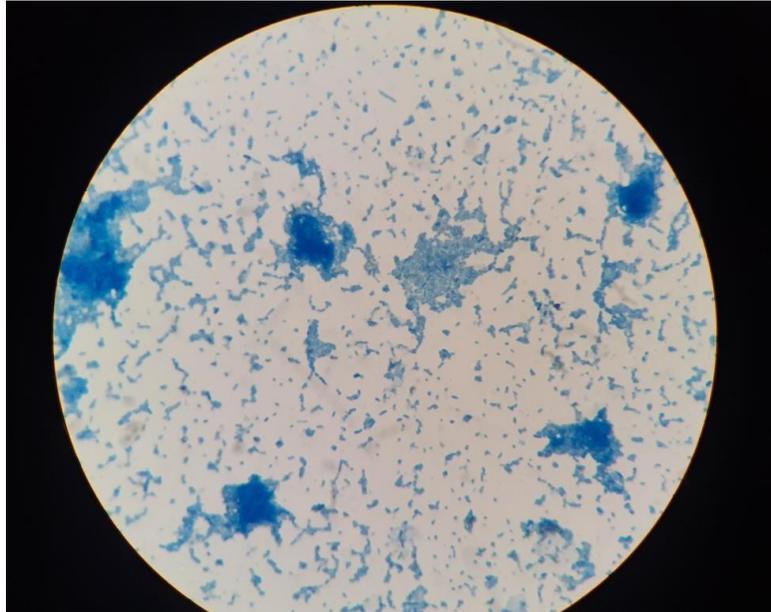
#### 3.1.1 Examen quantitatif

Les différents éléments contenus dans un volume donné de l'urine comme les leucocytes, les hématies et les bactéries ont été observés à l'aide d'un microscope (tableau7) (**Annexe :10**)

### 3.1.2 Examen qualitatif

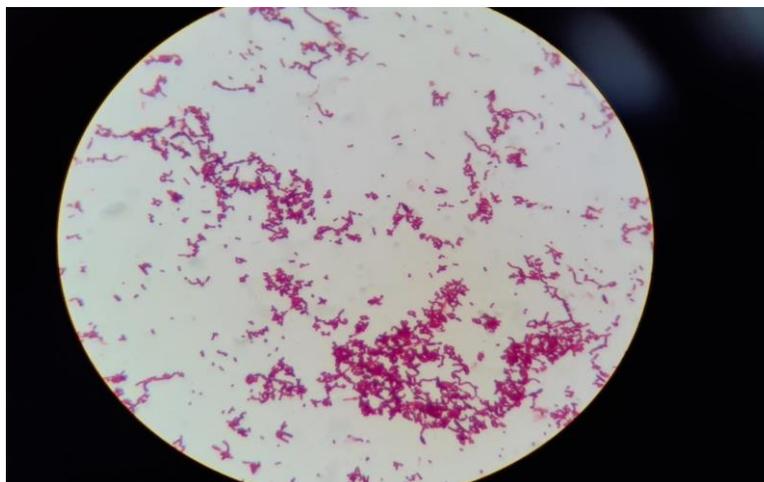
- **Etat frais** : Permet de voir la morphologie et la mobilité, on observe les bactéries, les leucocytes, des hématies, des cristaux.

- **Coloration non différentielle (coloration au bleu de méthylène)** : Les structures colorables apparaissent bleues, cette coloration permet de déterminer la nature de leucocytes et la forme des bactéries.



**Figure 16: Observation microscopique des germes après coloration au bleu de méthylène.**

- **Coloration différentielle (coloration de gram)** : L'examen microscopique après coloration de Gram, nous a permis d'observer des bacilles colorés en rose. Ce sont des bactéries à Gram négatif.



**Figure 17 : Observation microscopique après coloration de Gram**

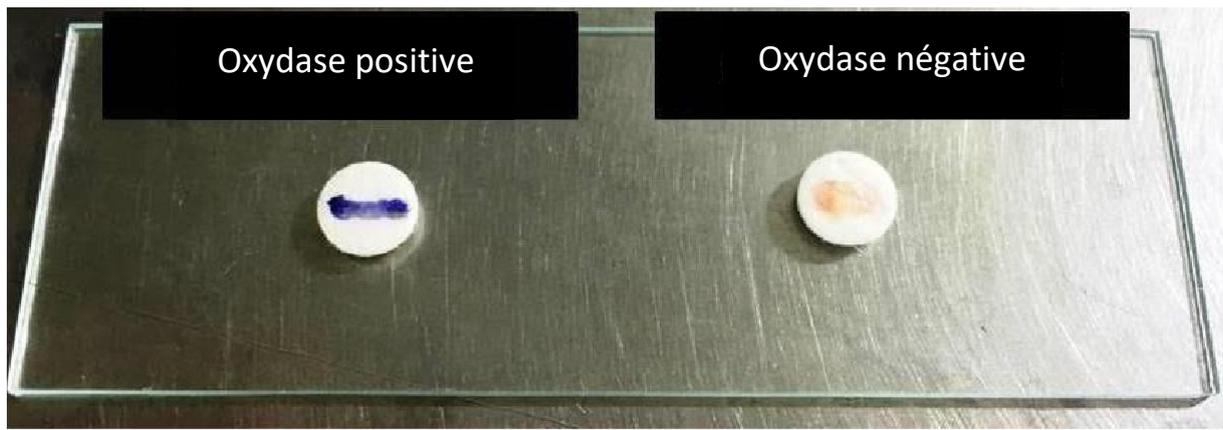
### 3.2 Examen bactériologique

Les caractères culturaux observés sur les boîtes de pétri après 24h d'incubation ;  
*Proteus* :forme des colonies circulaires, lisses, et opaques.

### 4 Résultats d'oxydase et de catalase

L'absence de la coloration violette sur le disque d'oxydase révèle à un résultat négatif ;

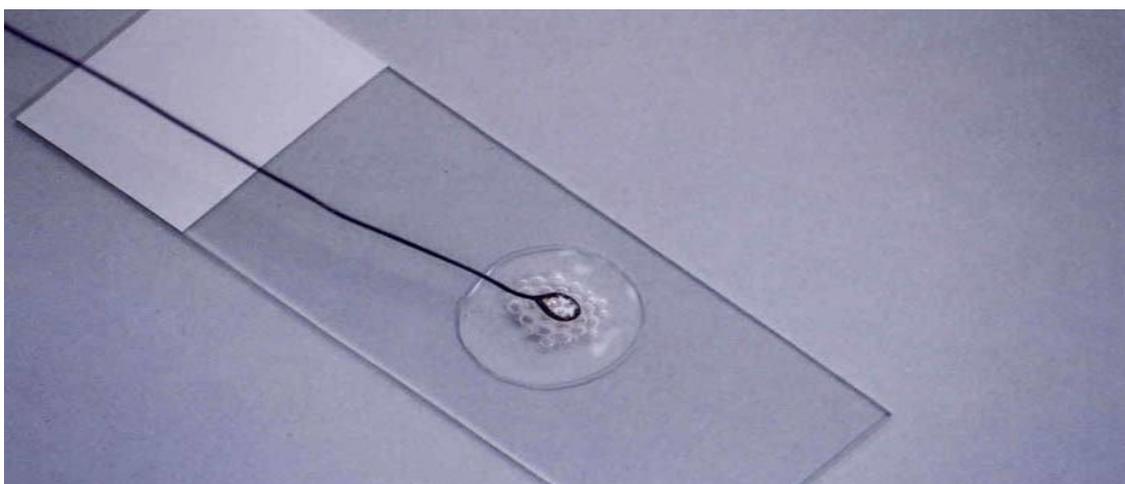
-La souche isolée est oxydase négative.



**Figure 18 : Résultat de test oxydase montrant une oxydase positive (côté gauche ) et une oxydase négative (côté droit)**

Pour la catalase : il y'a l'apparition des bulles d'air, dégagement gazeux de dioxygène.

-La souche testée est catalase positive.



**Figure 19 : Résultat test catalase positive**

## 5 Résultats de la galerie classique

la galerie biochimique nous a permis d'identifier quelques caractères biochimiques des souches étudiés. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 08.

**Tableau 8 : Résultat de la galerie classique de la souche *Proteus mirabilis***

Les caractères biochimiques										
Souches	Glu	Lac	ONPG	Indole	VP	Citrate	Mobilité	urée	TDA	H <sub>2</sub> S
<i>P.mirabilis</i>	+	-	-	+	-	+	++	+	+	+

(+): Test positif ; (-): Test négatif (++) : très mobile

Les résultats exprimés dans le tableau 08 montrent que l'identification biochimique a été réalisée par les tests de la galerie classique pour analyser les principaux caractères biochimiques) des isolats



**Figure 20 : Résultat de la galeries classique**

## 6 Résultats de la galerie API 20E

la compilation des résultats de l'utilisation des substrats par la bactérie à identifier permet de déterminer un code de 7 chiffres qui correspond à une bactérie bien déterminée dans ce cas les résultats mentionne la souche (*Proteus mirabilis*).

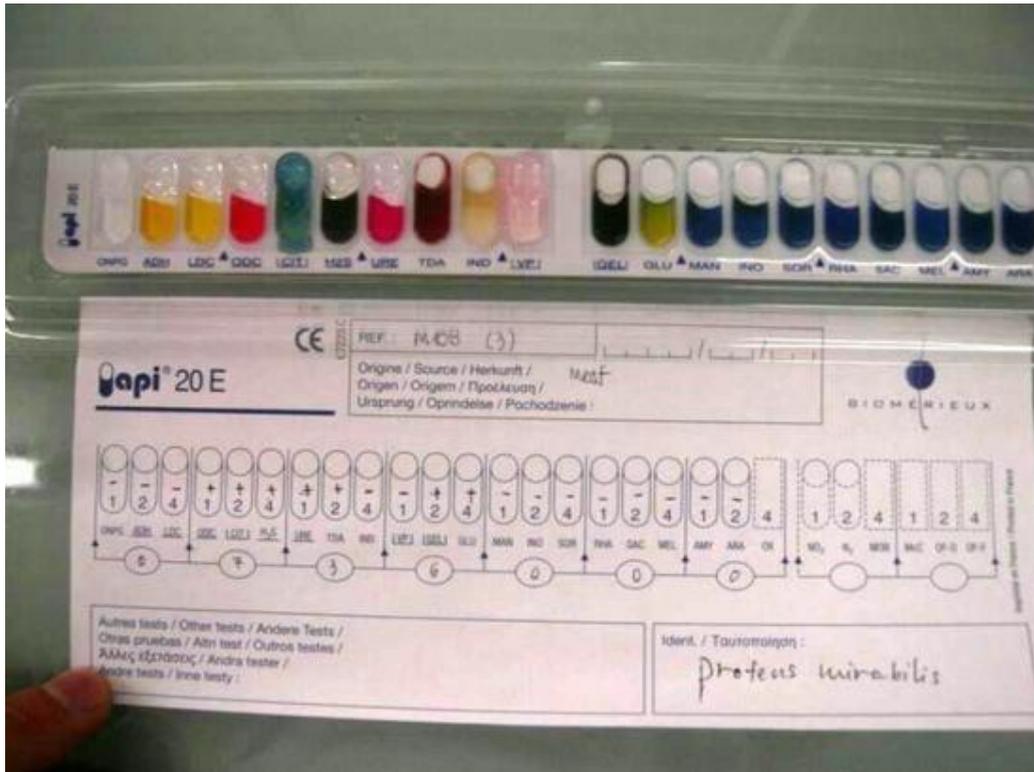


Figure 51: Résultat de la galerie API20E de *P.mirabilis* (pinterest,2022)

Tableau 9: Résultats de la galerie API 20E de *Proteus mirabilis* :

Test	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultats	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
Test	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultats	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

## 7 Répartition des résultats

Dans notre étude rétrospective des deux années précédentes (2018,2021 et du premier semestre de l'année 2022 ) et d'après les résultats obtenus les germes uréase positive identifiés appartiennent au Genre *Proteus* et une seule souche a été identifié durant le stage comme *P. mirabilis*.

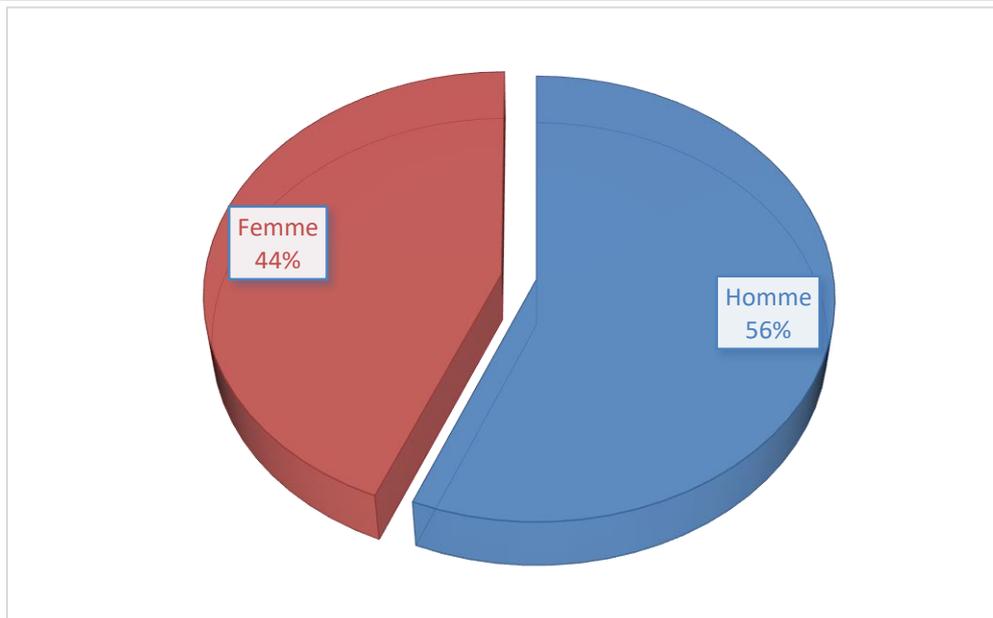
L'infection par ces germes peut être monobactérienne (un seul germe uréasique) ; ou poly microbienne(2 germes uréasique ou un uréasique et l'autre non) , dans nos études les infections sont monobactériennes.

## 7.1 Répartition des résultats selon le sexe

la répartition des résultats selon le sexe est représentée dans le tableau 10 et par la figure 22 respectivement.

**Tableau 10 : Répartition des résultats selon le sexe**

Le sexe	Effectif	Pourcentage
<b>Homme</b>	09	56,25%
<b>Femme</b>	07	43,75%
<b>Total</b>	16	100%



**Figure 62 : Répartition des cas positifs selon le sexe.**

## 7.2 Répartition des cas positifs selon l'âge

la répartition des résultats selon l'âge est représentée dans le tableau 11 et par la figure 23 respectivement.

**Tableau 11: Répartition des résultats selon l'âge.**

Ages	Effectif	pourcentage
<b>Adultes</b>	13	81,25 %
<b>Enfants</b>	02	12,5 %
<b>Bébés</b>	01	6,25 %
<b>Total</b>	16	100 %

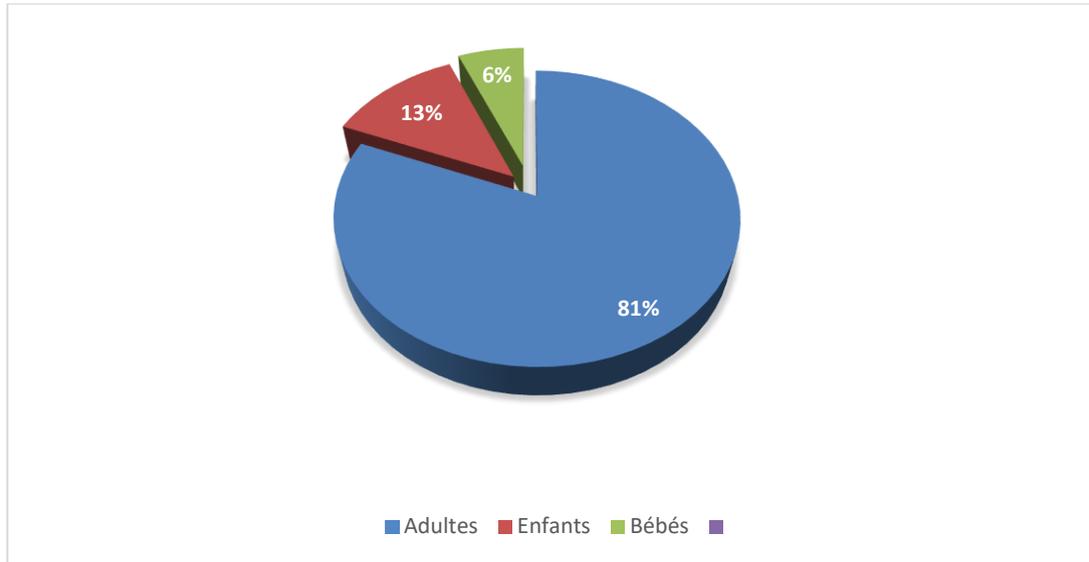


Figure 73: Répartition des cas positifs selon l'âge

### 7.3 Répartition des résultats selon l'année

la répartition des résultats selon l'année est représentée dans le tableau 12 et par la figure 24 respectivement.

Tableau 12: Répartition des résultats selon l'année

Années	Effectif	Pourcentage
2018	04	25 %
2021	09	56,25 %
2022	03	18,75 %
<b>Total</b>	16	100 %

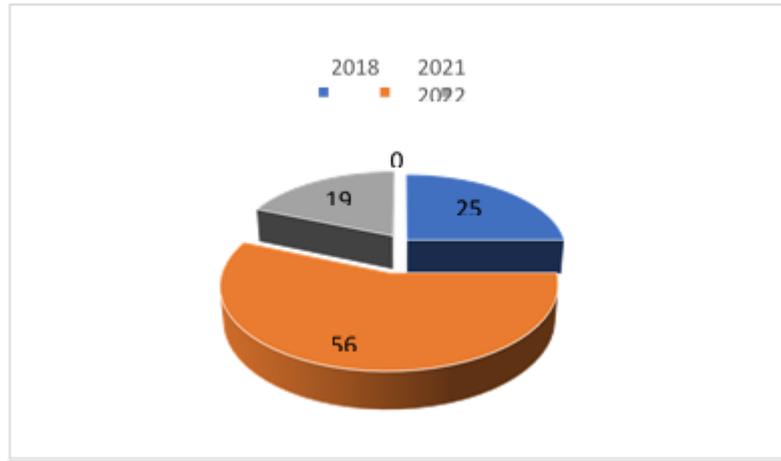


Figure 24: Répartition des cas positifs selon l'année.

#### 7.4 Répartition des résultats selon le mois

La répartition des résultats selon le mois est représentée dans le tableau 13 et par la figure 25 respectivement

Tableau 13: Répartition des résultats selon le mois: Répartition des résultats selon le mois

Mois	Effectif	Pourcentage
janvier	01	6,25 %
Février	02	12,5 %
Mars	05	31,25 %
Avril	01	6,25 %
Mai	01	6,25 %
Juin	01	6,25 %
Juillet	01	6,25 %
Aout	00	00 %
Septembre	01	6,25 %
Octobre	01	6,25 %

<b>Novembre</b>	01	6,25 %
<b>Décembre</b>	01	6,25 %
<b>Total</b>	16	100 %

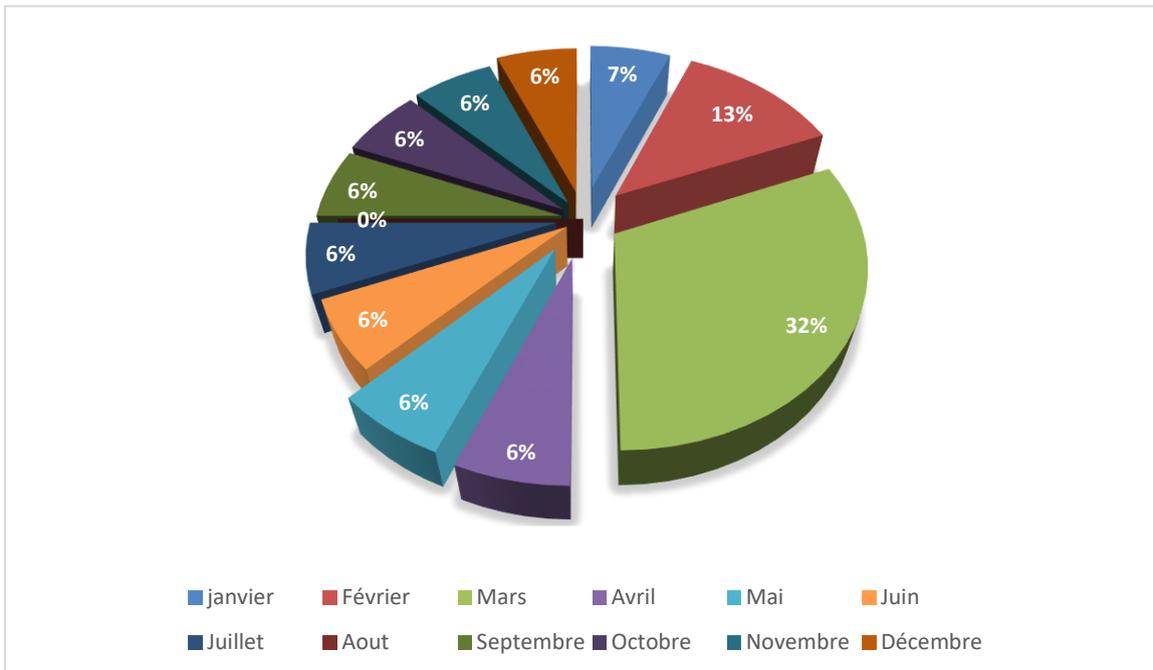


Figure 25: Répartition des cas positifs selon le mois.

Tableau 14: Répartition des résultats selon la pathologie.

La pathologie	Effectif	Pourcentage
<b>Sein</b>	15	93,75 %
<b>Malade</b>	01	6,25 %
<b>Total</b>	16	100 %

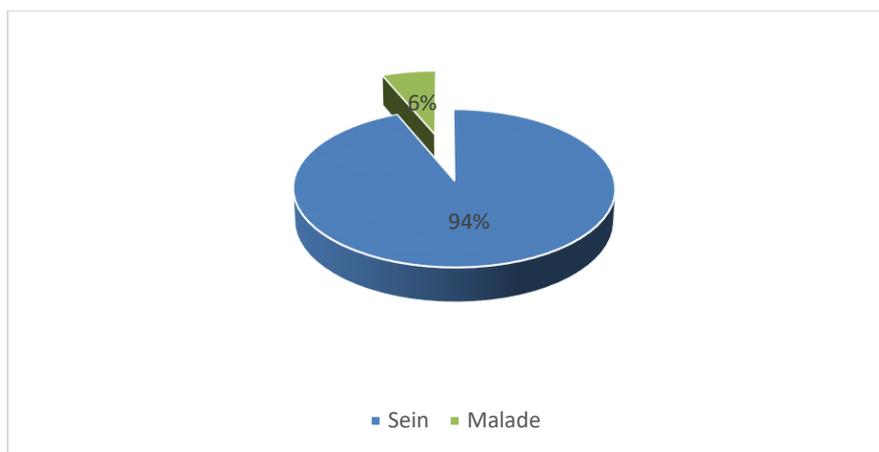


Figure 26 : Répartition des cas positifs selon la pathologie .

## 8 Résultats de l'antibiogramme

Les résultats de l'antibiogramme des patients infectés par *Proteus* sont exprimés dans le tableau suivant : 15 cas obtenus d'après l'étude rétrospective et 1 cas obtenu durant la période du stage.

Après l'étude des 16 cas on a pris en considération 11 cas dont les informations sont représentés dans le tableau 15 ci-dessous.

Tableau 15: Résultats de l'antibiogramme (n=11).

Antibiotique\ CAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Amoxicilline+AC (AMC)	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R
Amoxicilline (AMX)	R	S	S	S	R	S	R	R	R	S	R
Cefazoline(CZ)	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R
Cefoxitine (FOX)	R	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S
Cefotaxime (CTX)	R	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R
Amikacine (AN)	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
Tétracycline (TET)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Acide nalidixique (NAL)	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S
Furanes (FT)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ciprofloxacine (CIP)	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S
Ofloxacin (OFX)	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S
Colistine (CS)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

S :sensible

R :résistant

## 9 Discussion des résultats

Notre étude a pour but principal , l'isolement et l'identification des espèces de *Proteus sp.* isolées à partir des prélèvements urinaires et de déterminer et d'évaluer la résistance antimicrobienne de nos souches.

### 9.1 Discussion des résultats de l'isolement et de l'identification

Les milieux d'isolements spécifiques utilisés Hektoen , BCP , Drigalski , Mac Conkey ont présenté une sélectivité plus ou moins efficace qui a permis à de nombreuses colonies suspectes de se cultiver mais aussi plusieurs autres colonies ont pu croître sur ces milieux .

l'isolements sur ces milieux spécifiques , nous a permis de tester les colonies présomptives prélevées sur ces milieux .

Ainsi la plupart des colonies testés présentaient une oxydase négative , une catalase positive et aussi la coloration de Gram nous a montré des bacilles Gram négatif ;

Ces tests sont donc fondamentaux pour orienter le diagnostic et classer la souche dans la famille d'entérobactéries ; genre *Proteus* , une seule souche chez le patient (n°11) a été complètement identifié comme *Proteus mirabilis*

### 9.2 Discussion des résultats de la répartition des cas

- **Selon le sexe :**

Dans notre étude, nous constatons que 9 isolats (56%) proviennent des hommes alors que 7 isolats(44%) sont isolés chez des femmes :

Les infections principalement les infections urinaires, sont plus fréquentes chez les garçons que les filles prépubères, avec une incidence plus élevée chez les garçons non circoncis. Ceci est le résultat d'anomalies congénitales observées plus souvent chez les hommes dans l'enfance et l'adolescence, lors du vieillissement l'incidence chez l'homme augmente aussi du fait de l'augmentation des maladies .

Par contre , les infections sont 50 fois plus fréquentes chez la femme, en raison de la proximité du méat urinaire et de l'anus (périnée court) et de la brièveté de l'urètre qui de plus est large et s'ouvre lors des rapports sexuels.

Cette répartition entre les sexes est similaire de celle rapportée par Leulmi,2015 qui trouve que 168 isolats (55,26%) proviennent des hommes alors que 136 (44,73%) sont

isolés chez les femmes:l'homme serait, donc, plus vulnérable que la femme à acquérir les infections à *Proteus*.

- **Selon l'âge:**

D'après nos résultats exprimés dans la figure 23 , on constate que toutes les catégories d'âges sont touchées par les infections aux *Proteus* , avec des extrêmes pourcentages chez les adultes avec un taux de (81.25%) . En effet, le taux diminué chez les enfants et les bébés respectivement.

Cela est conforme avec de celui trouvé par Ozumba et al en 1995 où l'infection des voies urinaire par *Proteus* s'est avérée la plus courante à partir de l'âge de 55 ans ; chez l'homme tandis que chez les femmes , ils étaient répartis plus uniformément .

Les personnes âgées sont les plus à risque de développer des infections, peut-être d'une part, à cause d'immuno-sénescence, le déclin du système immunitaire et d'autre part, la prévalence très élevée de comorbidités (patients diabétiques) (Fatnassi,2020)

L'augmentation de l'incidence chez l'homme après l'âge de 50 ans s'explique aussi par le fait de l'augmentation des maladies prostatiques et le cathétérisme .

La fréquence de positivité constatée dans notre étude dans l'année 2018 (25%) , 2021 (56.25%) ,2022 (18.75%) est inférieure à celle obtenue dans les enquêtes de :

Akpabie en 2001, rapporte qu'au service de microbiologie et d'hygiène (France) qui est de (11.1%) équivalente à 229 isolats de *Proteus* durant la période du 1<sup>er</sup> janvier au 31 décembre 1998 (Akpabie,2001)

Mahmat et al (1999-2005) et lors d'une étude rétrospective au CHU de Nimes (France) trouvent 1008 isolats de *Proteus mirabilis* .(Mahamat et al en 2006)

Nos faibles fréquences seraient dûes dans la plupart des cas à la prescription abusive des antibiotiques avant étayement du diagnostic ou bien la bactérie elle-même n'est pas abondante dans notre secteur .

- **Selon le mois**

l'étude de la distribution dans le temps des isolats de notre année de travail (figure 25) montre que

Pendant la période hivernale *Proteus sp.* présente un maximum d'isolats en mars (5 cas soit 31.25% du total de prélèvements dans ce mois)

- Pour les autres mois qui restent *Proteus* présente un nombre moins élevé ( 1 cas/par mois soit 6.25% du total de prélèvements )
- Aucune souche de *Proteus* n'a été isolée au mois d'août ( 0 isolat ).
- Ces résultats ne concordent pas avec ceux obtenus par Leulmi en 2015 avec une augmentation des infections pendant la période hivernale avec un maximum de souches de *P. mirabilis* isolées en décembre 35 souches soit 87,5% du total de prélèvements, et un maximum de souches isolées au mois d'octobre *P. vulgaris* soit 8 souches avec un taux 36,36 % du total, et aucune souche n'a été isolée durant les mois d'avril, de juillet, d'octobre et de novembre. (Leulmi, 2015)

### ➤ Selon la pathologie

d'après l'étude rétrospective on a trouvé 15 cas soit 93 ,75% de patients sains et 1 cas de patient diabétique soit 6,25% , ces résultats corroborent ceux d'Alexandre en 2014 qui a trouvé 36 cas soit 4% patients non diabétiques et 3 cas soit 2% patients diabétiques .(Malmartel, 2014)

ceci peut être expliqué par la rareté de ce genre par rapport aux autres entérobactéries bien que les résultats des malades sont faibles , puisque les personnes immunodéprimées ont un risque accru d'infections graves avec une morbidité et une mortalité plus importante (Québec,2022).

9.3 Interprétation des résultats de profils de résistance aux antibiotiques

Tableau 16 : Résultat profils de résistance aux antibiotiques de 11 souches de *Proteus sp.*

Antibiotiques		R		S	
		cas	%	cas	%
Béta- lactamines	Amoxicilline+AC (AMC)	5	45.46 %	6	54.54 %
	Amoxicilline (AMX)	6	54.54 %	5	45.46
Les céphalosporines	Cefazoline(CZ)	9	81.81 %	2	18.19 %
	Cefoxitine (FOX)	4	36.36 %	7	63.64 %
	Cefotaxime (CTX)	5	45.46 %	6	54.54 %
Aminosides	Amikacine (AN)	1	9.09 %	10	90.91 %
Cyclines	Tétracycline (TET)	11	100 %	0	0 %
Quinolones / Fluoroquinolones	Acide nalidixique (NAL)	2	18.19 %	9	81.81 %
	Ciprofloxacine (CIP)	2	18.19 %	9	81.81 %
	Ofloxacine (OFX)	2	18.19 %	9	81.81 %
	Furanes (FT)	11	100 %	0	0 %
Polymyxines	Colistine (CS)	11	100 %	0	0 %

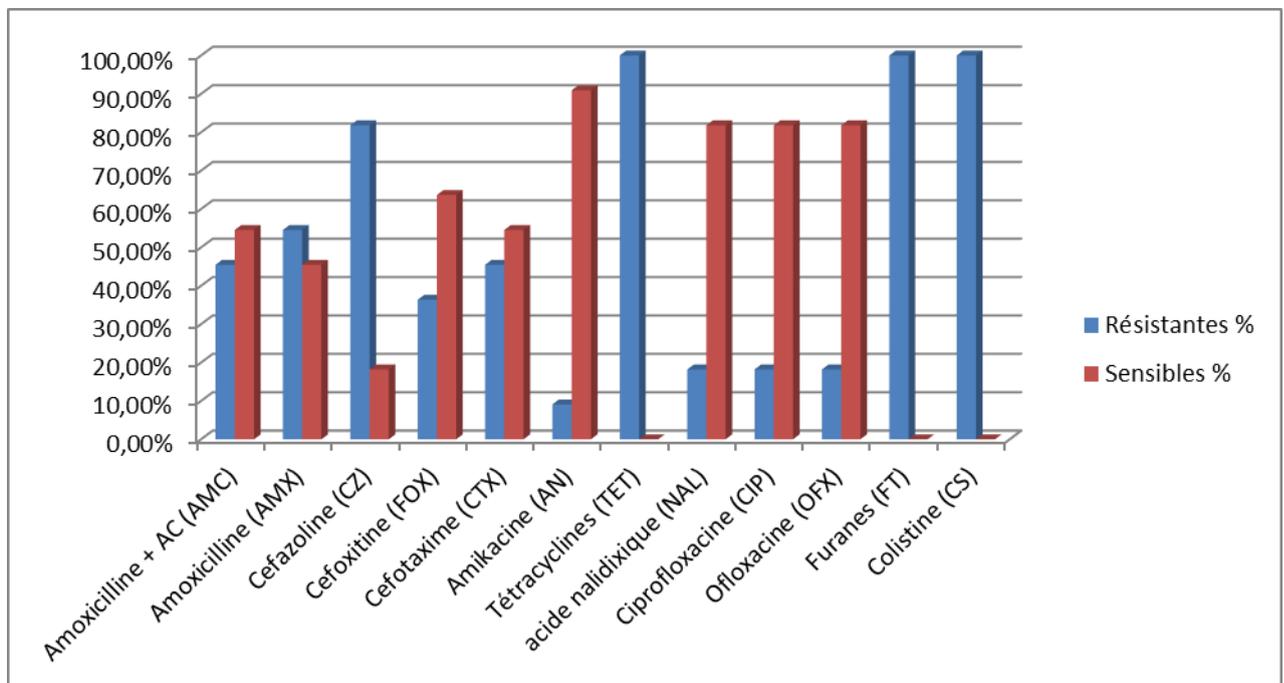


Figure 87: Profil de résistance de *Proteus sp.* aux antibiotiques

En analysant le profil de résistance aux antibiotiques des espèces étudiées .

### **Béta- Lactamines**

Les souches de *Proteus* étudiées présentent les taux de résistance modéré pour Amoxicilline (AMX) 54.54 % , Amoxicilline + ac.clavulanique (AMC) 45 ,46% , c'est généralement dû à l'acquisition d'une Béta lactamase type pénicillinase. Ce pourcentage se rapproche de celui mentionné par Leulmi, en 2015 et qui rapporte que *Proteus* présente un haut niveau de résistance pour les aminopénicillines seules ou associées à l'acide clavulanique.

### **Céphalosporines :**

Pour les Céphalosporines des niveaux de résistance assez importants ont été observés pour la Cefazoline 81.81% ,Cefotaxime 63.64 % et de 54.54 % pour la Cefoxitine qu'ils sont efficaces, en inhibant les *Proteus* ; ceci est conforme avec les études de Bertrand en 2006 qui indique une sensibilité pour la Céfoxitine et la Céftriaxone .Ce qui est dû à l'absence de Céphalosporinase chromosomique.

Nos résultats sont ainsi proches aux résultats de Sissoko,2006 qui a mentionné que les souches de *Proteu smirabilis* ont été sensibles aux céphalosporines avec des taux de résistances respectifs céfoxitine 100 % , ceftazidime 81,8 % , céfotaxime 81,8 % .

### **Aminosides**

On note un taux de résistance de 09.09 % pour l'amikacine ,ce faible taux est dû à la sensibilité naturelle aux aminosides, celle-ci est en voie d'acquérir des résistances à cette molécule . A l'opposé de celui mentionné dans les résultats de Sissoko en 2006 les souches de *Proteus mirabilis* sont sensibles à l'amikacine (100 %).

Cette contradiction des résultats est probablement due aux normes utilisées pour l'interprétation des diamètres de l'antibiogramme.

### **Cyclines, Polymyxines et Furanes**

Les résultats de l'antibiogramme montrent une résistance nette à 100% pour la tétracycline , la colistine (résistance naturelle) et aux furanes.

En effet, les résultats de Jannat et al en 2021 montrent un haut niveau de résistance ; une proportion importante de *Proteus* spp. était multirésistante (90 %) . Ce genre est caractérisé par une résistance naturelle aux polymyxines (CS, PB) ceci est due à l'imperméabilité de la paroi.(Takilt,taleb,2014)

### **Quinolones / Fluroquinolones**

Les souches de *Proteus* présentent un taux de résistance égale à 18.18 % pour les trois antibiotiques utilisés

Selon l'étude de Nabti et al en 2009 l'acide nalidixique presente un taux de 40% .

---

# Conclusion

---

## **Conclusion**

L'épidémiologie bactérienne des infections urinaires n'a pas beaucoup changé au cours de ces dernières années, elle reste dominée par les entérobactéries.

Ces infections des voies urinaires sont au premier rang des infections acquises à l'hôpital, elles sont responsables d'une morbidité importante et représentent une charge économique considérable pour les unités de soins. Différentes méthodes d'isolement et d'identification ont été développées pour la plupart des espèces de *Proteus sp.* cependant, le traitement des patients infectés pose souvent, une problématique en raison du développement de la résistance aux antibiotiques et de l'état immunodéprimé du patient.

Le présent travail porte sur l'étude et l'identification du genre *Proteus* . et l'évaluation du degré de résistance aux antibiotiques de ces germes isolés chez les patients admis au niveau de laboratoire d'hygiène D.S.P.R.H de la wilaya de Constantine cité Mentouri ( Daksi ).

Au terme de ce travail, il en ressort que

- *Proteus sp.* est une des bactéries uréolytiques qui pourraient s'avérer pathogènes et leur fréquence minoritaire par rapport aux autres entérobactéries dans le laboratoire ne signifie pas leur inexistence, elle pourrait s'expliquer par certain nombre d'hypothèses parmi elles, le faible nombre de nos prélèvements.

- Les hommes sont les plus exposés aux infections urinaires avec 56.25% comparés aux femmes avec 43.75%.

La répartition des souches selon l'âge montre que les personnes âgées avec un taux de 81.25 % sont fortement exposées aux infections urinaires en comparant avec les enfants 12.5 % et les bébés 6.25 %.

- Les résultats des antibiogrammes indiquent que les microorganismes isolés durant notre étude sont sensibles à certains antibiotiques mais pas à d'autres, ceci est dû au fait que l'action antimicrobienne dépend du microorganisme lui-même et de l'agent antimicrobien.

- Ces résultats de l'étude du profil de résistance ont permis de constater une résistance élevée de *Proteus* vis-à-vis des antibiotiques testés avec la colistine, la tétracycline, furanes, cefazoline,

- Les antibiotiques de la famille des quinolones / Flouroquinolones et céphalosporines se sont avérés être les médicaments les plus sensibles en inhibant les *Proteus* .

La prescription d'antibiotiques ainsi l'émergence de la bactériorésistance est un problème essentiel de santé publique en Algérie comme à travers le monde. Nous avons également constaté que l'efficacité des antibiotiques décroît au fil du temps.

Les bactéries cumulent les résistances à diverses familles d'antibiotiques et deviennent ainsi des multirésistantes ; Cette évolution conduit à des impasses thérapeutiques. En effet, ces dernières années, une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques a été constatée chez les bacilles à Gram négatif, en particulier chez les *Proteus* .

Les résultats obtenus dans cette étude nous permettront de penser aux perspectives suivantes :

- Etaler notre étude sur une large période avec plusieurs échantillons.
- Tester la résistance des isolats vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques.
- Mettre en place un réseau de surveillance des bactéries résistantes
- Réaliser une étude génotypique avec les techniques de biologie moléculaire (PCR, RFLP...) qui pourrait mieux contribuer à comprendre l'épidémiologie des souches étudiées.
- La prévention demeure le meilleur moyen de lutte contre les infections urinaire et ceci après avoir bien identifiés les facteurs qui favorisent leur apparition , suivre les règles d'hygiène permettant ainsi de réduire d'une manière significative le taux de survenue de ces infections surtout en milieu hospitalier .

---

# Références

---

## Références bibliographiques

A

-**Aquaportail**.Enterobacterie : Definition explication [en ligne](page consulte le 07/03/2022) <https://www.aquaportail.com/definition-2473-enterobacterie.html#:~:text=Ent%C3%A9robact%C3%A9rie%20%3A%20d%C3%A9finition%2C%20explications&text=Les%20ent%C3%A9robact%C3%A9ries%20sont%20des%20bact%C3%A9ries,des%20sols%20et%20des%20eaux>.

-**Akpabie,A.(2001)** .Germes urinaires et leur sensibilité aux antibiotiques en geriatrie,bacteriaisolated frome urine and theirsusceptibility in elderlypatients.Science directe.[en ligne] (page consulte le :26/05/2022).<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0399077X01002475?fbclid=IwAR2o0FAnvhadCYRb5bXE5zBUkhj0yyVzZE3ebjo-PsTW8-tiYtC5aMXf-kM>

-**Astro,Data Bank**.Hauser,Gustav.(19 juillet 2017)[photo].In : Astro, Data Bank. Disponiblesur : [Gustav Hauser, horoscope for birth date 13 July 1856, born in Nördlingen, with Astrodatbankbiography - Astro-Databank](#) page consulté le (02/06/2022)

**Armbruster, C,et al.** (2017).pathogènese de l'infection à *Proteus mirabilis*. ASM Journals [ en ligne ] ,8(1) (page consulté le 03 juin 2022) <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/ecosalplus.ESP-0009-2017>

B

**Biotechnologies au lycée**. Caractères des souches pures d'entérobactéries.(09/02/2016)[tableau].In:Examen cyto bactériologique d'une urine.disponible sur :<[Examen CytoBactériologique d'une Urine \(e-monsite.com\)](#) ( page consulté le23/03/2022)

**-Bernard,X** .résistance associé chez les bacilles à Gram négatif [en ligne].(page consulté le 30/05/2022) disponible sur :[Microsoft PowerPoint - cp6-Bertrand.ppt \(infectiologie.com\)](#)

**-Bourquia,A et al,(1992)**.Profil de l'infection urinaires dans un services de néphrologie.Sante tropicale .[en ligne],8(6), (page consulté le 29/05/2022) [Bourquia: Profil de l'infection urinaire dans un... - Google Scholar](#)

**-Boumessrane,R et Rabhi,S** (2018).Etude et identification de *Yersinia enterocolitica*. Détermination des profils antibiologiques et électrophorétiques de l'ADN totale. Mémoire : microbiologie général et biologie moléculaire des micro-organismes. Algérie : université des frères mentouri Constantine, 119p.

C

**cardot martin,E**. Cibles bactériennes et mécanisme de résistance aux antibiotiques. (06/12/2019). [image]. In : Cibles bactériennes et mécanisme de résistance aux antibiotiques. Disponible sur :<<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques>>.Consulte le 29/05/2022)

**-Cardot Martin,E**. La résistance aux antibiotiques [en ligne] (page consulte le : 19/04/2022).

<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques>

**-Chenost,M et al.(2011)**.utilisation des fourrages grossiers en régions chaudes.Rome.231p.

**-Chekroud.R et Feti.R. (2017)**.Etude du profil bactériologique et de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries responsable des infections urinaires . Mémoire Master spécialité : Hygiène hospitalière et sante .Constantine :Université des frères mentouri,33p.

**-CNRTL.(2012)**.Toute relation biologique dans laquelle selon Vuillemin un être vivant en détruit un autre pour assurer sa propre existence .[en ligne] (page consulte :15/04/2022) <https://www.cnrtl.fr/definition/antibiose>.

D

-**Drzewiecka,D.(2016)**.Importance et rôles de *Proteus spp.* Bactéries dans les milieux naturels. Ecologie microbienne [en ligne],72 (4) (page consulté le11/04 /2022)  
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5080321/#\\_ffn\\_sectitle](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5080321/#_ffn_sectitle)

-**dreamstime**. Cellules épithéliales squamous sous la vue de microscopique.( sans date)[  
Photo] In:dreamstime. Disponible sur: <<https://fr.dreamstime.com/cellules-%C3%A9pith%C3%A9liales-squamous-sous-vue-microscope-image114795723>> (consulté le 03/06/2022)

E

-**Estelle ,B .(2019)**.Face a l'antibioresistance quelles sont les solutions?.[en ligne].(page consulté le 22/04/22) <https://www.sante-sur-le-net.com/antibioresistance-queelles-solutions/>

F

-**Figaro sante**. antibiotiques[en ligne].(page consulté le 10/04/2022)  
<https://sante.lefigaro.fr/fiches/>

- **Falgarone ,Z**.Infection urinaire antibiotiques ,comment l'obtention [en ligne].(page consulté le 26/04/2022) <https://www.sante-sur-le-net.com/antibioresistance-queelles-solutions/>

-**Fanny le quellec**.Chronologie de la découverte des propose vers le développement des résistances bactériennes.(22/06/2015).[Image].In :Bon usage des carbapenemes :mise en place d'une évaluation des pratiques professionnelles comparant deux années de prescription.Disponible sur :<[https://www.researchgate.net/figure/Regions-fonctionnelles-des-quinolones\\_fig5\\_346354893](https://www.researchgate.net/figure/Regions-fonctionnelles-des-quinolones_fig5_346354893)>(Consulte le30/05/2022)

-**France online**.pouvoir pathogène des entérobactéries.(sans date).[tableau]In : microbiologie médicale. Disponible sur : <http://www-microbiologie-medicale.fr>consulté le (09/04/2022)

-**Fornero,L**.Infection urinaire : tout savoir pour le soigner [en ligne].(page consulté le 22/04/2022).

<http://www.qare.fr/sante/infection-urinaire/>

- **Fatnassi,A.(2020).**l'étude de la résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries isolées dedifférents prélèvements pathologiques a l'hôpital el Hakim saadan -Biskra. Mémoire de master : microbiologie appliquée .Biskra : université Mohamed Khider de Biskra ,84p.

-**Faculty,weber,edu.**Catalase test. (Sans date).[Image] In :Faculty,weber,edu .Disponible sur :<  
<https://faculty.weber.edu/kendalbeazer/protectedpage/Web%20photo%20gallery%20and%20images/Staphs/Catalase%20slide%20web.htm>> (page consulté le:01/06/2022)

G

- **Green facts.**Résistance aux antibiotiques:causes conséquences et moyen de la limiter. [en ligne].(page consulté le 26/04/2022) <https://www.sante-sur-le-net.com/antibioresistance-queelles-solutions/>

-**Guessoum,R et Yakhlef, I. (2017).**isolement et étude de *Klebsiella sp.* et *Proteus sp.*,bactéries uréolytiques impliquées dans les infections urinaires.Mémoire Master recherche : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : universitédes frères Mentouri Constantine, 52 p.

Gouvernement du canada.Fiche technique santé - sécurité:Agent Pathogène -*Proteus sp.*[en ligne] (page consulté le (22/04/2022) <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/proteus.html>

**Gastroscan.***Proteus mirabilis.*(sans date).[photo]In:Gastroscan.disponible sur:  
<https://www.gastroscan.ru/handbook/118/3344> (page consulté le 02/06/2022)

H

- **Hamilton, L, Kamm,M,A.,et al. (2018).***Proteus spp* as putative gastro intestinal pathogens.Clinical microbiologie reviews. [En ligne].31(3).(page consulté le 22/03/2022)  
<https://scholar.google.fr/scholar?q=related:yuWih8xJVx4J:scholar.google.com>

I

**-Institut pasteur.** Résistance aux antibiotiques [en ligne].(page consulté le 15/04/2022)

<https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/resistance-aux-antibiotiques>

J

**-Jannat,H., et al .(2021).**identification rapide et différenciation des *Proteus spp.* Par PCR et

RFLP avec leur profil de résistance aux antibiotiques [en ligne],30(2)(page consulté le 31/05/2022)dsiponible sur : <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33830114/>

L

**Livi.**infection urinaires chez l'homme de quoi s'agit-il [en ligne],.(page consultation le 28/04/2021) <https://www.sante-sur-le-net.com/antibioresistance-queelles-solutions/>

**-Icaboyamoroh,Jean.**Regions fonctionelles des quinolones.(11/2013).[Image].In :Resistance bacterienne et phylomolecule antimicrobinnes issues de Morindemorindoides :Disponible sur ;<[https://www.researchgate.net/figure/Regions-fonctionnelles-des-quinolones\\_fig5\\_346354893](https://www.researchgate.net/figure/Regions-fonctionnelles-des-quinolones_fig5_346354893)>(consulté le:15/05/2022)

**-Leulmi,Z.(2015).**Les *Proteus* incriminés dans les infections communautaires et hospitalières:étude moléculaire de la résistance aux antibiotiques [en ligne].Thèse de doctorat :Biotechnologie Microbienne, Génome et Environnement.Constantine :Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Microbiologie 227p.disponible

sur :[https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/notice\\_doctorat.php?num=DBI/115](https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/notice_doctorat.php?num=DBI/115) (page consulté le 08/04/2022)

**-Leulmi,Zaineb.**Classification des antibiotiques qui ciblent la paroi bactérienne .(2015).[tableau]In :notice thèse de doctorat .disponible sur [https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/notice\\_doctorat.php?num=DBI/115](https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/notice_doctorat.php?num=DBI/115) ( page consulté le 15/04/2022)

**-Lohmann., et al.** *Proteus mirabilis* infections conditions of development treatment.

(Sans date).[Photo].In:Prevent and protect. Disponible sur :

[https://1.facebook.com/1.php?u=https%3A%2F%2Fimages.app.goo.gl%2FpXRAUMt5CwaL68hAA%3Ffbclid%3DIwAR2zkO3BHI-yAA3MYqge\\_58ECOG-JkU8k-raeIgiPz\\_f8RL7Av5XAC97sCE&h=AT3NTloOHOCOhfshjXK9pzdff2qQnxrgA9JmQYdo dz e1HBh9xIrMgV\\_YL4HKDsHhONgsxqom0sSmN8JR3rkW2AAe\\_zeoo1LV5GrRIqPIAoOIE](https://1.facebook.com/1.php?u=https%3A%2F%2Fimages.app.goo.gl%2FpXRAUMt5CwaL68hAA%3Ffbclid%3DIwAR2zkO3BHI-yAA3MYqge_58ECOG-JkU8k-raeIgiPz_f8RL7Av5XAC97sCE&h=AT3NTloOHOCOhfshjXK9pzdff2qQnxrgA9JmQYdo dz e1HBh9xIrMgV_YL4HKDsHhONgsxqom0sSmN8JR3rkW2AAe_zeoo1LV5GrRIqPIAoOIE)

[J\\_SeRgL3cCAM5hejxrcq6Zj](#) (Consulté le 19/05/2020)

M

**-Mahamat , J . Laving,N et al .(2006):**Profil de résistance des souches urinaires de *Proteus mirabilis* de 1999 à 2005 au CHU de Nimes;pathologiebacteriologie [en ligne] :54(8-9)(page consulté le 26/05/2022)

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii>

**-Moreau,m-ch , et al .(1973).***Uréolyse par différentes bactéries « in vitro » « in vivo » dans letube digestif de rats « Gnotoxéniques ».influence de l'immunisation.HAL open science [en ligne ]*,13(4) ( page consulté le 18/04/2022) <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00896810/document>

**-Microbiologie clinique.**Antibiogramme, protocole,interprétation[en ligne].(page consulté le 20/05/2022),<https://microbiologie-clinique.com/antibiogramme.html>

**-Microbiologie clinique.**Antibiogramme, protocole,interprétation.(2022).[photo] In : *microbiologie clinique. Disponible sur :*

<https://microbiologie-clinique.com/antibiogramme.html> (page consulté le 01/06/2022)

**-Malek, R, Chohbane ,A.(2020).**Etude epidemiologique des infections urinaires au niveau de la region de geulma.Memoire Master Recherche .Guelma :Microbiologie Appliquee :Universite 8 Mai 1945.26p.

**-Malmartel,A.(2014).**Etude de la variation des resultats des ECBU dans les infections urinaires des patients des diabetiques et non diabetique :une etude transversale observationnelle etanalytique.these recherche :Medecine :Universite paris descartes :47p.

Microbiologie clinique, Cristaux urinaires.(sans date),[photo],nom du site:Microbiologie clinique. Disponible sur:< <https://images.app.goo.gl/irwxBSJEnPXh9R849>  
> ( consulté le 03/06/2022).

## N

- **Nabti ,M. Mimoni ,K (2009)**. Incidence d'Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae*, et *Protueus mirabilis* dans les infections urinaires et leur résistance aux antibiotique. Université Mentouri. Mémoire de diplôme de master

-**Ooreka,Proteus mirabilis**[en ligne] (page consulté le 26/04/2022)  
<https://digestion.ooreka.fr/astuce/voir /571047/ proteus-mirabilis>

-**Ozumba, U, C .,et al.(1995)**.infection des voies urinaires par des espèces de *Proteus* dans unhopital universitaire.pubmed.gov[en ligne],72(1) (page consulté le 27/05/2022)<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7781563/>

## P

**Philippon,A**.espèce étudiant :cours de bactériologie.[en ligne].(page consulté le 23/03/2022).<http://www.microbes-edu.org/etudiant/entero.html>

-**Patrick,B .(1994)**, Bacteriologie, Lavoisier medecine science,112-118p

-**Pinterste**.*Proteus mirabilis* microbiology.(sans date).In :Pinterste.disponible sur  
[https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.pinterest.ch%2Fpin%2F337699672056383631%2F%3Ffbclid%3DIwAR0W092iBZmjc8d28K1nPCPVKvV4EbXv-3DyswcXcm32Dbb5Q-anZLI372w&h=AT3NTloOHOCOhfshjXK9pzdff2qOnxrgA9JmQYdodze1HBh9xIrMgV\\_YL4HKDsHhONgsxqom0sSmN8JR3rkW2AAe\\_zeoo1LV5GrRIqPIAoOIE\\_J\\_SeRgL3cCAM5hejxrcq6Zjw](https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.pinterest.ch%2Fpin%2F337699672056383631%2F%3Ffbclid%3DIwAR0W092iBZmjc8d28K1nPCPVKvV4EbXv-3DyswcXcm32Dbb5Q-anZLI372w&h=AT3NTloOHOCOhfshjXK9pzdff2qOnxrgA9JmQYdodze1HBh9xIrMgV_YL4HKDsHhONgsxqom0sSmN8JR3rkW2AAe_zeoo1LV5GrRIqPIAoOIE_J_SeRgL3cCAM5hejxrcq6Zjw) (page consulté le 2/05/2020)

-**Pinterest**.API20E van een *Proteus mirabilis* .(sans date).[photo]In : pintrest. Disponible sur  
:<https://co.pinterest.com/pin/591027151092510120/>

## Q

-**Québec**.vaccinologie pratique immunodépression[en ligne].(page consulté le26/05 /2022)<https://www.mss.gouv.qc.ca/professionnels/vaccinologie-pratique/immunodepression/>

R

-**Ray, Marie-céline**. Entérobactérie : qu'est-ce que c'est ?.(sans date).[photo]In :Futura santé. Disponible \_\_\_ : <http://www.futura-science.com/santé/definition/medecine-enterobacteries-15432/> Consulté le ( 23 /03 /2022)

-**Rosalski, A., et al.** (1997).Facteurs potentiels de virulence des bacilles *Proteus*.microbiology and molecular biology reviews.[en ligne],61(1),(page consulté le 27/03/2022) disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/epdf/10.1128/membr.61.1.65-89.1997>

- **Rousseau,A.**(2021).Synthèse d'oligomères du peptidoglycane pour l'étude du métabolisme de la paroi bactérienne.[en ligne] Thèse : Biotechnologie. France :Université Grenoble Alpes. Disponible sur : <https://www.theses.fr/26154361X#auteurSoutenu> (page consulté

S

103/06/2022)

-**Sanofi**,l'emergence des resistances aux antibiotiques. [en ligne] (page consulté le 13/04/2021) [antibio-responsable.fr https://www.antibio-responsable.fr](https://www.antibio-responsable.fr)

- **Schultz,E.**(2018).Diffusion d'îlots génomiques et multi résistance aux ATB chez *Proteus mirabilis*. Thèse de doctorat : infectiologie et vaccinologie. Lyon : université François – Rabelais de tours,170p.

[https://1.facebook.com/1.php?u=https%3A%2F%2Fimages.app.goo.gl%2FqrvzaoGPUkQqQhcg6%3Ffbclid%3DIwAR1cZ1sQARJbPv9Wh4UDQ1uYwVL0F4w5skfvxUyzDqD0jjusywySHRZcq0E&h=AT3NTloOHOCOhfshjXK9pzdff2qQnxrgA9JmQYdodze1HBh9xIrMgV\\_YL](https://1.facebook.com/1.php?u=https%3A%2F%2Fimages.app.goo.gl%2FqrvzaoGPUkQqQhcg6%3Ffbclid%3DIwAR1cZ1sQARJbPv9Wh4UDQ1uYwVL0F4w5skfvxUyzDqD0jjusywySHRZcq0E&h=AT3NTloOHOCOhfshjXK9pzdff2qQnxrgA9JmQYdodze1HBh9xIrMgV_YL)

[4HKDsHhONgsxqom0sSmN8JR3rkW2AAe\\_zeoo1LV5GrRIqPIAoOIE\\_J\\_SeRgL3cCAM5h\\_ejxrcq6Zjw](https://www.4HKDsHhONgsxqom0sSmN8JR3rkW2AAe_zeoo1LV5GrRIqPIAoOIE_J_SeRgL3cCAM5h_ejxrcq6Zjw) (Consule le 17/05/2020)

-**Sagar,Aryal**. Biochemical test of *Proteus mirabilis* .(9 février 2021). [Photo].In: Microbenotes. Disponible sur :

-**Sissoko,T.(2006)**.infections urinaires à Bamako : Aspects épidémiologiques , bactériologiques et cliniques .[ en ligne ] .Thèse de doctorat : pharmacie.Mali : Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie , 103p. disponible sur : [Microsoft Word - 06P49 \(keneya.net\)](#)( page consulté le 31/05/2022).

**Saragan,Parsanna** .Test d'oxydase montrant une oxydase positive (côte gauche) et un oxydase négative (coté droit).2022.[Image].In:researchGate. Disponible sur: [https://www.researchgate.net/figure/Oxidase-test-showing-oxidase-positive-left-side-and-oxidase-negative-right-side\\_fig1\\_310314206/amp](https://www.researchgate.net/figure/Oxidase-test-showing-oxidase-positive-left-side-and-oxidase-negative-right-side_fig1_310314206/amp) (page consulté le :01/06/2022)

**Sénior,BW., et al** (1987).Les souches de *Proteus mirabilis* de divers types ont une activité deprotéase IgA.pubmed[en ligne],24(2), (page consulté le 02/06/2022) disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3309325/>

-SVTBELROSE. Observation des cellules sanguines au microscope.(14/02/2011).[photo]In: SVTbelrose.info, Disponible sur:< <https://svtbelrose.info/spip.php?article3> > (Consulté le 03/06/2022).

T

-**Talkit, N .Taleb,K. (2014)**.Profil epidemiologie des infections urinaires avec étude de résistance des bactéries multirésistantes au CHU , "Nedirmohamed" de TIZI OUZOU,memoire master recherche ;Microbiologie appliquée:Mouloud Mammeri de TIZI OUZOU. 61p

V

-**Vidal**. les familles d'antibiotiques .[en ligne](consulté le 03/03/2020) <https://www.vidal.fr/medicaments/utilisation/antibiotiques/familles.html>

-**Veysiére,A-J.(2019).**La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans infections communs sciences pharmaceutiques.146 Rue Léo Saignat :université de bordeaux-collège science de la santé , 105 p. disponible sur :  
<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02432394/document>

W

-**Wainsten,J\_P.**entérobactéries.[en ligne].(page consulté le 23 /03/2022)  
<http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/ent%>

---

# **Annexes**

---

## Annexes

### **Annexe 01 : Caractères biochimiques différentiels des principaux genres et espèces**

#### **Caractères généraux des Grams négatifs**

Ce sont des bacilles à Gram négatifs

- Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles.
- Non sporulés.
- Aérobie anaérobie facultatif.
- Se cultivent sur les milieux ordinaires.
- Fermentent le glucose avec ou sans production de gaz.
- Possèdent une nitrate réductase (réduction des nitrates en nitrites) à l'exception de certaines souches d'*Erwinia*.

Les genres habituellement admis sont :

- *Escherichia, Shigella* ;
- *Salmonella, Citrobacter* ;
- *Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Hafnia* ;
- *Proteus, Providencia* ;
- *Yersinia* ;
- *Erwinia; Pectobacterium*.

#### **Annexe 02: Matériels utilisés au laboratoire**

- Microscope optique ;
- Lames et lamelles ;
- L'huile d'immersion ;
- Pipettes Pasteur ;
- Pipettes graduées ;
- Boîtes de pétri ;
- Fil droit et anse de platine (anse à boucle) ;
- Bec Bunsen ;

- Tubes à vis stériles ;
- Portoirs ;
- Pincés ;
- Coton carde.
- Colorants et réactifs.
- Milieux de culture.
- Etuve réglable à 37°C.
- Réfrigérateur (à 4°C) et centrifugeuse.

### **Annexe 03 : Réactifs**

#### **Réactif de la recherche d'oxydase :**

Disque imprégné d'une solution à 1% de chlorhydrate de Tetraméthylparaphénylène-diamine.

#### **Réactif de Kovacs :**

diméthylamino-4-benzaldéhyde .....	07g/l
Alcool isoamylique .....	75ml
Acide chlorhydrique concentré .....	20ml

#### **Réactif de Voges-Proskauer I et II :**

##### **VP I**

Hydroxyde de Potassium.....	40g/l
Eau... ..	100ml

##### **VP II**

Alpha-naphtol .....	06g/l
Ethanol 95°C.....	100ml

#### **Réactif de GRIESS-ILOSAY pour la recherche des nitrites :**

##### **Nitrate réductase I**

Acide sulfamilique.....	0.8g/l
Acide Acétique 5N .....	100ml

**Nitrate réductase II**

Naphtylamine.....0.5g/l

Acide Acétique 5N .....100ml

(Boumessrane et Rabhi,2018)

**Annexe 04 : Milieux de culture****Milieu gélose nutritive**

Extrait de viande ..... 1,0 g/l

Extrait de levure..... 2,5 g/l

Peptone ..... 5,0 g/l

Chlorure de sodium..... 5, 0 g/l

Agar .....15, 0 g/l

pH ..... 7,0

(Guessoum et Yakhlef,2017)

**Milieu Mueller-Hinton**

Infusion de viande de bœuf.....300 ml\

Peptone de caséine ..... 17,5 g/l

Amidon de maïs ..... 1, 5 g/l

Agar ..... 10g/l

pH ..... 7, 4

(Guessoum et Yakhlef,2017)

**Milieu Hektoen**

Peptone pepsique de viande .....12,0 g

Extrait autolytique de levure .....3,0 g

Lactose .....12,0 g

Saccharose.....12,0g

Salicine .....2,0 g

Sels biliaires.....	9,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Thiosulfate de sodium.....	5,0 g
Citrate ferrique ammoniacal .....	1,5 g
Bleu de bromothymol .....	65 mg
Fuchsine acide .....	40 mg
Agar.....	13,5 g
pH.....	7,6

(Guessoum et Yakhlef, 2017)

#### **Milieu Citrate de Simmons (g/l) : pH = 7**

Sulfate de Magnésium .....	0.2
Phosphate monoammoniaque .....	01
Phosphate dipotassique.....	01
Citrate de sodium.....	02
Chlorure de sodium.....	05
Bleu de bromothymol .....	0.08
Agar... ..	15

(Boumessrane et Rabhi,2018)

#### **Milieu Mannitol Mobilité (g/l) : pH = 7.6 à 7.8**

Peptone trypsique de viande .....	20
Agar. ....	04
Mannitol.....	02
Nitrate de potassium .....	01
Rouge de phénol à 1%.....	04ml

(Boumessrane et Rabhi,2018)

**Bouillon Nitraté (g/l) : pH =7.2**

Peptone de viande .....	10
Extrait de viande .....	05
Chlorure de sodium.....	05
Nitrate de potassium.....	01

**Eau peptonée exempte d'indole (g/l) : pH = 7.2**

Peptone de viande.....	10
Tryptone.....	10
Chlorure de sodium .....	05

(Boumessrane et Rabhi,2018)

**Milieu urée-indole (g/l) : pH = 6.7**

(Boumessrane et Rabhi,2018)

L.Tryptophane .....	03
Phosphate diacide de potassium .....	01
Phosphate monoacide de potassium .....	01
Chlorure de sodium.....	05
Urée.....	20
Alcool à 95° ... ..	10ml
Rouge de phénol en solution à 1% .....	20.5ml
Eau distillée .....	1000ml

(Boumessrane et Rabhi,2018)

**Milieu Mac Conkey (g/l): pH = 7.1**

Péptone .....	20
Lactose .....	10
Sels biliaires n°3... ..	1.5

Cristal violet.....	0.001
Rouge neutre.....	0.05
Chlorure de sodium.....	05
Agar.....	15

(Boumessrane et Rabhi,2018)

### **Le milieu KIA ou TSI :**

#### **L'utilisation du glucose, lactose, production de gaz et H<sub>2</sub>S sur le milieu KIA ou TSI**

Le milieu **KIA** ou **TSI** est utilisé principalement pour orienter l'identification des entérobactéries (bacilles à Gram-). Il permet de permettre en 24 heures les fermentations du glucose, du lactose et du saccharose (pour TSI), la production d'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S) et de gaz provenant de la fermentation du glucose.

Ensemencer le culot du milieu par piqure centrale et la pente en stries serrées, afin d'avoir une culture en nappe avec la souche bactérienne à tester. Ne pas revisser à fond le bouchon du tube. Incuber à 37°C pendant 24 heures. (Guessoum et Yakhlef,2017)

#### **Gélose BCP (Gélose lactosée au bromocresol poupre) :**

Est utilisé pour l'isolement des entérobactéries, il permet de différencier les espèces fermentant le lactose de celles qui ne le fermentent pas. Sa composition en gramme par litre d'eau distillée)

- Péptone.....	5
- Extrait de viandes.....	3
- Lactose.....	10
- Agar.....	12, 5
- Pourpre de bromocrésol.....	0, 025
pH final.....	7

### **Annexe 05: Colorants**

#### **Violet de Gentiane**

Violet de Gentiane.....	01g
-------------------------	-----

---

Ethanol à 90%.....	10ml
Phénol .....	02g
Eau distillée.....	100ml

**Lugol**

Iode .....	01g
Iodure de potassium.....	02g
Eau distillée .....	300ml

**Fuschine**

Fuschine basique.....	01g
Alcool éthylique à 90°... ..	10ml
Phénole .....	05g
Eau distillée.....	10ml

(Boumessrane et Rabhi,2018)

**Annexe 06 :**

**1. L'examen à l'état frais :**

**Technique :**

- 1) Déposer une petite goutte d'eau stérile sur la lame.
- 2) Prélever une fraction de colonies sur gélose
- 3) Faire une suspension homogène dans la goutte d'eau en incorporant progressivement l'inoculum,
- 4) Recouvrir d'une lamelle en évitant d'enfermer des bulles d'air.
- 5) Le liquide ne doit pas déborder (sinon jeter la lame dans une solution désinfectante et recommencer).
- 5) Observer à l'objectif 40x

Après observation, jeter l'état frais dans un bac contenant un désinfectant car les bactéries sont vivantes. Des bactéries sont considérées comme mobiles lorsque des trajets très différents sont observés (déplacement dans toutes les directions). Une bactérie immobile est animée de mouvements d'agitation normaux appelés mouvements browniens, qu'il ne faut pas confondre avec la mobilité. En fonction de la mobilité observée, si elle est présente, on peut préjuger du type de ciliature de la bactérie (monotriche, péritriche..) ce qui oriente sur la bactérie isolée. (Fatnassi,2019). Annex 07 : Dans coloration de gram

**Techniques** : Réactifs : ce sont :

- violet de gentiane phénique aniline potasse ;
- solution iodo-iodurée de lugol fraîchement diluée ;
- alcool a 95 C. Coloration :
- étaler le produit pathologique en couche mince (réalisation du frotti) ;
- sécher et fixer à la chaleur selon;
- le frotti est soumis à : Coloration par le violet de gentiane :
- verser quelques gouttes jusqu'à recouvrir totalement la lame ;
- laisser agir pendant une minute (1 mn). Mordançage :
- rejeter le violet en l'entraînant avec la solution de lugol ;
- attendre 30 secondes ;
- refaire la même opération. Le lugol est un fixateur. Décoloration a l'alcool : - verser quelques gouttes d'alcool ; d'une extrémité de la lame ; pendant 3 à 4 secondes. Rinçage :
- rincer abondamment à l'eau.Recoloration à la fuchsine :
- recouvrir la lame de fuchsine ;
- attendre une minute.Rinçage :
- rincer abondamment à l'eau.Séchage :
- Sécher à la chaleur, au bec bunsen.Observation :
- Observer à l'huile d'immersion au grossissement 10 (Takilt et Taleb ,2014)

## **Annexe 07 : Tests biochimiques**

### La galerie API20 E Technique :

On réunie fond et couvercle d'une boîte d'incubation avec la répartition environ 5ml d'eau distillé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, sans oublié d'inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. En effet, on retire la galerie de son emballage individuel et on la dépose dans la boîte d'incubation, puis on prépare l'inoculum bactérien: une colonie dans 5ml d'eau physiologique, son opacité doit être équivalente à 0,5 McFarland. Pour inoculer la galerie, il faut remplir à l'aide d'une pipette Pasteur les tubes et les cupules des tests CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne, et pour les autres tests; on varemplir uniquement les tubes (et non les cupules) avec la création d'une anaérobiose dans Chapitre 3 Matériel et méthodes 16 les tests: ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leur cupule par l'huile de vaseline stérile. Enfin, on incube à 37 C° ± 1C° pendant 18-24 heures.(Fatnassi,2019)

### Test de nitrate réductase :

Le bouillon nitraté est un bouillon de culture permettant la recherche de l'utilisation de l'ion nitrate par certains micro-organismes, notamment par respiration nitrate.

On met une ou deux gouttes dans du bouillon nitraté cultivé pendant 24h à 37°C.

S'ils sont présents, ils donnent une coloration rose en présence d'acide sulfa0nilique et d' $\alpha$ -Naphtylamine, Ces réactifs portent le nom de réactifs de Griess. (Guessoum, Yakhlef, 2017)

### Annexe 08 :

LABORATOIRE D'HYGIENE DE LA WILAYA  
DE CONSTANTINE DSPRH  
Cité Mentouri (daksi) / 031613666

Constantine le 28/04/2022

FICHE TECHNIQUE E.C.B.U

Nom : [redacted] Prénom : [redacted] Age : [redacted]

Technique de prélèvement :  
recueillir l'urine ( milieu du jet ) du matin dans un tube stérile remis par nos soins après toilette et ramenée  
la directement au laboratoire .

Renseignements cliniques :  
Motifs de demande de l'E.C.B.U Bilan de Griess  
Le patient est-il sondé ? non  
A t-il une pathologie particulière ?  
Est-il sous traitement antibiotique ?

Le médecin traitant [Signature]

**Figure 28: Fiche technique E.C.B.U des patients**

## Annexe 09 : La lecture de la galerie API 20 E

Tableau 17: Tableau de lecture de la galerie API 20 E

Tests	Réaction/enzymes	Résultats négatifs	Résultat positifs
<b>ONPG</b>	Béta-galactosidase	Incolore	Jaune
<b>ADH</b>	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/ orange
<b>LDH</b>	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
<b>ODC</b>	Ornithose décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
<b>CIT</b>	Utilisation du citrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/bleu
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Production d H <sub>2</sub> S	Incolore/grisâtre	Depot noir/fin lisère

<b>URE</b>	Urease	Jaune	Rouge/orange
<b>TDA</b>	Tryptopane désaminase	<b>TDA/immediat</b> Jaune	<b>TDA/immediat</b> Marron- rougeâtre
<b>IND</b>	Production d'idole	<b>James/immediat</b> Jaune Vert-pale/jaune	<b>James/immediat</b> Rose
<b>VP</b>	Production d'acétoïne	<b>VP1/VP2</b> Aucune diffusion	<b>VP1/VP2</b> Diffusion du pigment noir
<b>GEL</b>	Gélatinase	Bleu/bleu-vert	Jaune/jaune gris
<b>GLU</b>	Glucose fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MAN</b>	Mannitol fermentation /oxydase	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>IND</b>	Inositol fermentation d'acétoïne	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SOR</b>	Sorbitol fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>RHA</b>	Rhamnose fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SAC</b>	Sucrose fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MEL</b>	Melibiose fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>AMY</b>	Amygdalin fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>ARA</b>	Arabinose fermentation /oxydase	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>Tests</b>	Réaction/enzymes	Résultats négatifs	Résultat positifs
<b>ONPG</b>	Béta-galactosidase	Incolore	Jaune
<b>ADH</b>	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/ orange
<b>LDH</b>	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange

<b>ODC</b>	Ornithose décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
<b>CIT</b>	Utilisation du citrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/bleu
<b>H2S</b>	Production d H <sub>2</sub> S	Incolore/grisatre	Depot noir/fin lisere
<b>URE</b>	Uréase	Jaune	Rouge/orange
<b>TDA</b>	Tryptopane désaminase	<b>TDA/immediat</b> Jaune	<b>TDA/immediat</b> Marron-rougatre
<b>IND</b>	Production d'idole	<b>James/immediat</b> Jaune Vert-pale/jaune	<b>James/immediat</b> Rose
<b>VP</b>	Production d'acetoine	<b>VP1/VP2</b> Aucune diffesion	<b>VP1/VP2</b> Diffusion du pigment noir
<b>GEL</b>	Gélatinase	Bleu/bleu-vert	Jaune/jaune gris
<b>GLU</b>	Glucose fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MAN</b>	Mannitol fermentation /oxydase	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>IND</b>	Inositol fermentation d'acetoine	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SOR</b>	Sorbitol fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>RHA</b>	Rhamnose fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>SAC</b>	Sucrose fermentation /oxyation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>MEL</b>	Melibiose fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>AMY</b>	Amygdalin fermentation /oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
<b>ARA</b>	Arabinose fermentation /oxydase	Bleu/bleu-vert	Jaune

**Annexe 10:****Examen cytologique :****Examen quantitatif :**

Les différents éléments contenus dans un volume donné de l'urine comme les leucocytes, les hématies et les bactéries ont été observés à l'aide d'un microscope (tableau7)  
.(Guessoum et Yakhlef,2017)

**Tableau 18: Interprétation bactériolo- clinique**

Leucocyturie	Bactériurie	Interprétation et conduite à tenir
< 10 <sup>4</sup>	< 10 <sup>4</sup>	Urine normal, non infectée
< 10 <sup>4</sup>	< 10 <sup>4</sup>	Infection urinaire mono bactérienne
< 10 <sup>4</sup>	<10 <sup>5</sup>	La discordance entre l'absence de réaction cellulaire et l'importance de la bactériurie fait évoquer plusieurs hypothèses : infection débutante ou une infection sur un terrain particulier (immunodéprimé)
< 10 <sup>4</sup>	< 10 <sup>4</sup>	La Leucocyturie sans germes évoque la possibilité d'infection par une bactérie nécessite une recherche spéciale

**Annexe 11 : Bandlettes urinaires****Tableau 19: Résultat obtenus par les bandelettes urinaires. ( Guessoum,Yekhlef,2017)**

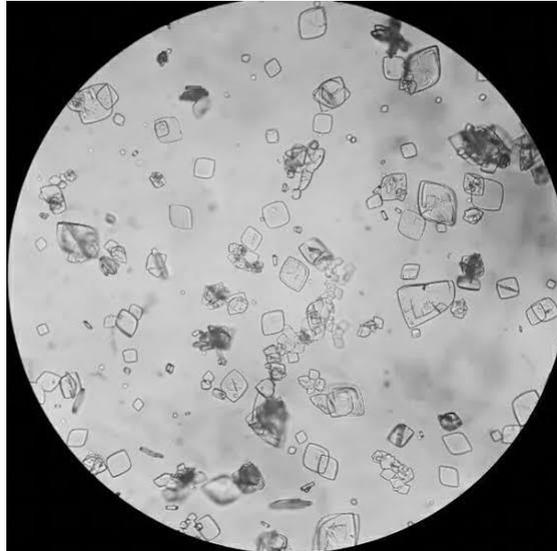
Paramètres	Principe de la méthode	Pathologie
pH	Mise en évidence du pH pour la présence de plusieurs indicateurs chromogènes	En complément d'autres paramètres
Glucose	Mise en évidence du glucose	Dépistage et contrôle de diabète sucré ou d'une hyper glycémie
Sang	Mise en évidence de l'hémoglobine et de la myoglobine pour l'activité de péroxidase et le virage d'un indicateur	Infections graves des reins et des voies urinaires

Protéines	Mise en évidence de l'albumine grâce au virage de couleur d'un indicateur de pH	Symptômes d'une maladie des reins et voies urinaires évaluation de la fonction rénale:insuffisance rénale
Nitrites	Mise en évidence des nitrites obtenue par l'activité des nitrates réductase de certains germes	Infection bactérienne des reins ou des voiesurinaires.
Leucocytes	Mise en évidence de l'activité des estérases dans les leucocytes granulaires	Symptômes d'infection urinaire



**Figure 99: Examen de la bandelette urinaires.**

**Annexe 12 : Résultat de l'examen cytologique.**



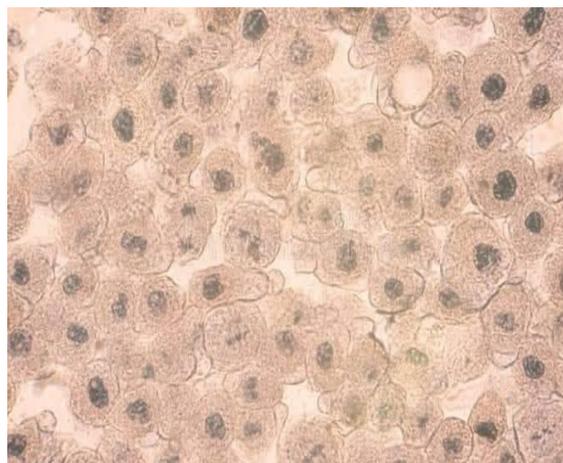
**Figure 30: Observation microscopique des cristaux urinaire.(microbiologie-clinique,2022)**



**Figure 31: Observation microscopique des leucocytes (dreamstime,2022)**



**Figure 32: Observation microscopique des hémocytes (SVTbelrose,2011)**



**Figure 33 : Observation microscopique des cellules épithéliales. (dreamstime,2022)**

**Année universitaire : 2021-2022**

**Présenté par :** Bensaad Aouatef  
Amraoui Raghda Insaf  
Beldjezzar Aya

**Isolement et identification de *Proteus sp.*  
Étude de l'antibiorésistance**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en biologie moléculaire des microorganismes**

**Résumé :**

Notre travail vise la recherche et l'étude de quelques entérobactéries pathogènes ; parmi eux le genre *Proteus sp.* Qui provoque chez la majorité des personnes des infections urinaires ; ces dernières sont les plus connues et les plus dangereuses en constituant un véritable risque qui menace la santé publique vu leurs dominances et leurs difficultés de traitement.

Le diagnostic de l'infection urinaire nécessite un examen cytot bactériologique des urines ECBU. Dans ce contexte on propose d'étudier et d'approfondir notre connaissance de la situation épidémiologique chez *Proteus* en Algérie. Parmi une collection de 16 isolats de *Proteus* durant deux années (2018-2021) et du premier semestre de l'année 2022, une seule souche identifiée comme *P. Mirabilis* ; suivant les tests d'orientations et d'identification biochimiques classiques ; ainsi que la galerie API20E. Par la suite un antibiogramme a été réalisé selon les recommandations du comité du réseau algérien par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur un milieu gélosé.

L'antibiorésistance des entérobactéries aux antibiotiques est une menace à ne pas négliger. Ces bactéries uréolytiques étudiées présentent une résistance nette à 100 % aux cyclines aux polymyxines et aux furanes.

Une résistance importante vis-à-vis des céphalosporines, une résistance modérée aux bêta-lactamines, à l'opposé ces souches présentent un faible taux de résistance aux deux familles aminosides, quinolones/fluroquinolones.

Suite au développement de résistance des bactéries aux différents antibiotiques, des mesures de contrôle périodique et de surveillance doivent d'être suivies pour prévenir ces infections, surtout dans les différentes structures de soin au niveau local et national.

**Mots-clés :** *Proteus sp.*, bactéries uréolytiques, identification, antibiorésistance.

**Laboratoires de recherche :**

Laboratoire d'hygiène de la wilaya de Constantine D.S.P.R.H cité Mentouri (Daksi).

**Encadreur :** Mme Bouzeraib . L (M.A.A -UFM Constantine 1)

**Examineur 01 :** Mme Guergouri . I (M.A.A -UFM Constantine 1)

**Examineur 02 :** Mme Mergoud . L (M.A.A - UFM Constantine 1)