

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 عين تموشنت بلحاج بوشعيب  
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib  
Faculté des Sciences et de Technologie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes  
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

**Antibiorésistance de quelques germes isolés au niveau  
d'un laboratoire d'analyse de la ville d'Ain  
Temouchent**

Présenté Par :

- 1) M<sup>elle</sup> Benyoub Sarra
- 2) M<sup>elle</sup> Boussaid Chaima
- 3) M<sup>elle</sup> Belhadef Abir manel

Devant le jury composé de :

Dr Moghtit Fatima	M C B UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr Benhbib Wassila	M C B UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examineur
Dr Y. Ahmed Ammar. Ouadah	M C B UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

*Année Universitaire 2020/2021*



## ***Remerciement***

*On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Tout d'abord ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Madame OUADAH, On le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre étude.*

*Nos remerciements les plus vifs aux membres de jury Madame Moghtit d'Université d'Ain-Temouchent d'avoir accepté de présider le jury de ce travail. On est très honorés de soumettre ce travail à votre jugement.*

*Un grand merci à Madame Benhbib d'Université d'Ain-Temouchent qui nous a fait le grand honneur d'examiner ce travail. Nous tenons à vous exprimer nos sincères remerciements et profond respect.*

*Nos remerciements s'adresse à Madame Khadija et Madame Souad pour leurs aides et leurs conseils lucides et pertinents, et surtout pour leurs grand soutien moral durant notre période de stage.*

## ***Dédicace***

*A l'aide de dieu tout puissant ce travail vu le jour Je dédié ce travail à :*

*A vous mes chers parents ;*

*Vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessé ni diminué.*

*Votre bonté, votre générosité et vos sacrifices sont sans limite. Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.*

*J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous soyez fière de moi, et que je réalise l'un de vos rêves. Pour tous les encouragements et le réconfort qui n'ont cessé de me servir de guide. J'espère être la fille que vous aviez voulu que je sois, et je m'efforcerai d'être digne de ce que vous auriez souhaité que je sois. Veuillez trouver en ce travail, qui est aussi le vôtre, l'expression de ma profonde reconnaissance, mon respect, mon amour et mon estime.*

*Puisse Dieu vous accorder la santé, le bonheur et une longue vie.*

*A mes frères Abd Samed et Mohamed, ma sœur Lila pour l'affection qui nous lie, pour l'intérêt que vous portez à ma vie, pour vos soutiens, vos compréhensions et vos encouragements tout au long de mes études et également pour les bons moments passés et à venir. A mon trinôme Abir et Chaima, vous n'êtes pas juste un trinôme de travail, vous êtes des amies et des sœurs. Aucun mot ne saurait exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance envers vous, je souhaite tout le bonheur et la réussite dans tes vie. A toute la famille Benyoub et Moussi Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

**Sarra.**

## ***Dédicace***

*D'un grand cœur plein d'affection et de tendresse,*

*Je dédie ce travail à :*

*Mes très chers parents*

*A mon père qui a consacré sa vie à bâtir la mienne*

*A ma mère pour son amour, son soutien moral et sa grande compréhension.*

*A mes deux grands -mères,*

*Un Hommage à ma tante " Fouzia " que je viens de la perdre*

*A tous mes oncles et tantes ,cousins et cousines ,*

*A mes chères sœurs " Asmaa , Soumia "*

*A mon frère " Mohamed "*

*A mon fiancé " Si mohamed "*

*A ma belle-mère " Halima "*

*A mon trinôme " Abir et Sarra "*

*A mes chères amies " Ahlem, Ikram, Malika, Zahra, Radia, Khadija" qui ont toujours cru en moi et m'ont incitée à croire à la réussite*

*A mes adorables Amaria et Amel*

*A mes beaux-frères "Semsar mohamed et Ben Saïd Abdelrahman"*

*A toute personne ayant apporté son aide et ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.*

***Chaimaa.***

## ***Dédicace***

*A l'aide de dieu tout puissant ce travail vu le jour*

*Je dédie ce travail à :*

*A l'homme de ma vie, à toi mon papa, merci de faire partie de ma vie, et de tous ce que tu m'as appris, sans ton soutien et tes encouragements je n'aurais jamais pu arriver là où je suis. Je ne trouverai jamais assez de mots pour t'exprimer mon affection, mon respect et ma considération pour les sacrifices et les efforts que tu as prodigué des longues années pour ma réussite.*

*A ma chère maman, à celle qui m'a mis dans ce monde merci de ta présence si importante pour moi, merci de l'amour qu'à ta manière tu m'as apporté. Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec à chaque fois une attention renouvelée.*

*A mes frères Nadjib et Bilal que dieu vous garde pour moi.*

*À mes sœurs Asma et Amira, qui m'ont toujours soutenu dans différents moments. Je vous remercie d'être toujours là pour moi. Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de réussite.*

*A mes neveux « Khaled et wael » je vous souhaite une vie pleine de bonheur, santé et réussite. Puisse dieu vous protéger. Je vous aime très fort.*

*A mon trinôme, merci pour tous les bons moments ainsi que les moments de désespoir que nous avons partagé. Merci de m'avoir supporté tout au long de ce travail et merci pour vos encouragements.*

*A mes professeurs de l'université, et à toutes les personnes qui m'ont aidée de loin.*

**Abir Menel.**

## Table des matières :

### Liste des abréviations

### Liste des figures

### Liste des tableaux

Introduction .....	1
--------------------	---

## Première partie : Synthèse bibliographique

### I- Bactéries

1- Définition .....	2
2- Anatomie des bactéries .....	2
2.1- Les éléments obligatoires .....	2
2.1.3 - Les ribosomes .....	3
2.1.4 - La membrane cytoplasmique .....	3
2.1.5 -La paroi bactérienne .....	3
2.2 -Les éléments facultatifs .....	4
2.2.1 -Les plasmides .....	4
2.2.2 -La Capsule .....	4
2.2.3 - Les pilis .....	4
2.2.4 -Les flagelle .....	5
2.2.5 -L'endospore .....	5
2.2.6 -les inclusions cytoplasmiques .....	5
2.2.7 -Le Glycocalyx .....	6
3- Classification et caractéristiques des bactéries .....	6

### II- Résistance bactérienne aux antibiotiques.

1-Historique .....	10
2-Généralités sur les antibiotiques .....	11
2.1 -Définition de l'antibiotique .....	11
2.2 - Classification des antibiotiques .....	11
2.3 -Mode d'action des antibiotiques .....	13
2.4 -CMI / CMB .....	14
3 -Résistance bactérienne aux antibiotiques .....	14
3.1 -Définition de la résistance .....	14
4 -Types de résistance .....	14
4.1 -La résistance naturelle .....	14

4.2 -La résistance acquise .....	15
5- les mécanismes de résistance .....	15
5.1 -La résistance chromosomique .....	15
5.2 -La résistance extra-chromosomique .....	15
5.3. Les mécanismes biochimiques de la résistance .....	15
5.3.1. Modification de la cible des antibiotiques .....	16
5.3.1.1. Modification qualitative .....	16
5.3.1.2. Modification quantitative .....	16
5.3.2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique .....	16
5.3.3. L'imperméabilité .....	16
5.3.4. Efflux des antibiotiques .....	17
5.4. Autres types de résistance .....	17
5.4.1. La résistance croisée .....	17
5.4.2. Co-résistance .....	17
5.4.3. Co-sélection .....	17
5.5. Les multirésistance .....	17
6. Facteurs favorisant la résistance aux antibiotiques .....	17

### **III- Prélèvements à visée diagnostique bactériologique**

1 -Introduction .....	18
2 -Conditions et techniques des prélèvements .....	18
2.1 -Moment de prélèvement .....	18
2.2 -Site de prélèvement .....	19
2.5 -Transport .....	19
3- Type de prélèvement .....	19
3-2 Les urines .....	20
3-4 Les sécrétions vaginales .....	20
3-5 Les expectorations bronchiques .....	20
3-6 le sperme .....	20
3-7 les prélèvements de pus .....	21

## Deuxième Partie : Matériels et méthodes

I -Cadre et lieu d'étude .....	22
II -Matériel .....	22
III -Méthodes .....	23
1 -Prélèvement des urines .....	23
1.1-Examen macroscopique .....	23
1.2-Examen microscopique .....	23
1.2.1 -Examen cytologique .....	23
1.2.1.1 -Examen cytologique quantitatif .....	23
1.2.1.2 -Examen cytologique qualitatif .....	24
1.2.2 -Examens bactériologiques .....	25
1.3- Identification biochimique .....	26
1.4 - AntibioGramme .....	28
2 -Prélèvement des selles .....	30
2.1- Technique de prélèvement .....	30
2.2 -Examen macroscopique .....	30
2.3.1- Examen cytologique .....	31
2.3.4 - L'identification biochimique .....	32
2.3.5 - L'antibioGramme .....	32
3 - Prélèvement des sécrétions vaginales .....	32
3.1 -Technique de prélèvement .....	32
3.2 -Examen cytoBactériologique .....	33
3.2.1 –Examen macroscopique .....	33
3.2.2 -Examen microscopique .....	33
3.2.3 -Examen bactériologique .....	34
3.3 - L'identification biochimique : .....	34
3.4 -L' AntibioGramme .....	35
4- Prélèvement de sperme .....	35
4.1 -Technique de prélèvement .....	35
4.2- Examen cytoBactériologique .....	35
4.2.1 -Examen macroscopique .....	35
4.2.2- Examen microscopique .....	36
4.2.2.1- Examen cytologique .....	36

4.2.2.1.1 - Examen direct à l'état frais .....	36
4.2.2.1.2 – Examen direct après coloration .....	36
4.2.2.2 - Examen bactériologique .....	36
4.3 -L'identification biochimique .....	36
4.4 -L'antibiogramme .....	36
5 - Prélèvement de Pus .....	36
5.1 - Technique de Prélèvement .....	36
5.2 -Examen cyto bactériologique .....	37
5.2.1 -Examen macroscopique .....	37
5.2.2 -Examen microscopique .....	37
5.2.2.1 -Examen direct à l'état frais .....	37
5.2.2.2.- Examen direct après coloration .....	37
5.2.2.3 - Examen bactériologique .....	37
5.3 -L'identification biochimique .....	38
5.4 -L'antibiogramme .....	38

### **Troisième Partie : Résultat et discussion**

I- Analyses Bactériologiques .....	39
1 -Répartition des bactéries isolées .....	39
2- Répartition des bactéries isolées en fonction du prélèvement .....	39
II. L'antibiorésistance .....	41
1-La fréquence de l'antibiorésistance de toutes les bactéries isolées .....	41
2- La fréquence de l'antibiorésistance de chaque bactérie .....	42
2.1- Fréquence de l'antibiorésistance de <i>Proteus</i> .....	42
2.2- Fréquence de l'antibiorésistance d' <i>E.coli</i> .....	42
2.3- Fréquence de l'antibiorésistance de <i>Pseudomonas</i> .....	43
2.4- Fréquence de l'antibiorésistance des <i>Staphylocoques</i> .....	43
3- la fréquence de l'antibiorésistance des bactéries en fonction de leurs origines .....	44
4 -La fréquence de multirésistance des bactéries isolées .....	46
Conclusion et recommandation .....	47
Références bibliographique	
Annexes	
Résumé	

## Liste des abréviations :

**ADH** : Arginine dihydrolase

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**AMC** : Amoxicilline

**API** : Appareils et Procédés d'identification

**ARN** : Acide ribonucléique

**ARNr** : L'ARN ribosomique

**A.S** : Aérobie Strict

**ATB** : Antibiotique

**B.antathracis** : Bacillus antathracis

**BGN** : Bactérie Gram Négative

**CG** : Cocci Gram

**CIT** : Assimilation de nitrate

**C.jejuni** : Campylobacter jejuni

**CMI** : Concentration minimal inhibitrice

**CMB** : Concentration minimal bactéricide

**ECBU** : Examen cyto bactériologique des urines

**E.coli** : Escherichia coli

**GEL** : Gélatinasse

**GEN** : Gentamicine

**GN** : Gélose nutritive

**Gram +** : Gram positif

**Gram -** : Gram négatif

**GS** : Gélose au sang

**H<sub>2</sub>S** : Sulfure d'hydrogène

**I** : Intermédiaire

**LCD** : Lysine decarboxylase

**M.gentialium** : Mycoplasma genitalium

**M.homunis** : Mycoplasma hominis

**ml** : millilitre

**mm** : millimètre

**NaCL** : Chlorure de sodium

**nm** : Nanomètre

**ODC** : ornithine décarboxylase

**ONPG** : l'orthonitrophényl-β-galactoside

**Ph** : Potentiel d'hydrogène

**P v** : Prélèvement vaginal

**R** : Résistant

**S** : Sensible

**T°** : Température

**TDA** : tryptophane désaminase

**TSI** : Triple Sugar Iron

**UFC** : Unité formant colonie

**μl** : microlitre

**μm** : Micromètre

**URE** : Uréase

**VP** : Voges-Proskauer

**+** : Résultat positif

**-** : Résultat négatif

## Liste des figures :

<b>Figure 1</b> : Les différentes formes de bactéries.....	2
<b>Figure 2</b> : Ribosome bactérienne.....	3
<b>Figure 3</b> : La paroi des Gram +.....	4
<b>Figure 4</b> : La paroi des Gram –.....	4
<b>Figure 5</b> : Observation microscopique des flagelles.....	5
<b>Figure 6</b> : Les mécanismes d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne.....	13
<b>Figures 7</b> : Les mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne.....	16
<b>Figure 8</b> : Les sédiments urinaires.....	24
<b>Figure 9</b> : Les étapes de la coloration de Gram.....	25
<b>Figure 10</b> : Les tests biochimiques utilisés.....	27
<b>Figure 11</b> : Inoculation de la galerie API 20 E.....	28
<b>Figure 12</b> : La galerie API 20 E.....	28
<b>Figure 13</b> : l'antibiogramme.....	29
<b>Figure 14</b> : Pot contenant un échantillon des selles.....	30
<b>Figure 15</b> : Flacon stérile pour le prélèvement de sperme.....	35
<b>Figure 16</b> : Antibiogramme de prélèvement de pus.....	38
<b>Figure 17</b> : Répartition des bactéries isolées.....	39
<b>Figure 18</b> : Répartition des bactéries en fonction du prélèvement.....	40
<b>Figure 19</b> : Fréquence de l'antibiorésistance de toutes les bactéries isolées.....	41
<b>Figure 20</b> : Fréquence de l'antibiorésistance des souches <i>Proteus</i> .....	42
<b>Figure 21</b> : Fréquence de l'antibiorésistance des souches <i>E coli</i> .....	42
<b>Figure 22</b> : Fréquence de l'antibiorésistance des souches <i>Pseudomonas</i> .....	43
<b>Figure 23</b> : Fréquence de l'antibiorésistance des souches <i>Staphylocoques</i> .....	44
<b>Figure 24</b> : Fréquence de l'antibiorésistance des bactéries en fonction de leurs origines.....	44

**Liste des tableaux :**

<b>Tableau 1 :</b> Classification et caractéristiques culturaux et biochimiques des bactéries.....	6
<b>Tableau 2 :</b> Classification des antibiotiques .....	12
<b>Tableau 3 :</b> Matériels utilisées dans les différents prélèvements .....	22
<b>Tableau 4 :</b> Les antibiotiques utilisés dans notre étude.....	30
<b>Tableau 5 :</b> Tableau récapitulatif.....	31
<b>Tableau 6 :</b> La fréquence de multirésistance des bactéries isolées.....	46

# *Introduction*

### Introduction :

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections et leur développement a révolutionné le traitement de ses maladies. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques. **(Cosgrove et al., 2005 ; Maragakis et al., 2008).**

Ce sont les bactéries et non les êtres humains ou les animaux qui deviennent résistantes, elles peuvent alors provoquer chez l'homme ou l'animal des infections plus difficiles à traiter que celles dues à des bactéries non résistantes.

La prolifération de bactéries résistantes est devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la santé. En devenant insensibles à tout traitement, ces bactéries limitent la gamme d'antibiotiques disponibles en thérapeutique médicale. La situation est d'autant plus alarmante que les infections causées par les bactéries résistantes entraînent souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité. L'acquisition de ces multiples résistances a engendré une perte d'efficacité de l'antibiothérapie pour finalement conduire à une impasse thérapeutique **(Guinoiseau, 2010).**

L'apparition de résistance antimicrobienne dans les bactéries commensales est une indication de l'émergence de souches bactériennes résistantes dans la communauté **(Kijima-Tanaka et al, 2003).**

Une surveillance régulière de la résistance de ces bactéries, au niveau des laboratoires, est nécessaire dans le cadre de la stratégie de détection précoce de la résistance aux antimicrobiens dans la communauté. **(Goodyear, 2002).**

Dans le but d'avoir de nouvelles données épidémiologiques concernant l'antibiorésistance des germes isolés dans le laboratoire de la région d'Ain-Temouchent nous avons tenté de :

- Avoir un état de lieu sur les bactéries isolées au niveau d'un laboratoire d'analyses microbiologiques provenant de différents types de prélèvements
- Etudier leur profil de résistance vis-à-vis quelques antibiotiques

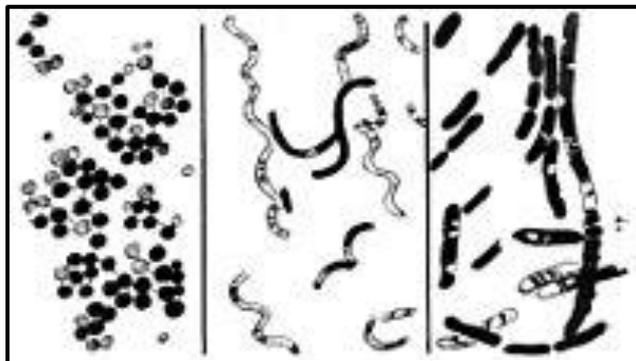
*Synthèse*  
*Bibliographique*

## I- Bactéries

### 1- Définition :

Une bactérie est un micro-organisme unicellulaire classée parmi les procaryotes (**Charles N et Jean L.V, 2005**). Le matériel génétique est présent dans le cytoplasme sous forme d'un chromosome unique circulaire. Elle se reproduit par scissiparité : chaque division bactérienne donne naissance à deux bactéries filles identiques, elle est capable d'échanger du matériel et d'acquérir ainsi de nouveaux caractères (**Egan AJF et Vollmer W, 2013**). La taille d'une bactérie varie entre 1 à 10  $\mu\text{m}$ . elle est également dépourvue d'appareil mitotique n'a pas de mitochondrie, pas de réticulum endoplasmique et pas d'appareil de golgi ne possèdent qu'un seul chromosome et qui sont dépourvues de membrane nucléaire par contre la plupart des bactéries possède un constituant qui leur est spécifique : le peptidoglycane (**ROUGIER, 2010**). Les bactéries sont des organismes de formes variées :

- Bactéries de formes arrondies ou coque isolées, en chaînette ou en amas (nombre variable de cellules), exemple: Staphylocoques, Streptocoques ...
- Bactéries de forme allongée ou bacilles isolés, en chaînette ou amas, de longueur et diamètre variables, exemple : *E. coli*, *Salmonella*, *Bacillus* etc....
- Bactéries de forme spiralée, spirilles ou spirochètes comme : *C.jejuni* (**Lansing M et al. , 2018**)



**Figure 1** : les différentes formes de bactéries (**Pearson Scott Foresman, 2007**)

### 2- Anatomie des bactéries :

La bactérie est une cellule vivante constituée d'éléments obligatoires et d'éléments facultatifs

#### 2.1- Les éléments obligatoires :

##### 2.1.1- Le chromosome :

le chromosome bactérien est unique et le plus souvent circulaire. L'ADN bi caténaire forme

Un nécloïde : chromosome sur enroulé associé à des protéines. De l'ARN et des enzymes.

### 2.1.2 - Le cytoplasme :

Délimité par la membrane cytoplasmique. C'est un sorte de gel à ph neutre contenant de l'eau et des ribosomes, des substances de réserve, des organites spécialisés ; chromatophores et vacuoles à gaz (Yahiaoui, 2014)

### 2.1.3 - Les ribosomes :

Sont des corpuscules arrondis minuscules, d'environ 0,025 µm de diamètre, faits d'ARNr la sous unité ribosomique 30S contient l'ARNr 16S, tandis que la sous unité 50S contient les ARNr 5S et 23S), et de protéines. Ils sont le site de synthèses des protéines (Lansing M *et al.*, 2018)

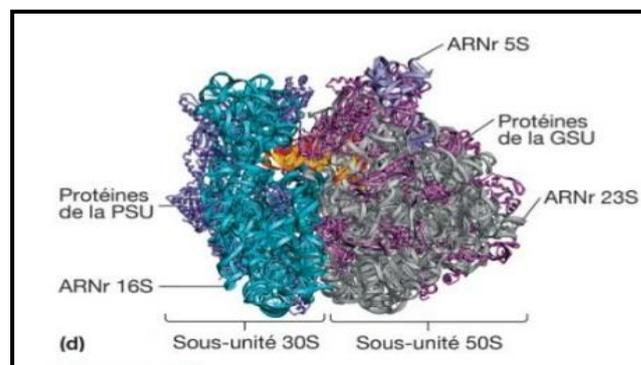


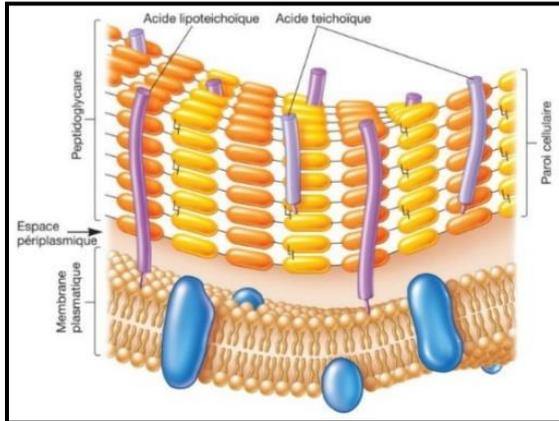
Figure 2 : ribosome bactérienne (Lansing M *et al.*, 2018)

### 2.1.4 - La membrane cytoplasmique :

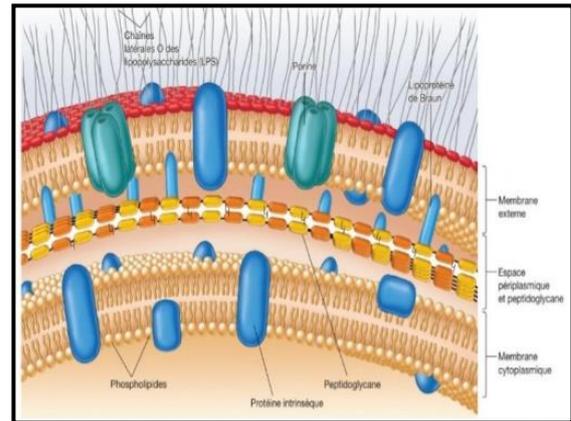
Est constituée d'une double couche de molécules lipidiques de 7 à 8 nm d'épaisseur, dans laquelle des molécules de protéines sont partiellement ou complètement enchâssées. Elle contrôle les échanges de la cellule avec l'extérieur et contient le système de transport des électrons, impliqué dans la production de l'énergie (Charles N Jean L.V, 2005)

### 2.1.5 -La paroi bactérienne :

Une couche externe solide qui détermine la forme cellulaire. Elle constitue également une barrière de perméabilité qui exclut diverses molécules. D'une espèce bactérienne à l'autre on peut distinguer deux grandes classes de bactéries à l'aide de coloration de Gram, elles seront alors soit Gram positives (violet) ou Gram négatives (rose). Structurellement c'est l'épaisseur du peptidoglycane qui permet ce classement : si le peptidoglycane est épais et riche, il s'agit d'une bactérie Gram +, s'il est fin et composé en majorité de lipide, il s'agit d'une bactérie Gram -. (Vincent B *et al.*, 2013)



**Figure 3 : la paroi des Gram +**  
(Lansing M *et al.* ,2018)



**Figure 4 : la paroi des Gram -**  
(Lansing M *et al.* ,2018)

## 2.2 -Les éléments facultatifs :

### 2.2.1 -Les plasmides :

Les plasmides sont de petits éléments, circulaires constituant du matériel génétique extra-chromosomique. Ils sont autonomes et capables de se répliquer indépendamment du chromosome. Les plasmides ne sont pas nécessaires à la bactérie lorsque celle-ci se multiplie dans un milieu favorable ils peuvent porter des gènes donnant à la bactérie un avantage sélectif dans un environnement hostile ex ; des gènes intervenant dans son pouvoir pathogène (Charles N et Jean L V, 2005)

### 2.2.2 -La Capsule :

Est une structure extérieure non constante entourant la bactérie. Sa constitution est le plus souvent polysaccharidique, parfois protéique. Elle n'est pas colorable par les techniques bactériologiques. La capsule peut jouer un rôle important dans le pouvoir pathogène de certaines bactéries en empêchant la phagocytose (Charles N et Jean. L V, 2005)

### 2.2.3 - Les pilis :

De nombreuses bactéries possèdent de courts appendices minces et fins comme les cheveux habituellement appelées fimbriae ou pili (Lansing M *et al.* ,2018). Différencies-en :

- Pili commun : un élément qui permet aux bactéries d'adhérer aux supports.
- Pili sexuel : creux à l'intérieur, capable de transmettre l'ADN bactérien par conjugaison.

#### 2.2.4 -Les flagelle :

Ils sont des filaments de plusieurs microns de long (12-20  $\mu\text{m}$ ) pour une 20 nm de diamètre.

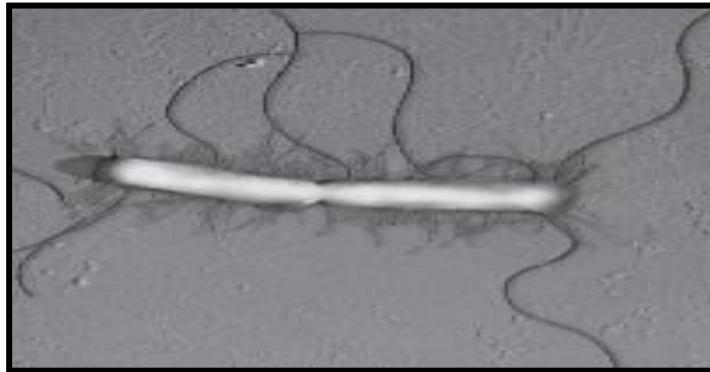
Ils sont constitués de sous unités répétitives d'une même protéine : la flagelline qui assurent le mouvement de la bactérie. Les flagelles sont des structures rigides et minces on a plusieurs types de bactéries selon le type de flagelle :

Les bactéries monotriches ; ont un seul flagelle situé à une extrémité.

Les bactéries amphitriches ; ont un seul flagelle à chaque extrémité.

Les bactéries lophotriches ; ont une touffe de flagelles à une ou deux extrémités

Les bactéries péritriches ; ont des flagelles distribués sur tous les flagelles (Lansing M *et al* ,2018)



**Figure 5 :** observation microscopique des flagelles  
(Lansing M *et al.* ,2018)

#### 2.2.5 -L'endospore :

Certaines bactéries à Gram+ capable de différencier en spores lorsqu'elles se trouvent dans des conditions défavorable. Les spores résistent à la chaleur elles peuvent persister très longtemps dans l'environnement leurs résistance explique les températures qu'il faut atteindre au cours des procédures de stérilisation, dans des conditions favorables les spores redonnant naissance à des formes végétatives (Charles N et Jean .LV, 2005).

#### 2.2.6 -les inclusions cytoplasmiques :

Les inclusions sont fréquentes dans toutes les cellules elles sont dues à l'accumulation de substances organiques ou inorganiques, elles prennent la forme de granules de cristaux ou de globules certains sont entourées d'une gaine ou membrane faite d'une monocouche de protéines ou d'un mélange de protéine et de phospholipides, certains inclusions sont entourées par des invaginations de la membrane cytoplasmique. Nombre de ces corpuscules servent de réserves ex : des composants carbonés ou réduisent la pression osmotique (Lansing M *et al.* ,2018).

2.2.7 -Le Glycocalyx :

C'est un feutrage, un ensemble de fibres qui entoure les bactéries et qui permet d'adhérer à un support (ROUGIER, 2010)

3- Classification et caractéristiques des bactéries :

Tableau 1 : Classification et caractéristiques culturaux et biochimiques des bactéries  
(Classification des bactéries, s.d.)

Type de Bactérie	Genre	Espèce	Les caractères culturaux	Les caractères biochimiques
Cocci Gram+ (CG+)	-Streptocoque	- <i>Streptocoque beta hémolytique</i> - <i>Streptocoque alpha hémolytique</i> - <i>S.pneumoniae</i>	Germe exigeant (GS) <u>En bouillon</u> : dépôt au fond en mise de pain. <u>Sur gélose au sang</u> : colonies grisâtres en grain de semoule entouré de zone d'hémolyse $\beta$ total (Streptocoque A,C, G) autres streptocoque hémolyse $\alpha$ partiel ou pas d'hémolyse	Métabolise anaérobique/ aérobie tolérant. Catalase(-).
	-Staphylocoque	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Staphylocoque à coagulase négative</i>	Aéro-anaérobie facultatif, croit sur milieu ordinaire GN, et sur milieu Chapman.	Catalase (+), Oxydase (-) <i>S.aureus</i> coagulase (+)
	-Entérocoque	- <i>Enterococcus faecalis</i> - <i>Enterococcus faecium</i>	Pousse sur milieu ordinaire, hostile (NaCl6.5%, bile)	- <i>Enterococcus faecalis</i> Catalase + Glucose +

<p><b>Cocci Gram- (CG-)</b></p>	<p><i>Neisseria</i></p>	<p><i>-N.meningitidis</i> <i>-N.gonorrhoeae</i></p>	<p>Aérobie strict chimio hétérotrophe Bactéries fragiles et sensibles aux variations de T° nécessite de milieux de culture riches tels la gélose au sang cuit</p>	<p>Oxydase + Les différentes espèces peuvent être différenciables entre elles par des tests d'utilisation des sucres : selon leur capacité à utiliser le glucose, le maltose le lactose, saccharose</p>
<p><b>Bacille à Gram+</b></p>	<p><i>Bacillus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Erysipelothrix</i></p>	<p><i>B.anthraxis</i> <i>clostridium</i> <i>Tropheryme whippelii</i></p>	<p><i>Bacillus</i> Aérobie strict anaérobie facultatif</p>	<p>Catalase +</p>
<p><b>Bacille à Gram-</b></p>	<p><i>Listeria</i> <i>Tropheryme</i>  <i>Entérobactéries</i></p>	<p><i>-Escherichia coli</i> <i>-Citrobacter</i> <i>-Enterobacter</i> <i>-Klebsiella</i> <i>-Proteus</i> <i>-Salmonelle typhimurium</i> <i>-Serratia</i> <i>-Shigella sonnei</i> <i>-Yersinia enterocolitica</i></p>	<p>Ex : <i>Escherichia coli</i> Aéro-anaérobie facultatif, pousse sur milieu ordinaire, donne des colonies lisses arrondies, à bord régulier.</p>	<p>Ex : <i>Escherichia coli</i> Lactose (+), ONPG(+), indole(+), Urée (-), Citrate (-)</p>
		<p><i>-Bartonella</i> <i>-Branhamella</i> <i>-Brucella abortus</i></p>	<p>Aérobie, anaérobie facultatif</p>	<p>Oxydase + : <i>-Haemophils</i></p>

	<p><i>Coccobacilles</i></p> <p><i>Vibrion</i></p> <p><i>Pseudomonas</i></p>	<p><i>Campylobacter</i></p> <p>-<i>Coxiella</i></p> <p>-<i>Francisella</i></p> <p>-<i>Haemophils</i></p> <p>-<i>Helicobacter</i></p> <p>-<i>Kingella</i></p> <p>-<i>Legionella</i></p> <p>-<i>Moraxella catarrhalis</i></p> <p>-<i>Rickettsia</i></p> <p>-<i>Vibrio cholerae</i></p> <p>-<i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p>Des milieux d'isolements comme Muller-Hinton ou Cetrimide, sont aussi utilisés</p>	<p>Elle est de type respiratoire A.S</p> <p>ADH+</p> <p>Uréase+</p> <p>Indole-</p> <p>TDA-</p>
<p><b>Bactérie anaérobie Gram+</b></p>	<p>-<i>Actinomyces</i></p> <p>-<i>Clostridium</i></p> <p>-<i>Peptococcus</i></p> <p><i>Propionibacterium</i></p>	<p><i>Clostridium botulinum</i></p> <p>-<i>C.difficile</i></p> <p>-<i>C.perfringens</i></p> <p>-<i>C.tetani</i></p> <p><i>Propionibacterium acnes</i></p>	<p>Les bactéries anaérobies strictes ne peuvent se cultiver qu'en l'absence de l'air ambiant ou de l'oxygène</p>	<p>-<i>Actinomyces</i></p> <p>Catalase-</p> <p>-</p> <p><i>Propionibacterium acnes</i></p> <p>Catalase-</p> <p>Nitrate réductase +</p> <p>Indole+</p>
<p><b>Bactérie anaérobie Gram-</b></p>	<p>-<i>Bacteroides</i></p> <p>-<i>Eubacterium</i></p> <p>-<i>Fusobacterium</i></p> <p><i>Porphyromonas</i></p> <p>-<i>Prevotella</i></p>	<p>-<i>Bacteroides ureolyticus</i></p> <p>-<i>Prevotella melanogenica</i></p>	<p>Leur culture est difficile et lente le plus souvent obtenue sur des milieux gélosés au sang avec quelquefois des aspects caractéristiques tels pigmentation noire <i>Prevotella melanogenica</i> ou colonies incrustées <i>Bacteroides ureolyticus</i></p>	





## 2-Généralités sur les antibiotiques :

### 2.1 -Définition de l'antibiotique :

Les antibiotiques sont définis comme toute substance chimique produite par des micro-organismes qui ont la capacité d'inhiber ou même de détruire les bactéries et autres micro-organismes. Le spectre d'activité antibactérienne d'un antibiotique détermine son pedigree. Suite Les antibiotiques détruisent différents types de bactéries, plus la gamme est large (Mehdi, 2008)

### 2.2 - Classification des antibiotiques :

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

- **Origine** : élaboré par un organisme (naturel), 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. Elle nous permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$  lactamines, aminosides, tétracyclines...etc.) Nous adopterons la classification selon :

#### -le mode d'action :

Chaque antibiotique possède sa particularité : son champ d'action, sa voie d'utilisation, son mode d'emploi et sa fréquence d'utilisation, ses contre-indications et finalement ses effets indésirables. (**Médicament / antibiotiques / famille, s. d.**)

**Tableau 2 : Classification des antibiotiques**

Famille	Antibiotique	Spectre d'activité	Indications
LES BÊTA-LACTAMINES (Le Minor, 1989)	Pénicilline Amoxicilline Oxacilline	Cocci Gram+ Cocci Gram- Bacille Gram+	traiter les infections des poumons, des bronches, du nez, de la gorge ou des oreilles, de l'appareil digestif ou urinaire, des voies génitales
LES AMINOSIDES (Le MINOR L., VERON M YALAD et al. ,2001)	Amikacine Gentamicine Tobramycine	agissant sur les bacilles Gram-aérobies et sur les bacilles à Gram +	traitement maladies infectieuses, notamment urinaires et rénales
PHENICOLES (YALA D et al. ,2001)	Choramphénicol Thiamphénicol	traversent facilement la membrane externe et interne des bactéries à Gram-	Grossesse Maladies hépatiques Nourrisson
LES TETRACYCLINES (POYART C 2006)	Oxytetracycline Chlortetracycline Doxycycline	bonne activité pour la majorité des bacilles à Gram+ aérobies et anaérobies sporulés	indiqués dans diverses maladies infectieuses respiratoires et génitales et dans le traitement de l'acné
GLYCOPEPTIDES (RABAUD C et MAY T 2007)	La vancomycine La teicoplanine	Bactéries à Gram+ et essentiellement : Staphylocoques Entérocoques	Elles sont indiquées dans les infections sévères
MACROLIDES (LECLERCQ.R.2008)	Azithromycine Erythromycine Clarithromycine	Cocci à Gram + Cocci à Gram- Bacilles à Gram+	sont administrés dans les infections du nez, de la gorge, des oreilles
QUINOLONES (FRANCOIS.J et al. ,2003)	Lévofoxacine Gatifloxacine Norfloxacine	Entérobactéries les Gram+ sont résistants	souvent utilisées en cas de cystite (infection des voies urinaires)
SULFAMIDES (ADAM F, 2003)	Sulfapyridine Sulfafurazole Sulfaméthoxydiazine	Bactéries à Gram -	traiter les maladies inflammatoires

### 2.3 -Mode d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent avoir 2 modes d'action :

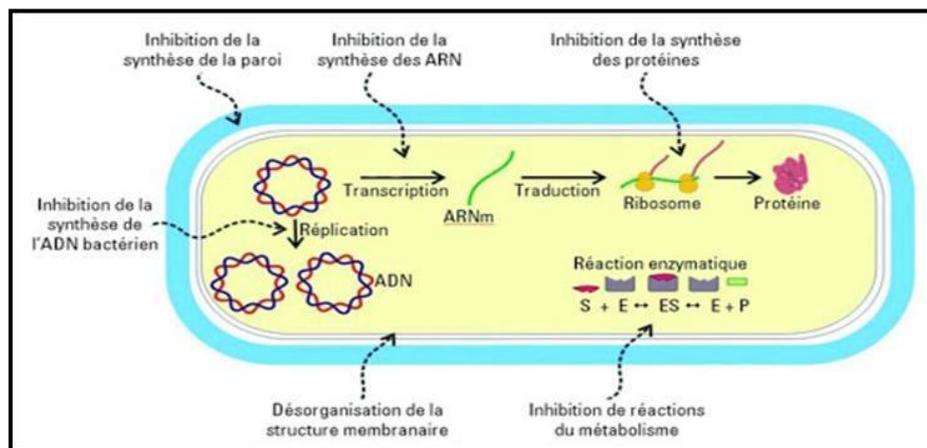
-Action bactériostatique : Ils empêchent le développement des bactéries ou germes microbien.

-Action bactéricide : Ils détruisent les bactéries ou les germes microbiens en agissant sur la paroi, l'ADN, la membrane cytoplasmique et la synthèse de protéines.

-L'antibiotique à action bactéricide : comme par exemple les  $\beta$ -lactamines, peuvent agir de deux manières :

- Ciblée ; ce qui signifie qu'il ne détruit qu'un seul type de bactéries
- A large spectre ; c'est à dire qu'il détruit plusieurs types de bactéries

Les antibiotiques agissent, en général, à un niveau précis des structures bactériennes Ils peuvent agir sur 5 parties différentes de la structure de la bactérie (Mehdi S, 2008).



**Figure 6 :** Les mécanismes d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne (Sekhri A, 2011)

**A. Action Sur la paroi bactérienne :** Inhibition de la synthèse de la paroi. Ces antibiotiques agissent sur des cibles extérieures de la cellule (paroi) et ne sont actifs que sur les germes qui sont en croissance.

**B. Action Sur la membrane cytoplasmique :** S'insèrent entre les molécules de phospholipides et désorganisent la membrane.

**C. Action sur le ribosome bactérien :** L'altération intracellulaire de la sous-unité ribosomale ciblée dans la bactérie.

**D. Action sur l'ADN :** Blocage d'ouverture d'ADN et empêcher son dédoublement.

#### **2.4 -CMI / CMB :**

**La CMI :** Ou concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible d'une souche bactérienne après  $20 \pm 4$  heures de culture à  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique et permet de déterminer si une souche est sensible ou résistante à l'antibiotique testé.

**La CMB :** Ou concentration minimale bactéricide est la plus petite concentration d'antibiotique laissant 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après  $20 \pm 4$  heures de culture à  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique (Avorn J.L. et al., 2001).

### **3 -Résistance bactérienne aux antibiotiques :**

#### **3.1 -Définition de la résistance :**

La résistance aux antibiotiques est la résistance d'une bactérie à un antibiotique auquel il était jusque-là sensible. En peut dire aussi qu'une souche est résistante lorsqu'elle est capable de supporter une concentration d'antibiotiques beaucoup plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Avorn J.L. et al., 2001).

#### **4 -Types de résistance :**

##### **4.1 -La résistance naturelle :**

La résistance naturelle ou résistance intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne et partagée par toutes les souches de cette espèce. Elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce (Lozeniewski A et al., 2010)

#### **4.2 -La résistance acquise :**

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible ce qui implique des changements génétiques (**Yamashita SK et al. ,2000**) les gènes de résistance peuvent être acquis par transformation de gènes étrangers provenant de chromosomes d'autres espèces ou être porté par des éléments mobiles (Transposons, Plasmides, intégrons). (**Vaubourdolle M ,2007**).

#### **5- Les mécanismes de résistance :**

##### **5.1 -La résistance chromosomique :**

Elle est due à une mutation spontanée, rare, stable, et transmissible uniquement de façon verticale. L'antibiotique n'est pas l'agent mutagène il sélectionne seulement les mutants devenus résistants (**Rowe- Magnus D et al. ,2001**).

##### **5.2 -La résistance extra-chromosomique :**

Les résistances acquises de nature extra-chromosomique sont dues aux infections des bactéries par des fragments d'ADN exogène. La grande majorité des cas de résistance bactérienne en clinique provient de l'acquisition d'information génétique exogène (ADN étranger face à la bactérie réceptrice). (**Duranda B, 2014**)

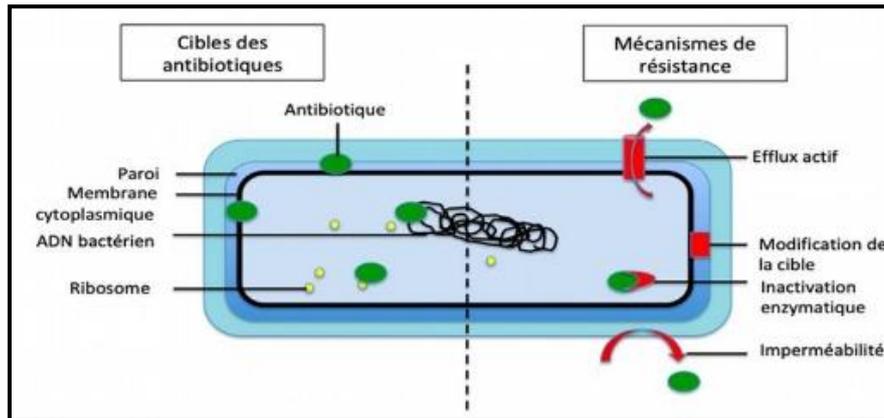
**Les plasmides :** sont des molécules d'ADN indépendantes du chromosome et capables d'autoréplication. Ils peuvent être présents en multi copies chez une bactérie.

**Les transposons :** sont des séquences d'ADN capables de promouvoir leur propre transfert d'un élément génétique (chromosome ou plasmide) à un autre (on parle de « gènes sauteurs »). Ils peuvent s'intégrer au chromosome de la bactérie. (**Duranda B, 2014**)

**Les intégrons :** sont des systèmes de capture de plasmides, de transposons ou de cassettes géniques. (**Duranda B, 2014**)

##### **5.3. Les mécanismes biochimiques de la résistance :**

Les bactéries disposent de certains mécanismes par lesquels elles deviennent résistantes aux agents chimio thérapeutiques



**Figures 7 :** Les mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne (Duckett S ,1999)

### 5.3.1. Modification de la cible des antibiotiques :

#### 5.3.1.1. Modification qualitative :

Cette modification qualitative peut se faire par mutation de la cible de l'antibiotique, en effet les antibiotiques se fixent sur une cible précise dans la cellule : paroi, ribosome... Une modification consécutive à une mutation ou par des protéines empêchant l'accès au site de fixation suffit souvent à empêcher la liaison (Muyleart A et Mainil J, 2012).

#### 3.2.1.2. Modification quantitative :

Cette modification se traduit par la surexpression de la cible de l'antibiotique. En produisant davantage de la macromolécule ciblée, la bactérie arrive à maintenir suffisamment d'activité biologique pour se développer (Faures S, 2010)

### 5.3.2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

De nombreuses souches résistantes fabriquent une enzyme qui modifie ou qui clive la molécule d'antibiotique, la rendant inactive. (Guarda Bassi et Couvalin, 2006).

### 5.3.3. L'imperméabilité :

C'est un phénomène observé chez les BGN, la structure même de leur paroi et plus particulièrement la présence d'éléments dédiés à la pénétration de molécules exogènes est à l'origine de ce type de résistance. (Perméabilité membranaire, 2003).

#### **5.3.4. Efflux des antibiotiques :**

Les bactéries sont capables d'éliminer les antibiotiques par pompage actif hors de la cellule, qui efflue les composés toxiques au dehors (**Yamashita SK *et al*, s. d.**).

#### **5.4. Autres types de résistance :**

##### **5.4.1. La résistance croisée :**

La résistance croisée est un phénomène par lequel une bactérie qui a développé une résistance à l'un des antibiotiques d'une classe devient aussi résistante aux autres membres de la même classe. Cela même si elle n'a jamais été exposée à ces molécules (**Stéphanie F, 2009**).

##### **5.4.2. Co-résistance :**

Plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome (**Stéphanie F, 2009**).

##### **5.4.3. Co-sélection :**

Elle définit la sélection d'un microorganisme résistant à un antibiotique lors d'une exposition à un autre agent antimicrobien. Elle résulte des phénomènes de résistance croisée et Co-résistance. (**Bridges J. De Jong W, s. d.**)

#### **5.5. Les multirésistance :**

La définition de la multirésistance est difficile à établir. Il est couramment admis de parler de multirésistance lorsqu'une souche bactérienne a accumulé sur son profil sauvage de sensibilité aux antibiotiques des résistances acquises telles que la souche ne reste sensible qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (**Cattoen C, 2015**).

#### **6. Facteurs favorisant la résistance aux antibiotiques :**

a) Pression sélective exercée par l'utilisation d'ATB : favorise la survie des bactéries ayant acquis une résistance aux ATB et qui transmettent à leur descendance leurs gènes de résistance (**Leekha S *et al*, s. d.**).

b) Sur utilisation des antibiotiques : les pratiques médicales inappropriées sont souvent favorisées par l'incertitude du diagnostic, le manque d'opportunité pour le suivi des patients, le manque de connaissances sur les traitements optimaux (Knobler SI. *et al.* , s. d.) Certains comportements des patients notamment l'automédication et le non-respect des

traitements recommandés.

d) Utilisation massive des antibiotiques en milieu hospitalier.

### **III -Prélèvements à visée diagnostique bactériologique :**

#### **1 -Introduction :**

Un examen ou analyse microbiologique permet de rechercher et identifier les bactéries en cause dans une infection (**Examen bactériologique, s. d.**). La prise en charge correcte d'un échantillon biologique au cours des étapes successives de pré analytique, analytique et poste analytique, allant de la prescription jusqu'à l'intégration des résultats dans le processus diagnostique est cruciale (**Baron EJ, 2013**).

Le médecin doit cerner lui-même le but de sa demande, et le faire savoir au mieux au microbiologiste pour que ce dernier puisse orienter sa démarche analytique et déterminer :

- Quel germe doit être isolé.
- Quels milieux ensemercer, dans quelle atmosphère, et à quelle température.
- Parmi les germes isolés, lesquels rapporter.
- Si l'antibiogramme est nécessaire.

#### **2 -Conditions et techniques des prélèvements :**

Le laboratoire fournit des conseils techniques pour l'échantillonnage qui décrivent leurs conditions de récolte et de transport (**Fracheboud D et Chuard C, 2007**).

##### **2.1 -Moment de prélèvement :**

Un prélèvement à visée diagnostique devrait dans toute la mesure du possible être fait avant l'initiation de l'antibiothérapie. En cas de réponse insuffisante au traitement initier une analyse préliminaire, le diagnostic doit être revu et un traitement peut être envisagé en cas de tableau clinique menaçant. Dans le cas contraire, des modalités spécifiques telles qu'une incubation prolongée ou des études de biologie moléculaire doivent être considérées comme adaptées au laboratoire. (**Myriam M et Sara D, 2016**).

## **2.2 -Site de prélèvement :**

Les bons sites sont situés à proximité du foyer infectieux ou de ses extensions secondaires.

Un échantillon de diagnostic est utile si l'analyse affecte les attitudes face au traitement.

Il présente un risque minimal de contamination et est invasif.

Il s'agit du sang, du liquide interne obtenu à partir d'une ponction percutanée ou muqueuse décontaminée, d'un abcès perforé, d'un prélèvement profond obtenu chirurgicalement, d'un liquide de lavage broncho-alvéolaire, d'urine provenant du milieu de prélèvement ou par sonde urique. En revanche, l'échantillon est de peu d'utilité s'il reflète une colonisation plutôt que l'agent pathogène. C'est le cas, à l'exception de l'analyse épidémiologiques et de rares exception, des prélèvements obtenus par voies non invasive, à partir de la peau, muqueuse et des palies (**Bowler PG et al. ,2001**).

## **2.3 -Quantité :**

Le volume de l'échantillon doit être suffisant. Une quantité insuffisante peut donner lieu à un résultat faussement négatif (**Lali S, 2013**)

## **2.4 -Méthode :**

Le recueil s'effectue selon les règles d'asepsie. La méthode du prélèvement et son conditionnement garantissent la viabilité des bactéries, et l'absence de dégradation de molécules spécifiques. Pour le diagnostic d'infection, les frottis sont généralement interdits, en raison de leur faible volume et de risque de dessèchement et de contamination (**Myriam M et Sara D, 2016**).

## **2.5 -Transport :**

Les prélèvements microbiologiques sont potentiellement infectieux et donc dangereux, les contenants doivent être transportés dans des sacs plastiques étanches pour limiter le risque d'accident en cas de fuite et pour isoler la prescription et/ou la fiche de renseignements. Les délais de transport recommandés par le laboratoire doivent être respectés (**Manuel de prélèvement, 2013**).

## **3- Type de prélèvement :**

### **3-1 Le sang :**

Une hémoculture est un test bactériologique qui recherche la présence des germes dans le sang. Il faut savoir que le sang est normalement stérile, lorsque des agents infectieux travers le sang à plusieurs reprises ils peuvent provoquer des infections graves.

Il est très important que cet échantillon soit prélevé dans des conditions stériles, pour éviter toute contamination. **(L'équipe Passe port santé, 2015).**

### **3-2 Les urines :**

Le recueil des urines est une étape essentielle dans le diagnostic d'une infection urinaire. **(Djennane F *et al.*, 2009).**

L'examen cytbactériologique des urines consiste à recueillir l'urine vésicale en évitant toute contamination par la flore commensale au moment de la miction. Il est primordial d'effectuer cet examen avant toute mise en place de traitement, afin d'en assurer au mieux l'interprétation. **(Nicolas E, 2014).**

### **3-3 Les selles :**

L'examen de selles dures est inapproprié pour le diagnostic de gastroentérite, selon le contexte clinique, les entéropathogènes causant des diarrhées aiguës acquises en communauté. **(Guerrant, 2001).**

### **3-4 Les sécrétions vaginales :**

De nombreuses bactéries sont susceptibles de déclencher une vaginite. Les prélèvements vaginaux sont réalisés chez les femmes en cas de manifestations cliniques qui peuvent indiquer une infection au niveau de l'appareil génital. Le traitement se fonde sur l'antibiogramme, mais il peut être nécessaire de corriger un déséquilibre de la flore vaginale en cas de récurrence. **(Bohbot J M, 2008).**

### **3-5 Les expectorations bronchiques :**

L'expectoration est certes rapide et non invasive, mais souvent contaminée par la flore buccale ; il faut prélever les expectorations le matin à jeun ou loin des repas et après hygiène buccale. Le patient doit émettre un crachat en toussant formant dans un pot de recueil stérile **(Myriam M et Sara D, 2016).**

### **3-6 le sperme :**

La Spermoculture est un examen bactériologique du sperme. En analysant le sperme et en le mettant « en culture » on pourra rechercher notamment une bactérie, un champignon, un virus. Cependant les germes retrouvés dans le sperme sont le plus souvent d'origine externe (contamination des mains par exemple ou du partenaire lors de rapports sexuels). **(Spermoculture, s. d.)**

**3-7 les prélèvements de pus :**

C'est un prélèvement au niveau d'une cavité naturelle ou d'une plaie, le prélèvement sera effectué avant la mise en route du traitement antibiotique sinon il faut signaler le traitement en cours.

La formation d'un pus est l'un des signes les plus caractéristiques d'une infection (**Zidani Z et Sonia B, 2019**).

# *Matériel et méthode*

**I -Cadre et lieu d'étude :**

Notre étude a été réalisée au niveau d'un laboratoire privé d'analyse médicale au niveau de la ville d'Ain-Temouchent.

Cette étude s'est étalée de 2 mois allant de mois d'Avril jusqu'au mois de juin.

Les bactéries étudiées provenaient de différents types de prélèvements (urines, selles, pus, sperme, et perte vaginale) effectués ou reçus au niveau du laboratoire.

**II -Matériel :**

Les instruments et appareillage, les réactifs ainsi que les milieux de culture utilisée au cours de la réalisation de ce travail sont résumés dans le **Tableau 3**.

**Tableau 3 :** Matériels utilisées dans les différents prélèvements

Instruments et appareillage	Réactifs	Milieux de culture
<ul style="list-style-type: none"> <li>-Tubes stériles</li> <li>-Gants stériles</li> <li>-Pincés métallique</li> <li>-Portoirs</li> <li>-Boites pétri</li> <li>-Micropipettes</li> <li>-Pipettes pasteur</li> <li>-Compresse stérile</li> <li>-Lames et lamelles</li> <li>-Spéculum</li> <li>-écouvillons</li> <li>- étiquettes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Alcool</li> <li>-Lugol</li> <li>-Eau physiologique</li> <li>-Eau oxygéné</li> <li>-Eau distillé</li> <li>-Bleu de méthylène</li> <li>-Violet de gentiane</li> <li>-Fuschine basique</li> <li>-Huile à immersion</li> <li>-Huile de vaseline</li> <li>-Huile de paraffine</li> <li>-Disques d'antibiotiques</li> <li>-Galerie API 20 E</li> <li>-Réactif IND (kovacs)</li> <li>-Réactif VP (Alpha-naphtol et KOH)</li> <li>-Réactif TDA (Chlorure de Fer III)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Gélose Nutritive</li> <li>-Gélose Muller Hinton</li> <li>-Milieu Chapman</li> <li>-Milieu Héктоen</li> <li>-Milieu Mac-Conkey</li> <li>-Gélose au sang</li> </ul>

### **III -Méthodes :**

#### **1 -Prélèvement des urines :**

Le milieu de jet représentatif de l'urine vésicale doit être recueilli de façon à éviter sa contamination par la flore commensale de l'urètre et chez la femme de la région génitale externe (**Marrhich, 2008**) .

Dans la pratique la toilette et le prélèvement ont été la plus souvent effectués par le patient lui-même dans des flacons stériles. Il doit contenir 10 à 20 ml d'urine accompagné d'une fiche de renseignement qui doit comporter l'identité du malade. Afin d'éviter toute prolifération bactérienne les urines doivent être acheminées au laboratoire le plus vite possible et l'examen doit être pratiqué rapidement.

#### **1.1 -Examen macroscopique :**

L'aspect et la couleur des urines, la présence ou l'absence de pus ou de sang doivent être appréciés. (**El Manni, 2004**). Cet examen est porté sur la couleur d'urine ; une urine jaune clair est normale mais un aspect trouble peut être due à une infection urinaire ou la présence des cristaux qui sont d'origine alimentaire ou à la prise de certains médicaments (**Konan, 1992**).

#### **1.2-Examen microscopique :**

L'examen microscopique comprend deux aspects : cytologique et bactériologique. C'est un examen qualitatif et quantitatif.

##### **1.2.1 -Examen cytologique :**

##### **1.2.1.1 -Examen cytologique quantitatif :**

L'examen microscopique est la meilleure méthode pour la détection des éléments présents dans l'échantillon d'urine. Leur dénombrement est réalisé en déposant un volume précis d'urine entre une lame et lamelle, ensuite la lame sera examinée à l'état frais sous microscope à l'objectif x40. (**Piette, 2009**)

-Les résultats d'analyse présentant des valeurs normales sont :

-Des leucocytes en quantité inférieure à 10 000 /ml (ou 10/mm<sup>3</sup>)

-Des hématies en quantité inférieure à 1 000/ml (ou 1/mm<sup>3</sup>).

- Des cellules épithéliales en petit nombre (ces cellules protectrices tapissent la vessie et sont évacuées par la miction).
- Eventuellement quelques cylindres hyalins et cristaux.
- En cas d'infection urinaire, le taux d'hématies et de leucocytes dans les urines augmente.



**Figure 8 : LES SEDIMENTS URINAIRES (ATLAS AMES DES SEDIMENTS URINAIRES)**

#### **1.2.1.2 -Examen cytologique qualitatif :**

La coloration de Gram réalisée à partir du culot de centrifugation permet d'observer les microorganismes éventuellement présents et oriente le choix des milieux de culture selon leurs morphologies et leurs affinités aux colorants.

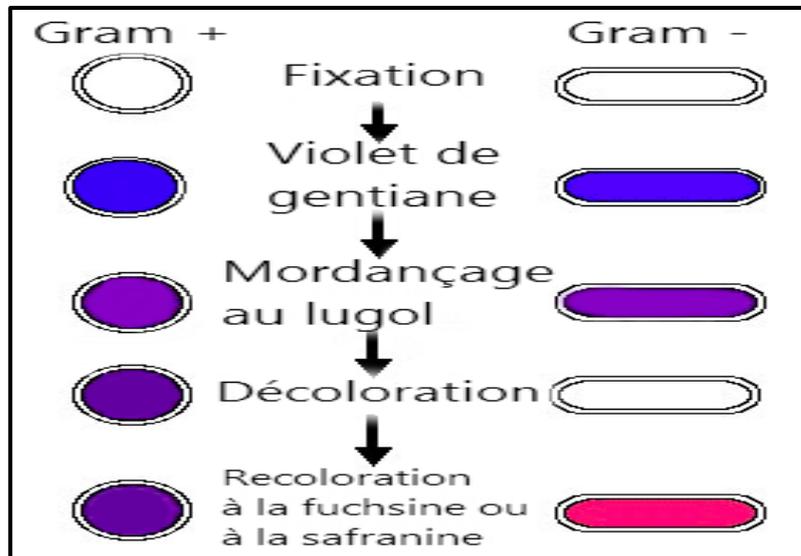
Une autre méthode peut aussi être réalisée avec une coloration au bleu de méthylène. Pour cela les urines sont centrifugées pendant 15 minutes à 3.000 tours/min. Le culot est étalé sur une lame ensuite fixé par la chaleur puis coloré avec le bleu de méthylène, L'observation se fait au microscope optique à l'objectif à immersion (x100).

#### **Technique de Coloration différentielle – coloration de GRAM :**

La coloration de GRAM permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et d'utiliser ses propriétés pour les distinguer et les classer. (**Livre Biologie médicale, 2011**)

- Une goutte de 10 à 50 µl d'urine frais est déposée sur une lame et séché à l'air fixé puis coloré.
- Verser le violet de Gentiane (Annexe 1) sur la lame laissé en contacte 1 min (toutes les bactéries prennent ce colorant et sont donc colorées en violet).
- Rincer avec l'eau distillée.
- Recouvrir la lame de réactif de Lugol (Annexe 1) 1 min (réactif iodo-ioduré qui accentue la coloration). Rincer à l'eau.

- Décolorer à l'alcool, entre 15 à 30 secondes. Rincer à l'eau.
- Recouvrir la préparation de fuchsine (Annexe 1), laisser agir environ 1 minute. Rincer à l'eau puis sécher.
- Examiner au microscope.



**Figure 9** : Les étapes de la coloration de Gram. (Antibiotique.eu. les différents types de bactéries)

### 1.2.2 -Examens bactériologiques :

Il s'agit d'une culture réalisée ayant pour but de l'identification bactérienne, le dénombrement des colonies (quantifie la bactériurie) et permet d'effectuer si besoin un antibiogramme. (Barrier, 2014)

A partir d'une dilution d'urine on ensemence par inondation 1 ml de cette dilution les boîtes de pétri contenant la gélose nutritive (GN).

Chaque prélèvement a fait l'objet d'une Uroculture sur gélose Nutritive (GN). (Annexe 2), et sur milieu spécifique Héктоen ou Mac-Conkey (Annexe 2), pour les bacilles Gram négatif. Pour les staphylocoques Spp l'isolement se faisait sur milieu Chapman (Annexe 2). Les boîtes ensemencées ont été incubées à 37°C pendant 24h.

**-La lecture des résultats :** (Annexe 3)

Les colonies de *S.aureus* sont observées sur milieu Chapman apparaissent lisses, rondes, brillantes, opaques de 1 mm de diamètre. Elle se pigmente habituellement en jaune doré (aureus) parfois en jaune citron et parfois non pigmenté (Prescott et al., 2013).

*E.coli* se développe sur milieu Mac-Conkey en donnant de colonies rondes, lisses, à bords réguliers de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentés (Avril et al. ,1992).

### 1.3- Identification biochimique :

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

#### 1.3.1 - Galerie biochimique classique :

C'est une galerie biochimique permet l'étude du métabolisme biochimique des bactéries essentiellement utile pour la différenciation des germes.

##### 1.3.1.1 -Test de catalase :

La recherche de cette enzyme est utilisée pour l'identification des bactéries à Gram+ et pour le staphylocoque.

Sur une lame propre une goutte d'eau oxygénée est déposée, puis à l'aide d'une pipette pasteur l'inoculum bactérien est rajouté. L'observation du résultat est immédiate. Les staphylocoques (catalase positive) et les streptocoques (catalase négative) peuvent être différenciés par ce test.

##### - La lecture :

- Catalase positive ; effervescence
- Catalase négative ; pas d'effervescence

##### 1.3.1.2 -Test coagulase :

La coagulase est une enzyme capable de coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence de la staphylocoagulase est un critère d'identification des staphylocoques. Dans un tube à hémolyse stérile, 1 ml de plasma sanguin additionné de 1 ml d'une suspension bactérienne de la souche à étudier sont déposés. Le mélange est incubé à 37°C pendant 4 à 5 heures.

La réaction est considérée comme positif lorsque le plasma est coagulé, donc le fibrinogène a été transformé en fibrine, cela permet de confirmer que le germe est un *Staphylococcus aureus*. Si le plasma ne coagule pas, cela indique une espèce autre que *Staphylococcus aureus*.

### 1.3.1.3 -Milieu Triple Sugar Iron. (TSI) :

Le milieu TSI (**Annexe 3**), est un milieu semi solide utilisé pour la différenciation des bactéries basée sur la production de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) et de gaz et la fermentation de trois sucres (Glucose, Lactose, Saccharose). (**Camille, 2006**). A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif. On ensemence en stries serrées la pente par pique centrale profonde le culot à l'aide d'une pipette pasteur ou d'une anse bouclée préalablement stérilisée à la flamme. Ensuite incubée à 37° C pendant 24 h.

### 1.3.1.4 -Milieu Mannitol-Mobilité :

Le milieu mannitol mobilité permet de détecter la fermentation de mannitol et la mobilité du germe à étudier. Régénérer le milieu dans un bain marie, laisser solidifier en culot en position verticale dans l'eau froide, ensemencer à l'aide d'une anse de platine les tubes par pique centrale dans la gélose en culot, jusqu'au fond du tube et Incuber à 37°C pendant 18 à 24h.



**Figure 10** : les tests biochimiques utilisés (**Ladrra R 2016**)

### 1.3.2 -Galerie API 20 E :

La galerie comporte 20 micros tubes contenant des substrats déshydratés au-dessous de chaque tube un sigle indique la nature du test. La galerie API 20 E est un système miniaturisé prêt à l'emploi et standardisé.

Les tubes sont ensemencés avec une suspension bactérienne effectuée en eau physiologique. Un fond et un couvercle complètent la galerie et permettent de constituer une boîte d'incubation.

Il faut remplir à l'aide d'une pipette pasteur les tubes et les cupules des tests CIT, VP, IND (**Annexe 1**) et GEL avec la suspension bactérienne, et pour les autres tests remplir uniquement

les tubes (et non pas les cupules). Dans les tests : ADH, LCD, ODC, URE, H2S en remplissant leur cupule par l'huile de paraffine stérile.

Après incubation les boîtes 24 h à 37° C (Bio Mériex SA, 2010).

**-Lecture :**

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique (Annexe 4) ou d'un logiciel d'identification (Bio Matériaux SA, 2010).

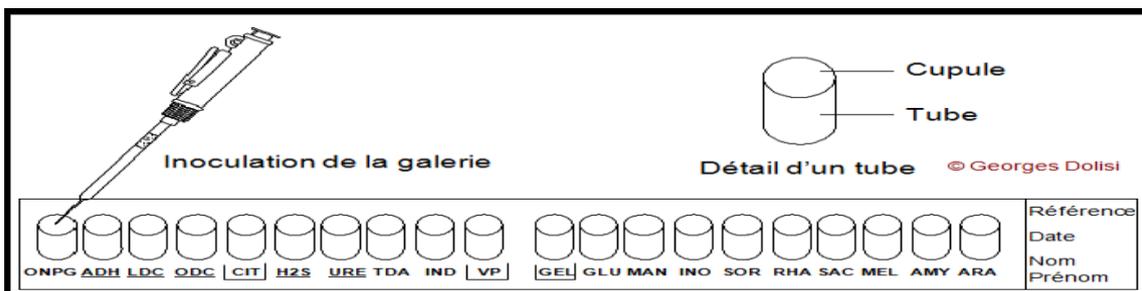


Figure 11 : Inoculation de la galerie API 20 E (Identification bactérienne, s. d.)



Figure 12 : La galerie API 20 E (Galerie API, s. d.)

**1.4 - Antibiogramme :**

Est un examen bactériologique qui permet d'apprécier la sensibilité des souches isolées vis-à-vis divers antibiotiques, nous avons utilisé la méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller Hinton (Annexe 2), (selon la standardisation de l'antibiogramme par l'institut Pasteur Algérien).

#### 1.4.1- Technique d'antibiogramme :

- A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement prélever à l'aide d'une pipette pasteur stérile 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger la pipette dans 10ml d'eau physiologique stérile et bien homogénéiser la suspension bactérienne.
- L'écouvillon est tempéré dans l'inoculum, puis essoré en le pressant fermement contre la paroi interne du tube afin de décharger au maximum.
- L'écouvillon est réparti sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas en stries serrées l'opération est répéter 3 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Après le séchage les disques sont déposés sur la gélose à 30 min l'un de l'autre à l'aide d'une pince flambée. Les boîtes sont suite incubées à 37° C pendant 24 h.



**Figure 13 : l'antibiogramme (Photo originale)**

#### 1.4.2 - Lecture d'antibiogramme :

Elle se fait par mesure du diamètre des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse en suite comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes. (Annexe 5)

Classer les bactéries dans l'une des bactéries résistant (R), sensible (S) ou intermédiaire (I).

**Selon Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale 2014.**

**Tableau 4** : Les antibiotiques utilisés dans notre étude

Familles	Antibiotique	concentration	Provenance
<b>Bêtalactamine</b>	Amoxicilline(AMC)	30 mcg / ml	Himedia, Inde
	Céfazoline		
	Amoxicilline+acide		
	clavulanique		
<b>Aminoside</b>	Gentamicine(GEN)	30 mcg / ml	Himedia, Inde
<b>Sulfamides</b>	Triméthoprimesulfaméthoxazole	25 mcg / ml	Himedia, Inde

## 2 -Prélèvement des selles :

### 2.1- Technique de prélèvement :

Le prélèvement des selles est réalisé par le patient dans un récipient stérile ou dans un pot à coprologie. Des gants sont généralement fournis. Il doit être ensuite transporté rapidement au laboratoire (ou gardé au frais en attendant). (Catherine D, 1997)



**Figure 14** : Pot contenant un échantillon des selles (Coproculture, s. d.)

Afin d'éviter la dessiccation et la prolifération des bactéries commensales, il faut analyser les selles dans les 2 heures qui suivent leur recueil. Sinon on peut les conserver 12 h maximum à 4°C. (Coproculture, s. d.)

### 2.2 -Examen macroscopique :

On notera la consistance (liquides, molles, moulées), la présence de glaires, de pus et de sang. (Coproculture, s. d.)

**2.3 - Examen microscopique :**

L'examen microscopique comprend deux aspects : cytologique et bactériologique.

**2.3.1- Examen cytologique :**

**N.B : L'examen cytologique quantitatif (à l'état frais) et qualitatif (après coloration) des Selles est identique à celle des urines.**

**2.3.2- Examen bactériologique :**

La coproculture correspond à l'ensemencement de milieux généralement sélectifs pour isoler puis identifier l'agent infectieux. (**Coproculture, s. d.**)

**Tableau 5 : Tableau récapitulatif (Catherine D, 1997)**

<b>Bactérie</b>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>Yersinia</i>
<b>Incubation</b>	37C° 24h à 48h	37C° 24h à 48h	37C° 48h	30C° 24h à 48h
<b>Culture</b>				
<b>1<sup>er</sup> Jour</b>	Milieu Hektoen +Milieu liquide		Milieu	Milieu
	Enrichissement (Salmonelle)		<i>Campylobacter</i>	<i>Yersinia</i>
	Repérage de colonies suspectes		Incubation	Incubation
<b>2<sup>ème</sup> Jour</b>	Ensemencement sur milieu urée indole			
	Identification des colonies			
	Repiquage du milieu liquide sur Hektoen			
	Lecture, Identification		Identification	Identification
<b>3<sup>ème</sup> Jour</b>			Biochimique	Biochimique
	Antibiogramme		Antibiogramme	Antibiogramme

### **2.3.4 - L'identification biochimique :**

Elle se base sur l'utilisation de la galerie biochimique standard (Test Catalase, Test coagulase, Milieu Triple Suger Iron, Milieu Mannitol-Mobilité) et par la galerie API 20 E

**NB : les méthodes sont détaillées dans la partie précédente.**

### **2.3.5 - L'antibiogramme :**

L'antibiogramme est réalisé sur les bactéries isolées et identifiées. (En suivant le même protocole cité auparavant).

## **3 - Prélèvement des sécrétions vaginales :**

### **3.1 -Technique de prélèvement :**

-Choisissez des écouvillons et des tubes d'eau physiologique stériles les identifier en vagin et endocol sur les étiquettes de la feuille de prélèvement.

- Etalez un carré de drap d'examen sur la table gynécologique.

- Installez la patiente en position gynécologique.

- Eclairez avec la lampe d'examen.

- Portez les gants.

- Placez un spéculum stérile dans le vagin de sorte que le col de l'utérus soit visible.

- A l'aide d'un écouvillon, prélever les sécrétions au niveau du cul de sac postérieur.

- Nettoyez l'exocol avec un second écouvillon qui sera ensuite éliminé.

-Avec un nouvel écouvillon prélever au niveau de l'endocol en faisant de petites rotations à 360 degrés.

-Si la recherche de chlamydiae et/ou de mycoplasmes est envisagée prélevez à l'aide d'écouvillon en dacron ou en aluminium, en raclant le maximum de cellules de l'endocol.

-Retirez le spéculum.

-Appliquez un papier pH sur les sécrétions collées au spéculum, notez la valeur du pH sur la feuille de paillasse.

-Renseignez la partie « l'examen macroscopique » de la feuille de paillasse. Noter le code opérateur, la date et l'heure de prélèvement ainsi que toute autre information utile.

-Après avoir libéré la patiente, jeter le drap d'examen utilisé dans la poubelle des objets non contaminés.

-Acheminez échantillon et feuille de paille au niveau de la salle de tri ou au laboratoire  
(Prélèvement vaginal, s. d.)

### 3.2 -Examen cytobactériologique :

Sur chaque prélèvement nous avons effectué des analyses cytologiques portant sur des examens macroscopiques et microscopiques, et des analyses bactériologiques pour rechercher la présence d'éventuels germes infectieux. Pour les cultures bactériennes positives, après leur purification, une identification suivie par un antibiogramme a été effectué.

#### 3.2.1 -Examen macroscopique :

L'examen macroscopique fait préciser les caractéristiques de la leucorrhée (couleur, odeur, aspect). Selon les caractéristiques macroscopiques les germes suivants sont suspectés :

- *Candida albicans* (couleur blanchâtre, épaisses, peu abondantes)
- *Trichomonas vaginalis* (couleur verdâtres, nauséabondes, abondantes)
- *Gardnerella vaginalis* (couleur grisâtre) (**Gachot et al. ,2004**).

#### 3.2.2 -Examen microscopique :

##### 3.2.2.1 - Examen direct Etat frais :

L'examen direct à l'état frais qui concerne les écouvillons du vagin permet de dépister la présence de *Trichomonas vaginalis*. Aussi il permet d'apprécier la morphologie et d'observer la mobilité des bactéries et ainsi de rechercher la présence de levures, de cellules épithéliales, de polynucléaires et de globules rouges. Selon la technique de (**Vandepitte et al. ,1994**) les sécrétions vaginales sont diluées dans quelques gouttes d'eau physiologique stérile puis en les déposant sur une lame propre et sèche à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, tout en respectant les règles de stérilisation. La préparation est recouverte d'une lamelle et examinée au microscope optique à l'objectif x40.

##### 3.2.2.2- Examen direct après Coloration :

L'examen de la coloration de Gram permet de définir le type de la bactérie ; GRAM + ou GRAM-.

### 3.2.3 -Examen bactériologique :

La culture est réalisée le premier jour du prélèvement à partir de deux écouvillons pour les femmes mariées (exocol et endocol) et d'un écouvillon pour les jeunes filles selon (Marchal et al. , 1982). L'ensemencement est effectué sur les milieux de cultures suivants :

- **Gélose Nutritive** : milieu ordinaire permettant la culture de toutes les bactéries non exigeantes.
- **Gélose Hektoen** : milieu de choix pour l'isolement des entérobactéries par la présence de sels biliaires qui assurent le pouvoir sélectif.
- Gélose Chapman** : milieu de choix pour l'isolement des Staphylococcus et d'autres germes halophiles tels que *Micrococcus* et *Enterococcus* par la présence d'une forte concentration en Na Cl qui assurent le pouvoir sélectif.
- **Gélose au sang** (Annexe 1) :
- **Gélose au sang frais** : milieu d'enrichissement sur lequel les streptocoques se développent très bien par leur action hémolytique
- **Gélose au sang cuit** : c'est un milieu d'enrichissement qui permet, en portant le sang à une température voisine de 75°C, de neutraliser les inhibiteurs naturels aux quels certains bactéries peuvent être sensibles.

Dans une boîte contenant le milieu de culture, et à l'aide d'un écouvillon de chaque prélèvement, nous ensemençons par la méthode de stries puis nous incubons les boîtes dans une étuve.

L'incubation des milieux Hektoen et Chapman se fait à 37°C pendant 18 à 24heures. Pour les géloses au Sang (cuit et frais), l'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures, en utilisant la jarre à bougie avec un morceau de coton humide pour créer l'anaérobiose et une atmosphère humide.

### 3.3 - L'identification biochimique :

Elle se base sur l'utilisation de la galerie biochimique standard (Test Catalase, Test coagulase, Milieu Triple Suger Iron, Milieu Mannitol-Mobilité) et par la galerie API 20 E

**NB : les méthodes sont détaillées dans la partie précédente.**

### 3.4 -L' Antibiogramme :

L'antibiogramme est réalisé sur les bactéries isolées et identifiées. (On suivant le même protocole cité auparavant).

### 4- Prélèvement de sperme :

#### 4.1 -Technique de prélèvement :

- Récupérer un flacon stérile pour le recueil.
- Réaliser le prélèvement après une abstinence sexuelle de 2 à 5 jours.
- Uriner dans les toilettes.
- Se laver soigneusement les mains : savon ou solution hydro-alcoolique.
- Effectuer une désinfection soignée du gland et du méat urinaire avec la lingette antiseptique (fournie par le laboratoire).
- Ouvrir le flacon en posant le couvercle vers le haut.
- Réaliser le recueil par masturbation.
- Recueillir la totalité de l'éjaculat dans le flacon stérile préalablement identifié (attention ne rien perdre du prélèvement ou le signaler).
- Refermer le flacon aussitôt.
- Identifier le flacon avec le nom, prénom et date de naissance.
- Acheminer le flacon au laboratoire en assurant un transport en moins de 2h

**(Spermogramme et Spermoculture, 2016)**



**Figure 15 : Flacon stérile pour le prélèvement de sperme (David B, 2020)**

#### 4.2- Examen cyto bactériologique de sperme :

##### 4.2.1 -Examen macroscopique :

On notera la couleur, l'odeur, l'absence ou la présence du sang dans le sperme.

#### **4.2.2- Examen microscopique :**

##### **4.2.2.1- Examen cytologique :**

###### **4.2.2.1.1 - Examen direct à l'état frais :**

L'examen direct est fait à l'état frais du sperme entre lame et lamelle pour viser la présence et le dénombrement des leucocytes.

###### **4.2.2.1.2 – Examen direct après coloration :**

La coloration de Gram permet la recherche de l'existence ou non de diplocoques à Gram négatif *Neisseria Gonorrhoeae*, et de cocci à Gram positif de bacilles à Gram négatif. (David B, 2020)

###### **4.2.2.2 - Examen bactériologique :**

Après une dilution au un 1/10 du sperme dans le sérum physiologique, le prélèvement estensemencé sur différents milieux de culture : Gélose Nutritive, Gélose au Sang, Chapman et Hektoen. L'incubation des boites se fait 37C° pendant 24h à 48h. (David B, 2020)

#### **4.3 -L'identification biochimique :**

L'identification biochimique est ensuite effectuée sur les différents types de germes isolés et purifiés. (Par les mêmes méthodes citées auparavant)

#### **4.4 -L'antibiogramme :**

L'antibiogramme est réalisé sur les bactéries isolées et identifiées. (On suivant le même Protocole cité auparavant).

#### **5 - Prélèvement de Pus :**

##### **5.1 - Technique de Prélèvement :**

###### **5.1.1- Ecouvillonnage d'une plaie superficielle :**

- Se laver les mains.
- Mettre des gants stériles.
- Sortir le premier écouvillon sec de son étui sans souiller.
- Effectue le prélèvement en frotte.
- Remettre l'écouvillon de son étui.
- Sortir le deuxième écouvillon avec milieu de transport de son étui sans souiller.

- Effectue le prélèvement en frotte.
- Remettre l'écouvillon de son étui.
- Etiqueter les tubes.
- Se laver les mains.
- Achever les prélèvements au laboratoire. (Zidani Z Sonia B, 2019)

#### **5.1.2-Prélèvements à la seringue pour les plaies profondes :**

- Mettre des gants.
- Désinfecter la peau par l'alcool.
- A l'aide d'une seringue piquer et aspirer le maximum de liquide présent dans le site profond de prélèvement.
- Recouvert l'aiguille de son capuchon et en envoyer le prélèvement à laboratoire. (Zidani Z Sonia B, 2019)

#### **5.2 -Examen cytobactériologique de pus :**

##### **5.2.1 -Examen macroscopique :**

- On note la consistance, la couleur, l'aspect, ainsi que la viscosité du pus.
- Le pus peut être épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non
- La couleur varie de teint chocolat au blanc, certains pus sont verdâtres ou bleutés (Zidani Z Sonia B, 2019)

##### **5.2.2 -Examen microscopique :**

###### **5.2.2.1 -Examen direct à l'état frais :**

Examen direct à l'état frais de pus permet d'observer la morphologie et la mobilité des bactéries éventuelles.

Une goutte du prélèvement est déposée sur lame porte-objets. On ajoute une lamelle puis on observe au microscope optique, au grossissement x40. (Zidani Z Sonia B, 2019)

###### **5.2.2.2.- Examen direct après coloration :**

- Coloration de bleu de méthylène : pour observer et décrire la cytologie
- Coloration de Gram : pour orienter la flore. (Zidani Z Sonia B, 2019)

###### **5.2.2.3 - Examen bactériologique de pus :**

Des isollements sur différents milieux sont réalisés en tenant compte de la fiche de renseignements cliniques et des examens macro et microscopiques sur :

- Gélose au Sang Cuit incubée sous CO<sub>2</sub>.

- Gélose au Sang Frais.
- Gélose Chapman, Gélose Hektoen....

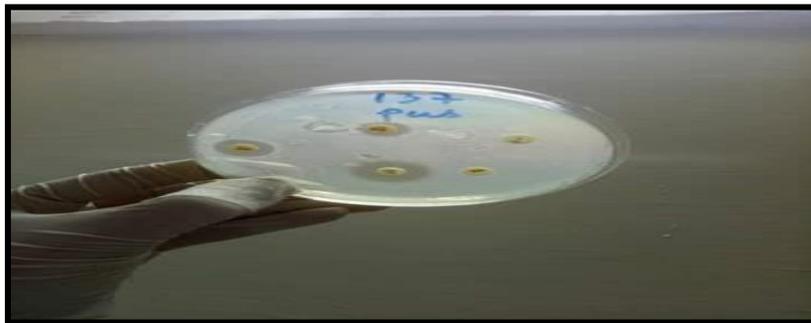
On dépose une goutte de pus sur la surface de la gélose àensemencer ou bien on frotte l'embout de l'écouvillon sur une partie de la surface de cette gélose. Avec une pipette fermée, on effectue un épuisement en stries.

### **5.3 -L'identification biochimique :**

L'identification biochimique est ensuite effectuée sur les différents types de germes isolés et purifiés. (Par les mêmes méthodes citées auparavant)

### **5.4 -L'antibiogramme :**

L'antibiogramme est réalisé sur les bactéries isolées et identifiées. (On suivant le même protocole cité auparavant) (**Zidani Z Sonia B, 2019**)



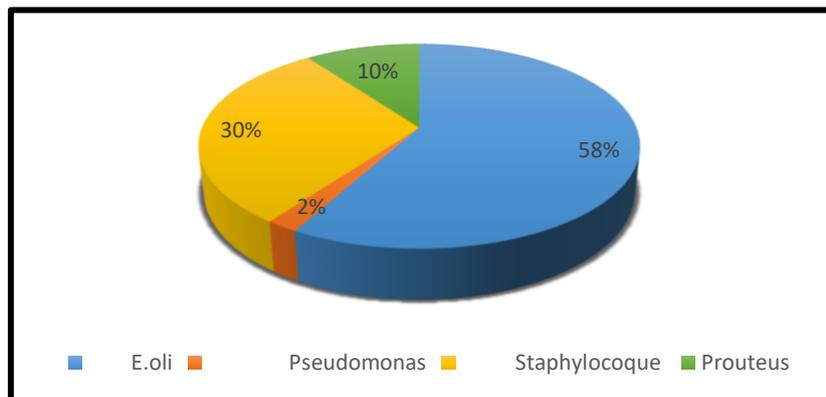
**Figure 16 : Antibiogramme de prélèvement de pus (Photo originale)**

# *Résultats et discussion*

**I- Analyses Bactériologiques :**

**1 -Répartition des bactéries isolées :**

La figure suivante récapitule la répartition des souches isolées à partir des différents prélèvements (ECBU, coproculture, spermoculture, pertes vaginale et pus). (Annexe 6)



**Figure 17 :** Répartition des bactéries isolées

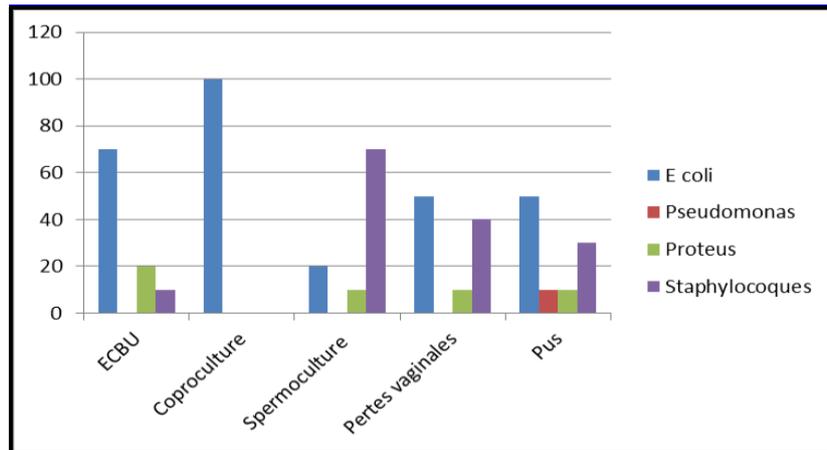
L'étude bactériologique nous a permis d'identifier 50 souches de type Gram + et Gram - dont 29 isolats *E.coli* (58%), 05 *Proteus mirabilis* (10%), 01 *Pseudomonas aeruginosa* (2%). 15 *Staphylocoque* (30%).

Les résultats trouvés révèlent qu'*Escherichia coli* est l'espèce la plus répandue (58%), parmi les bactéries isolées au niveau du laboratoire, suivie de *Staphylocoque* avec un taux de (30%), *Proteus mirabilis* (10%), et en dernière position *Pseudomonas aeruginosa* (2%).

En effet, les entérobactéries sont un groupe de bactéries fréquemment isolées dans les laboratoires, *E coli* étant les espèces revenant le plus souvent (**Bao et al. ,2010. OkallaEbongue et al. ,2013**).

**2- Répartition des bactéries isolées en fonction du prélèvement :**

La répartition des bactéries isolées en fonction de la nature du prélèvement est présentée dans la figure ci-dessous. (Annexe 7)



**Figure 18 :** Répartition des bactéries en fonction du prélèvement

Nous constatons que les entérobactéries sont présentes dans tous les types de prélèvements. *E coli* était majoritaire dans les selles, les urines et le pus avec des taux de 100%, 70 % et 50% respectivement. Elle occupe la seconde place dans les autres prélèvements (pertes vaginale et sperme) avec des taux de 50% et 20% respectivement. Cela peut être expliqué par le fait ; que c'est une bactérie commensale du tube digestif (80% de la flore intestinale de l'adulte) (**Bourdat ,2003**) d'où sa présence exclusive dans les selles, ainsi, la proximité de l'appareil digestif par rapport à l'appareil urogénital peut être à l'origine de la contamination de ce dernier par ce type de bactérie et toutes les autres entérobactéries telles que *Proteus*. On peut la trouver également au niveau de diverses muqueuses chez l'homme et les animaux. (**Bourdat, 2003**).

Concernant les *Pseudomonas aeruginosa*, on les retrouve uniquement dans 10% des prélèvements de pus, en effet, elles font partie des germes de l'environnement, dits opportunistes et qui peuvent être à l'origine des surinfections des plaies (**Denis et al. ,2017**)

Concernant les *Staphylocoques*, elles sont présentes dans la quasi-totalité des prélèvements analysés avec des taux différents : 70% des prélèvements de sperme étaient contaminés par cette bactérie, 40% pour les pertes vaginales, 30% pour les prélèvements de pus et 10% pour les urines.

L'habitat naturel de ces bactéries est l'homme et l'animal. Elles font partie de la flore cutanée naturelle et colonisent particulièrement les muqueuses externes. Cependant, ces bactéries sont fréquemment retrouvées dans l'environnement (eaux non-traitées, sols, objets souillés). Ces *Staphylocoques* peuvent néanmoins devenir pathogènes dans certaines circonstances, lorsque le sujet présente une immunodéficience (sida, radiothérapie, chimiothérapie, néo natalité) ou lorsque la barrière cutanée est rompue (acte chirurgical ou blessures) ou alors à l'occasion de

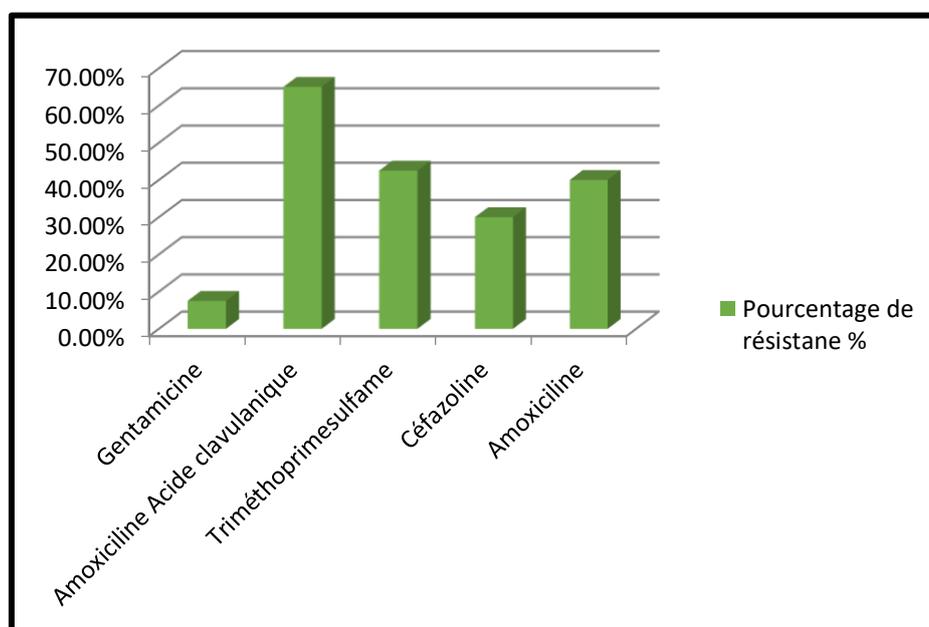
l'implantation dans l'organisme de corps étrangers (prothèses osseuses ou cardiaques, sondes, cathéters,...). (Institut Pasteur France, 2021).

Parmi ces staphylocoques, beaucoup sont associés à des cystites aiguës survenant principalement chez les jeunes femmes. Après *Escherichia coli*, c'est la seconde bactérie responsable d'infections urinaires. (Institut Pasteur France, 2021)

## II. L'antibiorésistance :

### 1-La fréquence de l'antibiorésistance de toutes les bactéries isolées :

La fréquence de résistance des bactéries isolées à partir de tous les prélèvements analysés est reportée dans la figure ci-dessous. (Annexe 8)



**Figure 19 :** Fréquence de l'antibiorésistance de toutes les bactéries isolées

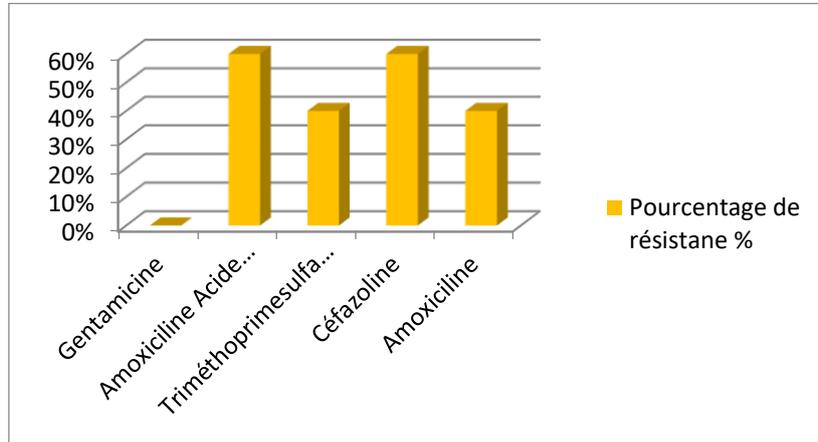
Les résultats de l'antibiogramme obtenus dans notre étude révèlent des taux de résistance assez élevés vis-à-vis certains antibiotiques notamment pour les bêta-lactamines, où les pourcentages étaient de 65% pour l'amoxicilline acide clavulanique, 40% pour l'amoxicilline et 30% pour la céfazoline (céphalosporine de 1<sup>E</sup> génération), et les sulfamides qui ont montré eux aussi un taux élevé qui de 42,50% pour le triméthoprimesulfaméthoxazole.

Cette résistance est beaucoup plus faible pour la gentamicine qui a enregistré un taux de 7,5%.

**2- La fréquence de l'antibiorésistance de chaque bactérie :**

**2.1- Fréquence de l'antibiorésistance de *Proteus* :**

La fréquence de résistance des souches *Proteus* isolées à partir de tous les prélèvements est présentée dans la figure ci-dessous. (Annexe 9)

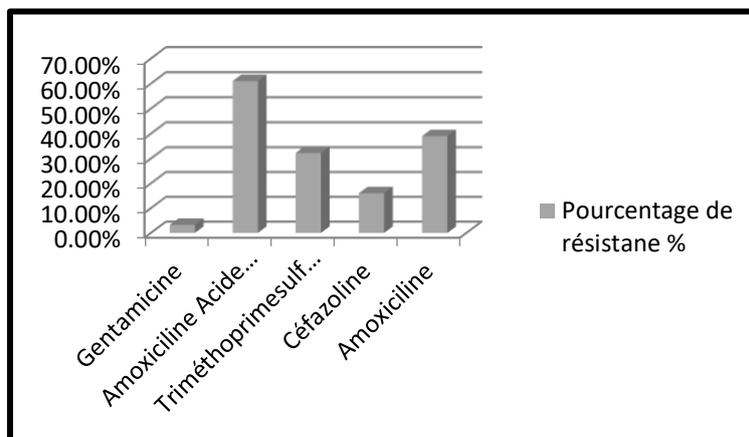


**Figure 20 :** Fréquence de l'antibiorésistance des souches *Proteus*

Les résultats de l'antibiogramme effectué sur les souches *Proteus* isolées à partir des différents échantillons montrent que la résistance est très élevée pour la majorité des antibiotiques testés à savoir l'amoxicilline acide clavulanique (60%), la céfazoline (60%), l'amoxicilline (40%) et le timéthprimesulfaméthoxazole (40%). En revanche, cette résistance est nulle pour la gentamicine.

**2.2- Fréquence de l'antibiorésistance d'*E.coli* :**

La fréquence de résistance des souches *E coli* isolées à partir de tous les prélèvements est présentée dans la figure ci-dessous. (Annexe 10)

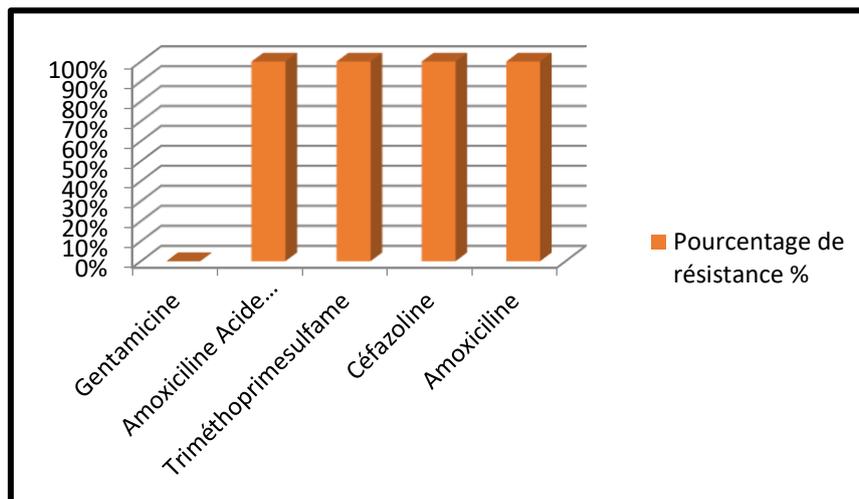


**Figure 21 :** Fréquence de l'antibiorésistance des souches *E coli*

L'étude de la sensibilité des souches *E.Coli* a révélé des profils de résistances variés vis-à-vis les antibiotiques testés. Le taux était élevé pour l'amoxicilline acide clavulanique (61%), plutôt moyen pour l'Amoxicilline (39%) et le triméthoprimesulfaméthoxazole (32,25%), faible pour la Céfazoline (16%), et presque nul pour Gentamicine (3,20%).

### 2.3- Fréquence de l'antibiorésistance de *Pseudomonas* :

La fréquence de résistance des souches *Pseudomonas* isolées à partir de tous les prélèvements est présentée dans la figure ci-dessous. (Annexe 11)

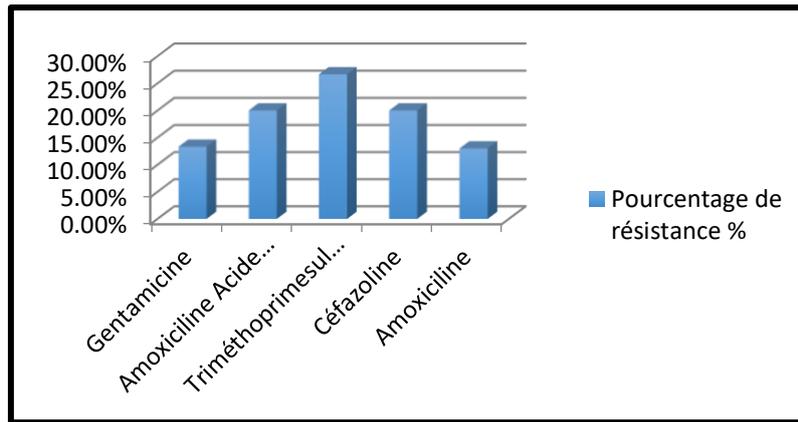


**Figure 22 :** Fréquence de l'antibiorésistance des souches *Pseudomonas*

D'après les résultats de la figure 22, Les souches *Pseudomonas aeruginosa*, ont enregistré des taux d'antibiorésistance alarmants où 100% de ces isolats ont été résistants aux bêtalactamines (amoxicilline acide de clavulanique, amoxicilline et céfazoline) et aux sulfamides (triméthoprimesulfaméthoxazole). Aucune résistance n'a été enregistrée pour la gentamicine.

### 2.4- Fréquence de l'antibiorésistance des *Staphylocoques* :

La fréquence de résistance des souches Staphylocoques isolées à partir de tous les prélèvements est présentée dans la figure ci-dessous. (Annexe 12)



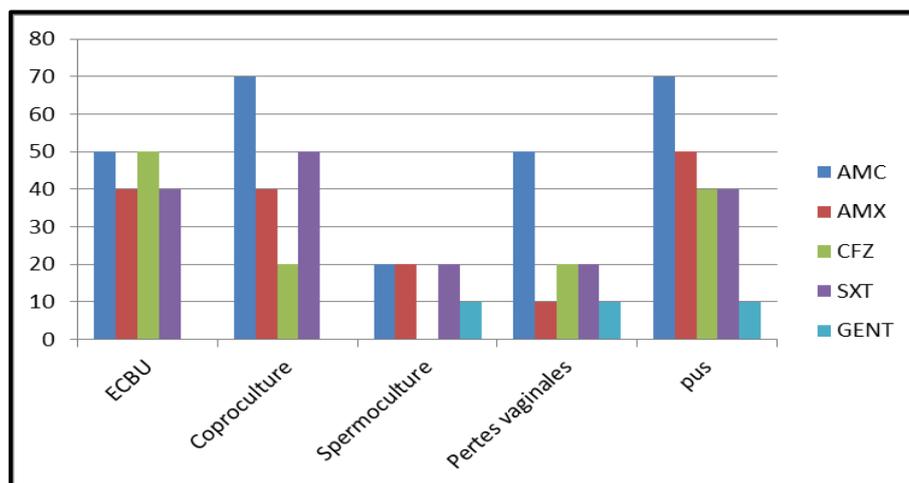
**Figure 23 :** Fréquence de l’antibiorésistance des souches *Staphylocoques*

Nous constatons que la résistance des souches *Staphylocoque* aux antibiotiques est plutôt faible en le comparant aux autres souches isolées.

Les résultats indiquent des taux moyens de résistance pour le triméthoprimésulfaméthoxazole (26,66%), la Céfazoline (20%) et l’amoxicilline acide clavulanique (20%). Cependant, ces taux sont plus faibles pour la Gentamicine et l’Amoxicilline (13% chacun).

**3- la fréquence de l’antibiorésistance des bactéries en fonction de leurs origines :**

La fréquence de la résistance des bactéries pour chaque antibiotique testé et en fonction du type de prélèvement est reportée dans la figure ci-dessous. (Annexe 13)



**Figure 24 :** Fréquence de l’antibiorésistance des bactéries en fonction de leurs origines

Les résultats de cette figure indiquent que les bactéries isolées à partir du pus ont enregistré les taux d’antibiorésistance les plus élevés vis-à-vis tous les antibiotiques testés. En revanche les prélèvements de sperme ont enregistré les taux les plus faibles.

Toutes les souches isolées des différents prélèvements ont présentés les taux d'antibiorésistance les plus élevés vis-à-vis l'amoxicilline acide clavulanique (entre 50 et 70%) suivis par le triméthoprimesulfaméthoxazole (entre 20 et 50%).

La gentamicine est l'antibiotique qui a enregistré les plus faible taux de résistance (entre 0 et 20%).

Les taux élevés de résistance observés pour les bêtalactamines notamment de la part des entérobactéries peuvent être expliqué par le fait que ces molécules (y compris les céphalosporines tels que la céfazoline) sont utilisées en première intention contre différents types d'infections grâce à leur bonne action sur les germes en cause (**Bégone-Bérésin, 2006**), ce qui a engendrer la sélection de bactéries résistantes.

Concernant les sulfamides, les souches isolées ont enregistré des taux de résistance élevés aussi, ceci est dû à leur utilisation à la place des bêtalactamines suite aux problèmes d'antibiorésistance.

La résistance envers ces antibiotiques les rend inefficaces contre ce type de germe, et par conséquent, elle présente un réel problème dans le traitement de certaines infections, surtout que les bactéries analysées dans notre étude font partie, en plus de leur pouvoir pathogène spécifique à certaines infections, des germes opportunistes responsables d'infections nosocomiales.

La gentamicine reste l'antibiotique le plus actif sur les germes isolés dans notre étude. Ainsi, pour maintenir son efficacité, cette molécule doit être réservée pour le traitement des formes compliquées et après utilisation de l'antibiogramme.

Cette variation des fréquences peuvent être expliquée par l'utilisation exagérée, et aveugle des antibiotiques dans le cadre hospitalier et même en médecine de ville (**Azerbaiddjan, 2011**).

De même, l'alternance des molécules et le non-respect du dosage et la durée du traitement ainsi que l'automédication posent de sérieux problème dans les pays en développement où les antibiotiques sont largement et facilement disponibles souvent sans ordonnance médicale.

#### 4 -La fréquence de multirésistance des bactéries isolées :

Le tableau suivant représente la proportion des souches isolées résistantes à 1, 2, 3, 4 et 5 antibiotiques différents à la fois.

**Tableau 6 :** La fréquence de multirésistance des bactéries isolées

La résistance aux Antibiotiques	Nombre de Bactéries résistantes	Pourcentage de résistance
0 Antibiotique	7	14 %
1 Antibiotique	10	20 %
2 Antibiotiques	12	24 %
3 Antibiotiques	14	28 %
4 Antibiotiques	4	8 %
5 Antibiotiques	3	6 %

Les résultats du tableau N° 07 indiquent que 66% des isolats étaient résistants à au moins 02 antibiotiques différents, 42% sont étaient résistants à au moins 03 antibiotiques différents et 6% étaient résistants à 05 antibiotiques différents à la fois. Seulement 14% de ces isolats étaient parfaitement sensibles.

Cette multirésistance peut être expliquée par l'utilisation abusive et anarchique antibiotiques sans avoir recours à l'antibiogramme, l'automédication, l'alternation des molécules avant que le premier traitement donne ses résultats et le non-respect du délai du traitement.

Cette dissémination de la multirésistance est liée à l'existence des éléments génétiques mobiles permettant de cumuler de nombreux gènes de résistance au sein d'une même souche. **(Skurnik et Andreumont ,2006).**

Cette multirésistance est très inquiétante car elle présente un énorme risque pour la santé publique où elle peut être responsable de l'échec de traitement qui peut conduire dans certains cas à l'impasse thérapeutique et par conséquent l'augmentation du taux de morbidité et de mortalité.

# *Conclusion*

### Conclusion :

Le travail que nous avons réalisé nous a permis dans un premier temps de déterminer les germes les plus isolés dans un laboratoire d'analyse médicale :

A la lumière des résultats obtenus, nous avons constaté :

Une prédominance des entérobactéries (*E.Coli* est la bactérie la plus répondeuse avec un pourcentage de 58%), suivie par *Staphylocoque* 30%, *Proteus mirabilis* 10% et en dernier *Pseudomonas aeruginosa* à 2%.

Les résultats trouvés révèlent qu'*Escherichia Coli* est l'espèce majoritaire dans les selles, les urines, le Pus et pertes vaginales avec des taux de 100%, 70%, 50%, 50% respectivement. La prédominance des *Staphylocoques* 70% a été observée dans les prélèvements de sperme.

Dans la deuxième partie de notre étude, l'antibiogramme effectué sur les souches identifiées, nous a révélé des taux de résistances assez élevés vis-à-vis certains antibiotiques notamment pour les bêtalactamines, où les pourcentages étaient de 65% pour l'amoxicilline acide clavulanique, 40% pour l'amoxicilline et 30% pour la céfazoline (céphalosporine de 1<sup>E</sup> génération), et les sulfamides qui ont montré eux aussi un taux élevé qui de 42,50% pour le triméthoprimesulfaméthoxazole .

Cette forte résistance vis-à-vis ces molécules les rend inefficaces dans la lutte contre les pathologies causées par ce type de germes.

La gentamicine reste l'antibiotique le plus actif sur les souches isolées. De ce fait il peut constituer une perspective dans le traitement et par conséquent il doit être réservé pour les formes compliquées.

Les taux de la multirésistance sont inquiétants, L'utilisation anarchique et abusive des antibiotiques sans avoir recours à l'antibiogramme, le non-respect des posologies et de la durée du traitement a favorisé la sélection des bactéries résistantes voire même multirésistance.

Dans ce contexte, il serait intéressant d'initier des recherches portant sur un nombre d'échantillons plus élevés et représentatif tout en testant une gamme d'antibiotiques plus large.

### **Recommandation :**

Pour limiter la propagation de la résistance bactérienne, il convient d'adopter certaines stratégies :

- Limiter le traitement antibactérien dans les situations où les indications sont claires, et l'administrer pendant la durée efficace la plus courte.
- Effectuer un antibiogramme avant d'entamer tout traitement à base d'antibiotiques.
- Traiter les infections selon la posologie, la durée convenable, et à l'aide de l'antibiotique recommandé
- Restreindre l'utilisation des antibiotiques qui constituent la seule option contre les infections bactériennes résistantes.
- Décourager la commercialisation d'antibiotiques en vente libre.
- Organiser un réseau de surveillance de l'antibiorésistance sur plan régional et national

# **Références Bibliographiques**

### Référence bibliographe :

- Adam F. (2003).** ET DROUILLARD I. Sulfamides et associations. Encycl Méd Chir, Maladies infectieuses, 8-004-A-10, 2003 :9 p.
- Avril. J.L.** Diagnostic microbiologique des diarrhées infectieuses aiguës.
- Avorn J L. et al, (2001).** Antibiotic résistance: synthesis of recommendations by expert policy groups: Alliance for the prudent use of antibiotics
- Bao L., R. Peng, X., R. Ma, J. Lian, Y. Wang, 2013.** Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics. Pakistan J. Med. Sc. 29(1) : 153-139.
- Bégone-Bérésin. (2006).** **Antibiothérapie des infections urinaires basses cliniques microbiologiques et pharmaceutiques**
- Bohbot J-M. (2008).** Les sécrétions vaginales. Institut Fournier, 25, boulevard Saint-Jacques, F-75014 Paris, France.
- Bridges J (2009).** De jong W.Dorothea Stahl Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks Scenihr Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocidesthe Scenihr Adopted This Opinion At the 28th Plenary on 19 January.
- Catherine Dupeyron (1997)** Biologiste, Hôpital Albert-Chenevier, Créteil. 04 AVRIL
- Cattoen. (2015).** Persistance du portage de bactéries multirésistance après la réanimation.2 p. Disponible sur : [link.springer.com/content/PDF/10.1007/s13546-015-1048-4.pdf](http://link.springer.com/content/PDF/10.1007/s13546-015-1048-4.pdf)
- **Clasification des bactéries. (s.d.).** ANTIBIO-RESPONSABLE.FR.
- **Coproculture. (s. d.).** Examen microbiologique des selles. microbiologiemedicale.fr.
- Cosgrove, Qi Y, Kaye Ks Harbarth S, Karchmer Aw, Carmell. (2005).** The impact of methicillin resistance in Staphylococcus aureus bacteremia on patient outcomes : mortality lenght of stay. And hospital charges.Infect control Hosp.Epidemiol. 26 :166-174.
- David B. (2020).** Spermogramme : indications, pratique et résultats. Doctissimo.
- Denis, Poly M, Martin C, Bingen E, Quentin R (2017).** **Bactériologie médical :**

## Référence bibliographique

---

- Djennane, F ; Mohammedi, D ; Tiouti, d et Rahal, K. (2009).** *Examen cytobactériologique des urines (ECBU). Institut pasteur d'Algérie, Techniques microbiologiques. P76.*
- Duranda B (2014).** Analyse des consommations antibiotiques et des résistances bactériennes dans huit établissements de santé de Haute –Normandie Thèse .Royen : Université De Rouen UFR De Médecine Et De Pharmacie.
- Enquête de prévalence instantanée en pharmacie d'officine. Université de NANTES.
- Faures S. (2010).**Transfert d'un gène de résistance aux bêta-lactamines blactx-m-9 entre salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : influence d'un traitement antibiotique (thèse) .Rennes : Université De Rennes.
- FRANCOIS.J, CHOMARAT.M, WEBER.M, GERARD.A. (2003).** De l'antibiogramme à la prescription. BIOMERIEUX, 2ème édition : p8-p22.
- Gachot, Adam O, Aupérin A, Wilquin F, Jean Henri B. (2010).** Clinical Infections Diseases. Pages 917-920.
- Gerard J .Tortora et al. (2011)** .Introduction à la microbiologie .2eme Edition .Québec. Pearson .Edition du renouveau pédagogique INC.420-421 P.
- Goodyear, K. L. (2002)** : veterinary surveillance for antimicrobial resistance, J. Antimicrob. Chemother. 50,612-614.
- Guardabassi L.et Courvalin P. (2006).**Modes of antimicrobial actionand mechanisms of bacterial resistance. In: Aarestrup F.M. (Ed.), Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press: Washington.1-18pp.
- Guerrant RL, Van gilder T, Stiener TS. (2001).** Practice guidelines for the management of infectious diarrhea.
- Guinoiseau.(2010).**Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat .Université de Corsepasquale Poali.
- Institut Pasteur France. (2021).** [www.pasteur.fr](http://www.pasteur.fr)

## Référence bibliographique

---

- Kijima-Tanaka, M., K. Ishihara, A. Morioka, Kojima,T. Ohzono, K. Ogikubo, T. Takahashi, Y. Tamura (2003)** :A national surveillance of antimicrobial resistance in Escherichia coli isolated from food-producing animals in Japon. J. Antimicrob. Chemothe.
- **Knobler S.I., Lemon S.M., And Burroughs T. (2013)**. The Resistance phenomenon in microbes and infectious disease vectors. The national academies press.
- **Leekha S.Irish C.I., Schneider S.K., Fernholz E.C., Epsy M.J.,Cunningham S.A., Patel R., Juhn Y., Pritt B.,Smith T.F.,Sampathkumar P. (2013)**. Viral detection using a multiplex polymerase chain reaction –based assay in outpatients with upper respiratory infection .Diagnmicrobiol Infect Dis; 75:169-173.
- l'équipe passe port santé. (2015)**. *définition de l'examen bactériologique*. Retrieved from passeport santé: <https://www.passeportsante.net/fr/Maux/examens-medicaux>
- Lali, S. (2013)**. Récolte et transport échantillons bactériolo (internet). P26.
- LE MINOR L., VERON M. (1989)**. Bactériologie Médicale, Flammarion : 1107 p.
- LECLERCQ.R. (2006)**. Macrolides-lincosamides-streptogramines In : ANTIBIOGRAMME COURVALAIN P., LECLERCQ R., BINGEN E. 2ème édition : P299-324
- Lozniewski A, Rabaud C, Nancy (2010)**. Resistance Bactérienne Aux Antibiotiques. Fiche conseils pour la prévention du risque infectieux - infection associées aux soins. 1 - 4.
- LXBIO. (2013)**. Manuel de prélèvement, Prélèvements à visée microbiologique, L'équipe passe port et santé. (2015). Analyses médicales, hémoculture.
- Maragakis, Perencevich EN,Cosgrove SE.(2008)**.Clinical and economic burden of antimicrobiol resistance. Expert. Rev. Anti. Infect. There. 6 :751-76.
- Médicament/ antibiotique/famille** (<http://www.eurekasante.fr/medicaments/antibiotiques/familles.html>)
- Mérens A. (2010)** .Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones <https://www.universalis.fr/encyclopedie/plasmides>
- Muylaert A. Mainil J.G. (2012)**. Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur contagiosité. Ann. Med .Vét, 156,109-123.

## Référence bibliographique

---

- **Mehdi. S. (2008).** La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat .THESE. [En ligne] .Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED VFACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p.
  - Nicolas, E. (Décembre 2012- avril 2013).** Prise en charge des infections urinaires en ville.
  - Pages J-M Gargote E. Perméabilité membranaire et résistance aux antibiotiques chez les bactéries à gram négatif Revue Française Des Laboratoires Aw. (2003), N°352.**
  - Perméabilité membranaire. (2003).** E.Perméabilité membranaire et résistance aux antibiotiques chez les bactéries à gram négatif Revue Française Des Laboratoires Aw, N°352
  - POYART C. (2006).** Tétracyclines. In : ANTIBIOGRAMME COURVALAIN.P, LECLERCQ.R, BINGEN.E 2ème édition : P325-334
  - RABAUD C et MAY T. (2007).**Glycopeptides. Encycl Méd Chir, Maladies infectieuses, 8-004-L-10 : 7 p
  - **Rowe-Magnus D, Guerout P. Ploncard B. Dychinco J. Davies and D.Mazel (2001).** The evolutionary history of chromosomal super - integrons provides an ancestry for multiresistant integrons. Proc Natl Acad Sci U S A 98:652-7.
  - **SKURNIK et Andremont. (2006).** Antibiothérapie sélectionnante. De la théorie à la pratique Réanimation, 15(3) ,198-204.
  - **Stephanie F. (2009).** Transfert d'un gene de resistance aux bêta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les enterobacteries de la flore intestinale humaine : influence d'un traitement antibiotique. Medication.Universite Rennes 1.French
  - **Sekhri A N (2011).**Fréquence et marqueurs épidémiologiques de Klebsiella Pneumoniae dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Université Mentouri Constantine.187p
  - **Vaubourdolle M. (2007).** Infectiologie 3e édition. Wolters Kluwer SA.P 347,348.- **Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., Ouar-Korichi M.N. (2001).** Médecine du Maghreb, n°91 : p5-12.
- Acadpharm. Dictionnaire médicale et pharmaceutique(2018). [En ligne]. Consulté le 9 février Disponible sur : <http://dictionnaire.acadpharm.org/w/Acadpharm> : Accueil).*
- Spermoculture spermogramme. (2016).** Analyse de sperme. Biolam.

## Référence bibliographique

---

-**Universalis, Encyclopædia. (2018) Antibiotiques - repères chronologiques. Encyclopædia Universalis [en ligne]. Consulté le 9 février. Disponible sur : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/antibiotiques-reperes-chronologiques/>. )**

-**Yamashita SK, Louie M, Simor AE, Rachlis A. (2000).** Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit. *Can J Infect Dis* ; 11:107-11

-**Zidani Z et Sonia Benammar. (2019).** Examen cyto bactériologique des pus Td de Microbiologie 4<sup>ème</sup> année pharmacie.

# *Annexes*

**Annexe 1 :**

**Tableau : La composition des réactifs**

<b>Réactifs</b>	<b>La Composition</b>
<b>Violet de gentiane</b>	Violet de gentiane 01 g Ethanol à 90 % Phénol 02 g Eau distillée 100 ml
<b>Lugol</b>	Iode 01 g Iode de potassium 02 g Eau distillée 300 ml
<b>Fuchsine</b>	Fuchsine basique 01 g Alcool éthylique à 90 ° 10 ml Phénol 05 g Eau distillé 100 ml
<b>Kovacs</b>	Diméthyl-amino 4 Benzaldéhyde : 50g Alcool isoamylique : 750ml Acide chlorhydrique : 250ml

**Annexe 2 :**

**Tableau : la composition des milieux de cultures**

<b>Le Milieu</b>	<b>La Composition</b>
<b>Gélose Nutritive</b>	Extrait de viande de bœuf 1,0g Extrait de levure 2,0g Peptone 5,0g Chlorure de sodium 5,0g Gélose 15,0g pH=7,4
<b>Gélose Hektoen</b>	Protéose-peptone : 12,0g Extrait de levure : facteur de croissance. 3,0g Lactose : critère de différenciation. 12,0g Saccharose : critère de différenciation. 12,0g Salicine : critère de différenciation. 2,0g Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H <sub>2</sub> S 1,5g Sels biliaries : inhibiteur 9,0g Fuchsine acide : inhibiteur 0,1g Bleu de bromothymol : indicateur de pH. 0,065g Chlorure de sodium : maintien de la pression osmotique 5,0g Thiosulfate de sodium : précurseur d'H <sub>2</sub> S 5,0g Agar 14,0g pH= 7,6
<b>Gélose Mac Conkey</b>	Peptones bactériologiques : 20g Sels biliaries : 1,5g Chlorure de sodium : 5g Lactose : 10g Rouge neutre : 0,03g Cristal violet : 0,001g Agar : 15g , pH final : 7,1 ± 0,2

## Annexes

---

<b>Gélose Chapman</b>	Peptone : 10g Extrait de viande de bœuf : 1g Chlorure de sodium : 75g Mannitol : 10g Rouge de phénol : 0,025g Agar : 15g pH = : 7,5
<b>Muller Henton</b>	Infusion de viande de bœuf 300 ml Peptone de caséine 17,5g Amidon de maïs 1,5g Agar 10,0g pH=7,4
<b>Gélose au Sang</b>	Mélange spécial de peptones : 23 grammes, Amidon : 1 g Chlorure de sodium : 5 g, Agar : 10 g, Sang : 50 ml. pH = de 7,3.

Annexe 3 :

Tableau : Résultats de l'examen bactériologique

Souches	Aspect
Aspect des souches <i>E.coli</i> sur milieu Mac-Conkey	 <p>(microbiologie médicale.fr gélose Mac Conkey)</p>
Aspect des souches <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur milieu Mac-Conkey	 <p>(ISTOCK. 1173815937)</p>
Aspect des souches <i>Staphylocoque spp</i> sur milieu Chapman	 <p>(Microbiology laboratory turkey. 2018)</p>

**Annexes**

**Annexe 4 :**

**Tableau : Identification des germes par la galerie API 20<sup>E</sup>**

<b>API 10 S</b>	<b>V3.1</b>	<b>ONPG</b>	<b>GLU</b>	<b>ARA</b>	<b>LDC</b>	<b>ODC</b>	<b>CIT</b>	<b>H<sub>2</sub>S</b>	<b>URE</b>	<b>TDA</b>	<b>IND</b>	<b>OX</b>	<b>NO<sub>2</sub></b>
<i>Citrobacter koseri/amalonaticus</i>	97	100	95	0	86	87	0	2	0	92	0	99	
<i>Citrobacter braakii</i>	51	100	99	0	99	75	81	1	0	1	0	99	
<i>Citrobacter farmeri</i>	98	100	99	0	100	0	0	0	0	100	0	99	
<i>Citrobacter freundii</i>	90	100	94	0	0	75	65	1	0	1	0	98	
<i>Edwardsiella tarda</i>	0	99	1	99	100	1	94	0	0	99	0	99	
<i>Escherichia coli 1</i>	76	95	80	98	56	1	3	4	0	70	0	99	
<i>Escherichia coli 2</i>	74	99	90	0	32	1	0	2	0	50	0	98	
<i>Escherichia vulneris</i>	100	99	99	15	0	0	0	4	0	0	0	99	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	99	99	99	98	99	84	0	2	0	0	0	99	
<i>Enterobacter amnigenus</i>	99	98	98	0	95	56	0	0	0	0	0	99	
<i>Enterobacter spp/Escherichia coli/Shigella sonnei</i>	100	100	100	0	100	0	0	0	0	0	0	99	
<i>Enterobacter cloacae</i>	99	99	99	1	93	94	0	1	0	0	0	99	
<i>Hafnia alvei</i>	60	99	75	100	98	40	0	5	0	0	0	99	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	99	99	96	78	2	90	0	40	0	100	0	99	
<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>	99	99	99	72	0	90	0	60	0	0	1	99	
<i>Morganella morganii</i>	2	97	1	5	96	2	1	99	91	97	0	88	
<i>Pantoea spp 1</i>	100	100	80	0	0	28	0	0	1	0	0	85	
<i>Pantoea spp 2</i>	96	100	99	0	0	68	0	0	0	100	0	85	
<i>Proteus mirabilis</i>	1	96	1	1	98	57	83	99	98	2	0	93	
<i>Proteus penneri</i>	0	100	0	0	0	1	15	100	100	0	0	99	
<i>Proteus vulgaris group *</i>	0	97	1	0	1	31	83	98	99	94	0	99	
<i>Providencia rettgeri</i>	1	99	1	0	0	70	0	94	99	88	0	98	
<i>Providencia stuartii/alcalifaciens</i>	1	99	2	0	0	91	0	15	100	98	0	99	
<i>Salmonella choleraesuis ssp arizonae</i>	97	100	99	96	97	50	96	0	0	1	0	99	
<i>Salmonella choleraesuis ssp choleraesuis</i>	0	99	0	97	97	4	70	0	0	0	1	99	
<i>Salmonella ser.Gallinarum</i>	0	100	100	100	1	0	33	0	0	0	0	99	
<i>Salmonella ser.Paratyphi A</i>	0	100	99	0	100	0	5	0	0	0	0	99	
<i>Salmonella ser.Pullorum</i>	0	100	68	75	99	0	85	0	0	0	0	99	
<i>Salmonella spp</i>	4	100	94	92	95	74	85	0	0	3	0	99	
<i>Salmonella typhi</i>	0	99	0	98	0	0	8	0	0	0	0	99	
<i>Serratia liquefaciens</i>	94	100	98	70	99	85	0	5	0	0	0	99	
<i>Serratia marcescens</i>	94	100	19	98	95	97	0	28	0	1	0	95	
<i>Serratia odorifera</i>	95	99	95	97	43	87	1	0	0	99	0	99	
<i>Shigella spp</i>	26	99	40	0	0	0	0	0	0	20	0	99	
<i>Yersinia enterocolitica 1</i>	41	100	98	0	74	0	0	98	0	49	0	98	
<i>Yersinia enterocolitica 2</i>	85	97	0	0	58	0	0	99	0	0	0	98	
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	77	98	29	0	0	13	0	96	0	0	0	95	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	96	98	61	50	0	50	0	0	0	85	99	98	
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	95	99	0	100	100	0	0	1	0	99	99	99	
<i>Vibrio alginolyticus/parahaemolyticus</i>	0	99	19	98	75	61	0	5	0	99	100	47	
<i>Vibrio vulnificus/cholerae</i>	97	98	1	82	92	56	0	1	0	99	100	96	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	86	75	0	0	54	0	0	0	0	0	3	
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	20	0	0	0	0	14	0	92	0	70	99	20	
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	70	0	0	0	0	20	0	0	0	81	100	6	
<i>Pseudomonas aeruginosa/fluorescens/putida</i>	0	30	11	0	0	68	1	15	0	0	99	14	
<i>Pseudomonas spp</i>	1	7	8	0	0	54	1	4	0	0	98	48	
<i>Shewanella putrefaciens group *</i>	0	6	1	0	80	83	90	1	0	0	100	96	
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	96	46	17	0	0	30	0	92	0	0	96	1	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	60	1	0	48	0	76	1	0	0	0	4	26	

## Annexes

### Annexe 5 :

**Tableau :** Valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour entérobactéries (médecine vétérinaire)

Antibiotiques testés	Charges des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline - Toutes espèces animales  - Chien : <i>Escherichia coli</i>	10µg	≤13	14-16	≥17	≥32	16	≤8
	-	-	-	-	≥1	0,5	≤0,25
Amoxicilline+ Acide clavulanique*	20/10 µg	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/4
Céfalotine	30 µg	14	15-17	≥18	≥32	16	≤8
Ceftiofur	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥8	4	≤2
Néomycine	30 µg	≤13	14-17	≥18	≥64	32	≤16
Gentamicine**  - Espèce canine  - Espèce équine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
		≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2
		≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2
Sulfisoxazole	300 µg	≤12	13-16	≥17	≥512	-	≤256
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	-	≤2/38
Tétracyclines	30 µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4
Acide nalidixique/ fluméquine	30 µg	≤13	14-18	≥19	≥32	-	≤16
Acide oxolinique	10 µg	≤17	-	≥20	>4	-	≤2
Enrofloxacin Espèce Aviaire (poulet et dinde)	5 µg	≤16	17-20	≥21	≥2	0,5-1	≤0,25
		≤16	17-22	≥23	≥2	0,5-1	≤0,25
Espece féline et canine		≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0,5
Marbofloxacin (même valeurs pour l'espèce féline et canine)	5 µg	≤14	15-19	≥20	≥4	2	≤1
Danofloxacin (espèce bovine)	5 µg	-	-	≥22	-	-	≤0,25
Colistine	10 µg	-	-	-	>2	-	≤2
Nitrofurantoin**	300 µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32
Chloramphénicol**	30 µg	≤12	13-17	≥18	≥32	16	≤8

### Annexe 6 :

**Tableau :** Répartition des bactéries isolées

Bactéries	<i>E.coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylocoque</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	Total
Nombre	29	1	15	5	50

## Annexes

<b>Pourcentage</b>	58%	2%	30%	10%	100%
--------------------	-----	----	-----	-----	------

### Annexe 7 :

<b>Bactéries</b>	<i>E.coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylocoque</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<b>Total</b>
<b>Nombre ECBU</b>	7	0	1	2	10
<b>Pourcentage ECBU</b>	70%	0%	10%	20%	100%
<b>Nombre Coproculture</b>	10	0	0	0	10
<b>Pourcentage Coproculture</b>	100%	0%	0%	0%	100%
<b>Nombre Spermoculture</b>	2	0	7	1	10
<b>Pourcentage Spermoculture</b>	20%	0%	70%	10%	100%
<b>Nombre Pertes vaginales</b>	5	0	4	1	10
<b>Pourcentage Pertes vaginales</b>	50%	0%	40%	10%	100%
<b>Nombre ECB Pus</b>	5	1	3	1	10
<b>Pourcentage ECB Pus</b>	50%	10%	30%	10	100%

**Tableau :** Répartition des bactéries isolées en fonction du prélèvement

## Annexes

---

### Annexe 8 :

Antibiotiques	Gentamicine	Amoxicilline Acide clavulanique	Triméthoprimésulfame	Céfazoline	Amoxicilline
Pourcentage de résistance %	7,50%	65%	42,50%	30%	40%

**Tableau :** La fréquence de l'antibiorésistance de toutes les bactéries isolées

### Annexe 9 :

**Tableau :** Fréquence de l'antibiorésistance de *Proteus*

Antibiotiques	Gentamicine	Amoxicilline Acide clavulanique	Triméthoprimésulfame	Céfazoline	Amoxicilline
Pourcentage de résistance %	0%	60%	40%	60%	40%

### Annexe 10 :

**Tableau :** Fréquence de l'antibiorésistance d'*E.coli*

Antibiotiques	Gentamicine	Amoxicilline Acide clavulanique	Triméthoprimésulfame	Céfazoline	Amoxicilline
Pourcentage de résistance %	3,20 %	61%	32,25 %	16 %	39%

## Annexes

### Annexe 11 :

**Tableau :** Fréquence de l'antibiorésistance de *Pseudomonas*

Antibiotiques	Gentamicine	Amoxicilline Acide clavulanique	Triméthoprimesulfame	Céfazoline	Amoxicilline
<b>Pourcentage de résistance %</b>	0 %	100 %	100 %	100 %	100 %

### Annexe 12 :

**Tableau :** Fréquence de l'antibiorésistance des *Staphylocoques*

Antibiotiques	Gentamicine	Amoxicilline Acide clavulanique	Triméthoprimesulfame	Céfazoline	Amoxicilline
<b>Pourcentage de résistance %</b>	13,33 %	20 %	26,66 %	20 %	13 %

### Annexe 13 :

**Tableau :** Fréquence de l'antibiorésistance des bactéries en fonction de leurs origines

Antibiotiques	GEN	AMX	SXT	CFZ	AMC
<b>Pourcentage de résistance ECBU%</b>	0%	40%	40 %	50 %	50 %
<b>Pourcentage de résistance Coproculture%</b>	0 %	40 %	50 %	20 %	70 %
<b>Pourcentage de résistance Spermoculture %</b>	10 %	20 %	20 %	0 %	20 %
<b>Pourcentage de résistance Pertes vaginales %</b>	10 %	10 %	20 %	20 %	50 %
<b>Pourcentage de résistance Pus%</b>	10 %	50 %	40 %	40 %	70 %

**Résumé :**

La résistance aux antibiotiques est un problème d'importance croissante en pratique médicale. Elle concerne aujourd'hui l'ensemble du monde microbien et toutes les familles d'antibiotiques thérapeutiques. Notre étude vise à dresser un état de lieu sur les bactéries isolées, au niveau d'un laboratoire d'analyses microbiologiques, provenant de différents types de prélèvements (les urines , les selles , les pertes , sperme , et le pus ), dans un premier temps, ensuite, étudier leur profil de résistance vis-à-vis quelques antibiotiques utilisés en thérapeutique. Sur les 50 souches qui ont été isolées à partir des différents prélèvements ; (58%) était des *Escherichia coli*. (30%) *Staphylocoque*, (10%) *Proteus mirabilis*, (2%) *Pseudomonas*. L'antibiogramme a révélé des taux de résistance assez élevés pour les bêtalactamines, où les pourcentages étaient de 65% pour l'amoxicilline acide clavulanique, 40% pour l'amoxicilline et 30% pour la céfazoline (céphalosporine de 1<sup>E</sup> génération), et les sulfamides qui ont montré eux aussi un taux élevé qui de 42,50% pour le triméthoprimesulfaméthoxazole. En revanche, la gentamicine a enregistré un taux beaucoup plus faibles. La multirésistance à révéler des taux alarmants ou 66% des isolats étaient résistants à au moins 02 antibiotiques différents et 6% étaient résistants à 5 antibiotiques différents à la fois.

**Mots clés :** Antibiorésistance - Antibiotique - prélèvement - *Escherichia coli*

**Abstract :**

Antibiotic resistance is a problem of growing importance in medical practice. It concerns today the whole microbial world and all therapeutic antibiotic families. Our study aims to draw up an inventory of the bacteria isolated, at the level of a microbiological analysis laboratory, from different types of samples (urine, stools, discharge, semen, and pus), and then to study their resistance profile with respect to some antibiotics used in therapy. Of the 50 strains that were isolated from the different samples; (58%) were *Escherichia coli*. (30%) *Staphylococcus*, (10%) *Proteus mirabilis*, (2%) *Pseudomonas*. The antibiogram revealed quite high rates of resistance for betalactam, where the percentages were 65% for amoxicillin clavulanic acid, 40% for amoxicillin and 30% for cefazolin (cephalosporin of 1st generation), and sulfonamides which also showed a high rate that of 42.50% for trimethoprim-sulfamethoxazole. In contrast, gentamicin recorded a much lower rate. The multiresistance to reveal alarming rates where 66% of the isolates were resistant to at least 02 different antibiotics and 6% were resistant to 5 different antibiotics at the same time.

**Key words:** Antibiotic resistance - antibiotic - sample - *Escherichia coli*

**ملخص:**

تعتبر مقاومة المضادات الحيوية مشكلة متنامية في الممارسة الطبية. اليوم يتعلق الأمر بالعالم الميكروبي بأكمله وجميع عائلات المضادات الحيوية العلاجية. تهدف دراستنا إلى إجراء جرد للبكتيريا المعزولة، على مستوى معمل التحليل الميكروبيولوجي، قادمة من أنواع مختلفة من العينات (البول، البراز، الفوائد، الحيوانات المنوية، والقيح)، في البداية ثم دراسة هذه العينات. ملف المقاومة لبعض المضادات الحيوية المستخدمة في العلاج. من بين الخمسين سلالة التي تم عزلها من العينات المختلفة؛ (58%) كانت الإشريكية القولونية. (30%) المكورات العنقودية، (10%) المتقلبة الرائحة، (2%) الزائفة. أظهر المضاد الحيوي معدلات مقاومة عالية نسبياً لفيتامينات البيتا لاكتين، حيث كانت النسب 65% لحمض الكلافولانيك أموكسيسيلين، 40% للأموكسيسيلين و30% للسيفازولين (الجيل الأول من السيفالوسبورين)، والسلفوناميدات التي أظهرت أيضاً نسبة عالية من 42.50% لتريميثوبريم سلفاميثوكسازول. في المقابل، سجل الجنتاميسين معدل أقل بكثير. كشفت المقاومة للأدوية المتعددة عن معدلات مثيرة للقلق حيث كانت 66% من العزلات مقاومة لما لا يقل عن 02 مضاد حيوي مختلف و6% كانت مقاومة لـ 5 مضادات حيوية مختلفة في وقت واحد.

الكلمات المفتاحية: مقاومة المضادات الحيوية - أخذ عينات - المضادات الحيوية - الإشريكية القولونية