

Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry of High Education and Scientific Research
Abbes Laghrou University- Khenchela-
Natural and life sciences Faculty
Molecular and Cellular Biology Department



N° de série :

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES DE MASTER ACADEMIQUE

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

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité: **Génétique**

Présenté par :

Ikram BOUMARAF

Rayen AFOUFOU

Thème

Entérobactéries uro-pathogènes : aptitude de
formation de biofilm et déterminisme
génétique de la résistance aux antibiotiques.

Mémoire soutenu publiquement le 16 /06 / 2025 Devant le jury composé de :

Dr Malika SAIDI

MCB, Université Abbès LAGHROUR Khenchela, Présidente

Dr Zakaria BOUTARFI

MCB, Université Abbès LAGHROUR Khenchela, Encadrant

Dr Youcef DALLI

MCB, Université Abbès LAGHROUR Khenchela, Examineur

Année universitaire 2024/ 2025

لا اله الا الله
محمد رسول الله

Remerciements

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements au Dr Zakaria BOUTARFI, notre directeur de mémoire, pour sa présence constante, ses conseils avisés, sa rigueur scientifique et son soutien constant tout au long de cette étude.

Au Dr Malika SAIDI :

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de présider ce jury. Nous vous remercions et vous exprimons notre profonde gratitude et notre profond respect.

Au Dr Youcef DALLI :

Merci d'avoir accepté d'examiner notre travail. Vous nous avez fait l'honneur de participer au jury.

Nous tenons également à remercier nos professeurs pour la qualité de leur enseignement et de leur encadrement tout au long de notre parcours universitaire.

MERCI

Dédicace

*À ceux dont la vie a été mon miroir et mon soutien à chaque instant :
mes frères.*

*À ma petite famille qui me suffit face au monde entier,
À ceux qui m'ont offert tendresse et appui, malgré ma solitude parmi
eux,*

*Je vous dédie cette réussite,
Car vous avez été la lumière sur mon chemin, et les prières sincères en
mon absence,*

*Et parce que vous êtes la raison pour laquelle je suis ce que je suis
aujourd'hui.*

*À ma mère et à ma tante,
Vous qui avez semé en moi l'amour du savoir, et l'avez arrosé de
patience et de prières,
Vous qui étiez toujours là, même en mon absence, et un réconfort dans
mes moments d'épuisement.*

*Et à mon père,
Mon premier modèle, mon soutien éternel,
Toi qui m'as appris à affronter la vie avec dignité et fierté.*

*A mon cher binôme Ikram
Je vous dédie ce travail modeste,
Fruit de votre amour, de votre patience et de vos prières sincères.*

Rayen AFOUFOU

Dédicace

Louange à Dieu qui a guidé mes pas sur le réuséite, et gratitude infinie pour le don précieux de la santé, sans lequel ce succès n'aurait pu être atteint

Mon très cher père ABDELAALI

celui qui a orné mon nom des plus beaux titres, qui m'a soutenu sans limites et m'a donné sans rien attendre en retour, il m'a appris que le monde est e lutte et que son arme est la connaissance et la science, celui qui a inculqué dans mon âme les vertus de la morale, et ma fierté et à mon honneur.

Ma très chère et douce mère Djemaa

celle qui a fait le ciel sous ses pieds, dont le cœur m'a embrassé avant sa main, et dont les prières ont facilité mes difficultés, Le secret de ma force et de mon succès, c'est l'éclat de ma vie " ma mère Djemaa"

À mes frères Idriss, Waíl et Mohssin

Ma côte ferme et la sécurité de mes jours, mon inspiration pour mon succès, et la joie de mes yeux.

A mes meilleures amies "Samia et Chaïma". tous ceux qui ont été une aide et un soutien sur ce chemin.

A man cher binôme "Rayen".

J'espère que Dieu Tout-Puissant me fera bénéficier de ce qu'il m'a enseigné et m'enseignera ce que je ne sais pas et en fera un argument pour moi, et non contre moi.

Ikram BOUMARAF

Résumé

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer le pouvoir d'adhésion des souches d'entérobactéries impliquées dans les infections urinaires, ainsi que leurs profils de résistance aux antibiotiques.

Cette étude se concentre sur les entérobactéries responsables d'infections urinaires, en s'appuyant sur un ensemble d'axes clés pour comprendre leur pathogénicité et leur résistance aux traitements. Dans un premier temps, nous avons identifié des souches bactériennes isolées à partir d'échantillons d'urines provenant de patients présentant des signes d'infections urinaires, ce qui nous a permis d'isoler une collection de 77 souches appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ces isolats ont fait l'objet de tests afin d'évaluer leur capacité de résister à 22 molécules d'antibiotiques et de former des biofilms.

Les résultats de la présente étude ont montré que certaines de ces souches étaient capables de résister à plusieurs antibiotiques à la fois ce qui peut refléter la mosaïque des gènes hébergés par ces bactéries. Cette résistance peut être davantage compliquée par la formation de biofilm, mise en évidence chez la moitié des isolats.

Ces résultats nous ont permis de décrire l'état actuel de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uro-pathogènes dans la région de Khenchela ce qui nous incite à un bon usage des antibiotiques afin de préserver l'efficacité des molécules.

Mots-clés: Antibio-résistance, Biofilm, Entérobactéries, Infections urinaires.

Abstract

The main objective of our study is to evaluate the adhesion capacity of *Enterobacteriaceae* strains involved in urinary tract infections, as well as their antibiotic resistance profiles.

This study focuses on *Enterobacteriaceae* responsible for urinary tract infections, based on several key aspects to better understand their pathogenicity and resistance to treatment.

First, we identified bacterial strains isolated from urine samples collected from patients showing clinical signs of urinary tract infections, which allowed us to isolate a collection of 77 strains belonging to the *Enterobacteriaceae* family. These isolates were tested to assess their ability to resist 22 different antibiotic molecules and to form biofilms.

The results of this study showed that some of these strains were able to resist multiple antibiotics simultaneously, which may reflect the genetic mosaic carried by these bacteria. This resistance can be further complicated by biofilm formation, which was observed in half of the isolates.

These findings enabled us to describe the current state of antibiotic resistance in uropathogenic *Enterobacteriaceae* in the Khenchela region, highlighting the need for the proper use of antibiotics in order to preserve the efficacy of these molecules.

Keywords: Antibiotic resistance, Biofilm, *Enterobacteriaceae*, urinary tract infection.

ملخص

الهدف الرئيسي من دراستنا هو تقييم قدرة الالتصاق لدى سلالات الإشريكية القولونية (الانثروبكتيريات) المتورطة في التهابات المسالك البولية، بالإضافة إلى دراسة أنماط مقاومتها للمضادات الحيوية. تركز هذه الدراسة على الانثروبكتيريات المسؤولة عن التهابات المسالك البولية، وذلك بالاعتماد على مجموعة من المحاور الأساسية لفهم قدرتها الإمراضية ومقاومتها للعلاجات. في المرحلة الأولى، قمنا بعزل سلالات بكتيرية من عينات بول لمرضى يُظهرون أعراض التهابات بولية، مما مكننا من جمع 77 سلالة تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae. وقد خضعت هذه العزلات لاختبارات لتقييم قدرتها على مقاومة 22 نوعاً من المضادات الحيوية وكذلك قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية.

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن بعض هذه السلالات كانت قادرة على مقاومة عدة مضادات حيوية في الوقت نفسه، وهو ما يعكس احتمال امتلاكها لمجموعة متنوعة من الجينات. وتزداد هذه المقاومة تعقيداً مع قدرتها على تشكيل البيوفيلم، وهو ما تم إثباته في نصف العزلات المدروسة .

مكنتنا هذه النتائج من وصف الوضع الحالي لمقاومة المضادات الحيوية لدى الانثروبكتيريات المسببة لعدوى المسالك البولية في منطقة خنشلة، مما يسלט الضوء على ضرورة الاستخدام الرشيد للمضادات الحيوية من أجل الحفاظ على فعاليتها.

الكلمات المفتاحية: الانثروبكتيريات، البيوفيلم، التهاب المسالك البولية، مقاومة المضادات الحيوية.

Liste des abréviations

°C: Degré Celsius.

ADH: Test d'arginine dihydrolase

ADN: Acide Désoxyribo Nucléique.

AHL: Acyl Homosérine Lactone.

AMC: Amoxicilline + Acide clavulanique.

AMK: Amikacine

AMX:Amoxicilline .

AMX+AC: Amoxiciline +Acide clavunalique

ARN: Acide ribonucléique.

ARNr: Acide ribonucléique ribosomique.

ATB: antibiotiques.

ATM: Aztréonam

BEV: vésicules extracellulaires bactériennes.

BGN: Bacilles Gram Négatif.

BHIA: Brain Heart Infusion Agar.

BHIB: Brain Heart Infusion Bouillon.

blaTEM / blaCTX-M: B-lactamases, enzymes qui hydrolysent les β -lactamines.

CFL: cefalotine.

CFM: Céfixime.

CFZ: Céfazoline.

CHL: Chloramphénicol (CHL).

CIP: Ciprofloxacine.

CIT: Test au citrate.

CLSI: Clinical Laboratory Standard Institute.

COL: Colistine.

CTX: Céfotaxime.

dfrA: dihydrofolate réductase, résistance au triméthoprim.

EPS: Exopolysaccharides.

F: Furanes.

FIgM: Gène flagellaire M.

FIhDC: Gènes flagellaires D +.

FliA: Gène flagellaire A.

FOS: Fosfomycine.

FOX: Céfoxitine.

GEL: Test d'hydrolyse de la gélatine.

GEN: Gentamicine.

GyrA: sous-unité A de la DNA gyrase.

H₂S: Sulfure d'hydrogène.

I: Intermédiaire.

IPM: impeneme.

LDC: Test de lysine décarboxylase.

LPS: Lipopolysaccharides.

mdfA: pompe d'efflux à large spectre.

MEM: Méropénème.

NAL: Acide nalidixique.

NTF: Nitrofurantoïne.

ODC: Test d'ornithine décarboxylase.

parc: sous-unité C impliquée dans la séparation des chromosomes.

PIP: Piperacilline.

PLP: Protéines liant la pénicilline (PLP).

QS: Quorum sensing.

R: Résistant.

RCA: Rouge Congo Agar.

S: Sensible.

SFM: La Société Française de Microbiologie.

SMT: Bactrim.

Spp: Espèce.

TIC: Ticarcilline.

URE: Test d'uréase.

VP: Test de Voges-Proskauer.

Liste des figures

Figure 1: Schéma général d'identification des bacilles Gram négatif.....	3
Figure 2: Structure de l'enveloppe des entérobactéries (Gram négatif).....	5
Figure 3: Points clés de la définition du biofilm.	13
Figure 4: Etapes de formation d'un biofilm.	16
Figure 5: Classification des antibiotiques β -lactamines	19
Figure 6: Structure de base des antibiotiques bêta-lactamines..	20
Figure 7: structure de tétracyclines	22
Figure 8: structure des aminosides.	23
Figure 9: Structure générale et sous-classes des quinolones	24
Figure 10: Principaux mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques	26
Figure 11: Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques.....	29
Figure 12: API 20E.....	36
Figure 13: Représentation schématique du protocole de la conservation à -80°C.....	37
Figure 14: Schéma d'un antibiogramme illustrant la diffusion d'un antibiotique et la zone d'inhibition bactérienne.....	38
Figure 15: Répartition des isolats en fonction de l'espèce.	40
Figure 16: répartition des souches en fonction de région d'isolement.....	41
Figure 17: Répartition des isolats en fonction du sexe.	42
Figure 18: Répartition des souches en fonction de l'âge.....	43
Figure 19: Prévalence de la résistance aux antibiotiques.	44
Figure 20: Répartiton des isolats en fonction de leurs aptitudes de formation de biofilm ..	45
Figure 21: Evaluation de la formation de biofilm par la méthode de microplaques.....	46

Liste des tableaux

Tableau 1: Principaux groupes d'Entérobactéries.....	6
Tableau 2: Resistances naturelles des enterobacteries aux B-lactamines.....	30
Tableau 3: Répartition des isolats en fonction du sexe.....	42
Tableau 4: Répartition des souches en fonction de l'âge.....	43
Tableau 5: Evaluation de la formation de biofilm par Rouge Congo Agar.....	46

List des photos:

Photo 1: Lecteur de microplaque.....39

Sommaire

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des photos	
Introduction	1
Synthèse bibliographique	
1. Les entérobactéries	3
1.2. Structure des entérobactéries	3
1.3. Taxonomie et phylogénie	5
1.4. Caractéristiques des principales entérobactéries impliquées dans les infections urinaires	7
1.4.1. <i>Escherichia coli</i>	7
1.4.1.1. Taxonomie	7
1.4.1.2. Caractères génétiques	7
1.4.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	7
1.4.2.1. Taxonomie	8
1.4.2.2. Caractères génétiques	8
1.4.3. <i>Enterobacter</i> spp	8
1.4.3.1. Taxonomie	9
1.4.3.2. Caractères génétiques	9
1.4.4. <i>Proteus mirabilis</i>	9
1.4.4.1. Taxonomie	10
1.4.4.2. Caractère génétique	10
2. physiopathologie pathogène des infections urinaires	11
3. Biofilm	12
3.1. Définition d'un biofilm	12
3.2. Les étapes de formation de biofilm	13
3.2.1. Conditionnement de la surface	13
3.2.2. Transport des bactéries vers son support	13
3.2.3. Adhésion	14
3.2.3.1. Adhésion réversible	14
3.2.3.2. Adhésion irréversible	14
3.2.4. Formation des microcolonies	15
3.2.5. Maturation de biofilm	15
3.2.6. Dispersion du biofilm	15
3.3. Facteur influençant de la formation du biofilm	16
3.3.1. Facteur lié à la surface	16
3.3.2. Facteur lié aux microorganismes	16
3.4. Transfert d'information génétique au sein du biofilm	17
3.5. biofilm comme facteur de virulence	17
3.6. Quorum-Sensing (QS)	18
4. les antibiotiques	18
4.1. Classification des antibiotiques	19
4.1.1. Les bêta-lactamines	19

4.1.1.1. Mode d'action des β -lactamines	20
4.1.1.2. Les différentes familles de β -lactamines et leurs mécanismes d'action	20
4.1.2. Les tétracyclines	21
4.1.2.1. Mode d'action de tétracyclines	22
4.1.3. Les aminosides	22
4.1.3.1. Mode d'action des aminosides	23
4.1.4. Les Quinolones	23
4.1.4.1. Mode d'action de Quinolones	24
5. Mécanisme de résistance aux antibiotiques	24
5.1. Imperméabilité bactérienne	24
5.2. Systèmes d'efflux	24
5.3. Modification de la cible	25
5.4. Inactivation enzymatiques	26
6. types de résistance aux antibiotiques	26
6.1. Résistance naturelle	27
6.2. Résistance acquise	27
6.3. Résistance par mutation chromosomique	27
6.4. Résistance par acquisition de matériel génétique exogène (extra chromosomique)	28
6.4.1. Conjugaison	28
6.4.2. Transformation	28
6.4.3. Transduction	28
6.5. Résistances naturelles des entérobactéries	29
7. Le support de la résistance aux antibiotiques	30
7.1. La résistance chromosomique	30
7.2. La résistance plasmique	31
7.3. transposon	31
7.4. Les intégrons	32
8. Biofilm et la résistance aux antibiotiques	32
Matériel et méthodes	
Cadre d'étude:	34
2. Echantillonnage	34
2.1. L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU)	34
2.1.1. Technique et les Conditions de prélèvement de l'ECBU	34
3. Isolement et Identification	35
3.1. Test d'oxydase	35
3.2. Identification par la galerie API 20 ^E	36
3.2.1. Principe	36
3.2.2. Mode opératoire	36
4. Conservation	37
5. Antibiogramme	38
5.1. Lecture et interprétation	38
5.2. Evaluation du pouvoir adhésif	39
Résultats et discussion	
1. Répartition des isolats en fonction de l'espèce	40
2. Répartition des souches en fonction de région d'isolement	40
3. Répartition des isolats en fonction du sexe	41

4. Répartition des souches en fonction de l'âge	42
5. Prévalence de la résistance aux antibiotiques	43
6. Evaluation de la formation de biofilm	45
6.1. Technique de Rouge Congo Agar	45
6.2. Technique de microplaque	46
Conclusion	47
Référence bibliographique	48
Annexes	I-IV



Introduction

Introduction

Les entérobactéries constituent une très vaste famille de Bacilles à Gram négatif dont l'ordre taxonomique est celui des *Enterobacteriales* (Mirabaud, 2003). Elles sont ubiquitaires et peuvent coloniser différentes niches écologiques dont le tractus digestif humain et animal où elles constituent une grande partie de sa flore normale et participent à plusieurs processus physiologiques nécessaires à la survie et le bien-être de l'hôte entre autres la stimulation du système immunitaire et la production de certaines vitamines (Moreira et al., 2024). Néanmoins, certaines d'entre elles peuvent être pathogène-opportunistes provoquant ainsi des infections variées notamment lors de la colonisation des sites extra-intestinaux, tels les voies urinaires qui sont le motif de consultation le plus fréquent en médecine humaine et celui qui génère le plus de prescription d'antibiotiques dans le monde. Les entérobactéries, telles que *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. ou *Proteus* spp. sont fréquemment isolées chez les patients atteints de ce genre de pathologies. Leur succès infectieux repose sur un certain nombre de facteurs de virulence facilitant la colonisation de l'appareil urinaire et l'évitement au système immunitaire de l'hôte. Parmi eux, la formation de biofilms qui se présente comme un mécanisme central (Flores et al., 2015).

La lutte contre les biofilms et la maîtrise de leur implication dans la dissémination des agents pathogènes en milieu clinique reposent avant tout sur une compréhension approfondie de leur physiologie, ainsi que sur l'évaluation de la capacité des souches d'origine clinique à adopter ce mode de vie particulier. Bien que la formation de biofilms par les bactéries soit un phénomène largement reconnu et soutenu par de nombreuses études, un débat persiste à l'échelle internationale concernant l'influence de la capacité de formation de biofilm sur la réduction de la sensibilité aux antibiotiques.

Dans le cadre de cette étude, nous avons adopté une approche méthodologique structurée en deux volets. Le premier est une revue bibliographique visant à explorer les aspects théoriques liés à notre thématique de recherche. Le deuxième volet, complémentaire, consiste en une investigation expérimentale portant sur les axes suivants :

- L'analyse de la distribution des entérobactéries impliquées dans les infections des voies urinaires dans la région de Khenchela.
- L'évaluation de la capacité d'adhésion des souches isolées

Cette double approche vise à renforcer notre compréhension des mécanismes d'adhésion bactérienne et de persistance, tout en apportant des données inédites sur les souches locales, utiles pour le développement de stratégies thérapeutiques adaptées.

A decorative scroll graphic with a central text box. The scroll is represented by a black outline with rounded corners and a vertical strip on the left side. Two circular elements at the top corners represent the scroll's ends. The text "Synthèse bibliographique" is centered within a rectangular box inside the scroll.

Synthèse bibliographique

1. Les entérobactéries :

La famille des *Enterobacteriaceae* regroupe un grand nombre de micro-organismes qui n'ont aucune préférence vis-à-vis l'oxygène (**figure 1**) et qui sont très distingués génétiquement avec des propriétés phénotypiques communes telles que la nature de la paroi (**Janda et Abbott, 2006**).

Les entérobactéries peuvent facilement se répandre par contact manuel ou par la contamination de l'eau et des aliments. De plus, ces bactéries peuvent aisément se procurer du matériel génétique par transfert de gènes entre espèces (**Janda et Abbott, 2006**).

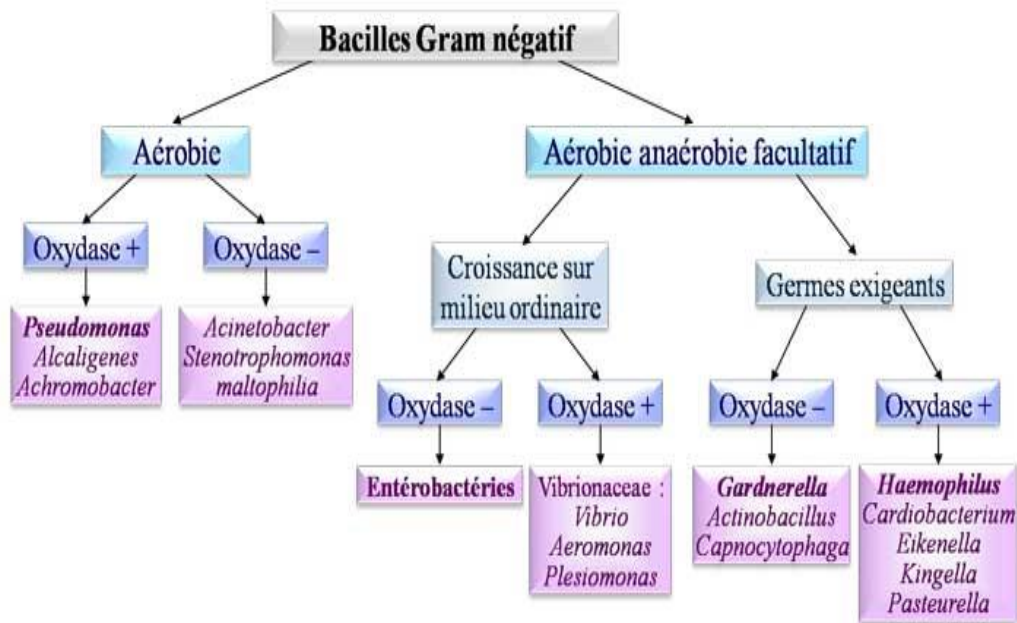


Figure 1: Schéma général d'identification des bacilles Gram négatif (*Memobie, 2025*)

1.2. Structure des entérobactéries :

Chez les bactéries à Gram négatif, l'enveloppe se compose de deux membranes, une membrane cellulaire dite cytoplasmique et une deuxième dite membrane externe, séparées par un périplasme qui se présente comme un compartiment aqueux (**Figure 2**) (**Silhavy et al., 2010**).

Leur structure cellulaire complexe leur confère une grande adaptabilité et un pouvoir pathogène important. Elles possèdent une enveloppe cellulaire trilamellaire typique des bactéries Gram négatif : une membrane externe, une couche mince de peptidoglycane dans l'espace périplasmique, et une membrane cytoplasmique interne (**Nikaido, 2003**).

La membrane externe est enrichie en lipopolysaccharides (LPS), constitués de trois parties : le lipide A (endotoxine responsable des réactions inflammatoires), le cœur oligosaccharidique, et la chaîne latérale O-antigène, jouant un rôle majeur dans la reconnaissance immunitaire et la virulence. Le LPS agit comme une barrière contre certains antibiotiques et détergents (**Raetz et Whitfield, 2002**).

Certaines espèces d'entérobactéries sont encapsulées, grâce à une capsule polysaccharidique entourant leurs parois cellulaires. Cette capsule confère une protection contre la phagocytose et participe à la formation de biofilms en facilitant la colonisation des surfaces, biotiques et abiotiques en particulier dans les voies urinaires et sur les dispositifs médicaux (**Vu et al., 2009**).

Sur le plan de la motilité, de nombreuses espèces d'entérobactéries sont capables de se déplacer activement grâce à la présence de flagelles. Le flagelle bactérien est une structure complexe composée de trois parties principales : le corps basal, le crochet et le filament. Cette motilité assure un déplacement efficace en milieu liquide et facilite la chimiotaxie, c'est-à-dire l'orientation du mouvement en réponse à des gradients chimiques. La biosynthèse et l'assemblage du flagelle sont régulés par une hiérarchie génétique organisée en trois classes. Les gènes de classe 1, tels que *flhDC*, codent un facteur de transcription maître nécessaire à l'activation des gènes de classe 2. Ces derniers contrôlent la synthèse du corps basal et du crochet, ainsi que l'expression de *FliA* (facteur sigma 28) et de *FlgM* (un facteur anti-sigma qui régule *FliA*). Enfin, les gènes de classe 3, activés par *FliA*, codent les composants terminaux du flagelle, notamment le filament, et sont essentiels à l'acquisition d'une motilité fonctionnelle (**Lane et al., 2005**).

Outre leur rôle dans la mobilité, les flagelles participent également à la virulence bactérienne, en facilitant l'adhésion, l'invasion des tissus de l'hôte, et en contribuant à l'échappement aux mécanismes de défense immunitaire (**Lane et al., 2005**).

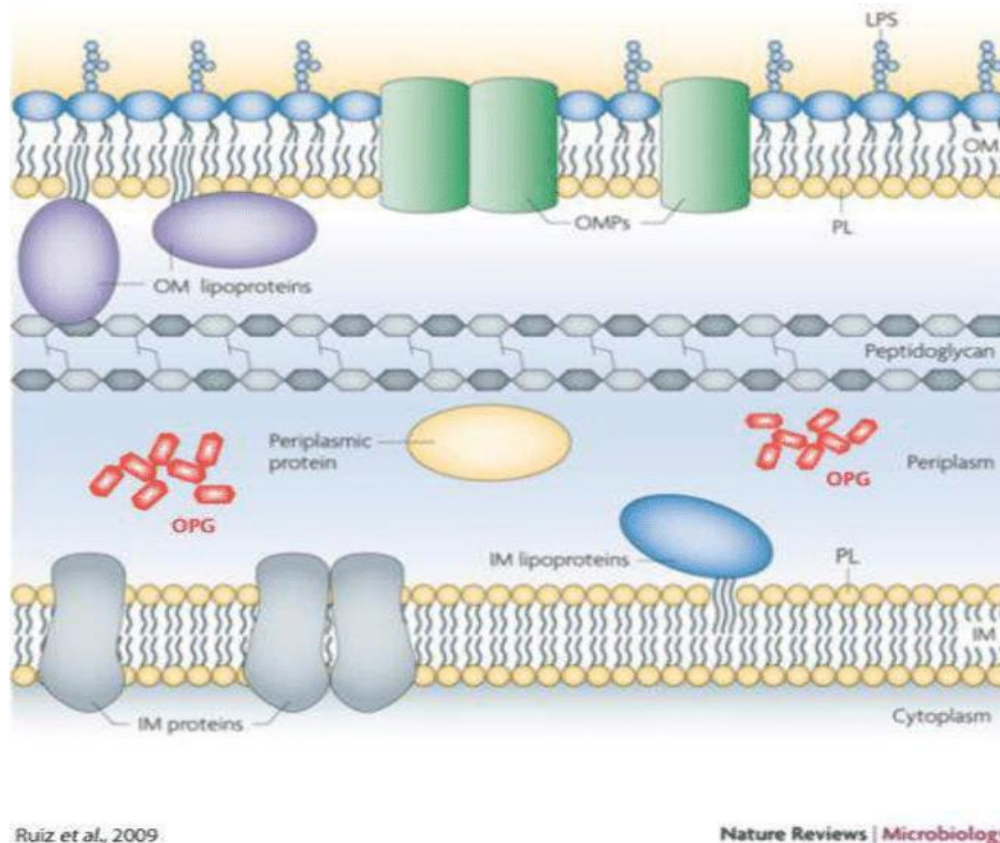


Figure 2: Structure de l'enveloppe des entérobactéries (Gram négatif) (Ruiz et al., 2009).

1.3. Taxonomie et phylogénie :

Les dernières avancées en technique de biologie moléculaire, notamment le séquençage du gène ADNr16S qui code pour la petite sous-unité ARN ribosomique, ont permis d'établir l'arbre phylogénétique actuelle des entérobactéries. Ce dernier les classe au sein du règne *Bacteria*, l'embranchement *Proteobacteria* cet embranchement est subdivisé en six classes, désignées de α (alpha) à ζ (zêta). Les entérobactéries relèvent spécifiquement de la classe des *Gamma Proteobacteria*, de l'ordre des *Enterobacteriales* (Woese et al., 1990 ; Munson, 2013).

La taxonomie des entérobactéries repose aujourd'hui sur une classification phylogénétique fondée sur l'analyse des séquences d'ADN. Cette classification s'appuie principalement sur des marqueurs moléculaires conservés, tels que la séquence du gène de l'ARN ribosomique 16S et celle des gènes codant pour des sous-unités de l'ADN polymérase III. Ces approches ont permis de clarifier les relations évolutives au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*, conduisant à leur regroupement en six grands clades phylogénétiques: le groupe A (*Escherichia*), le groupe B (*Salmonella*), le groupe C (*Shigella*), le groupe D

(*Citrobacter*), le groupe E (*Enterobacter*) et le groupe F (*Klebsiella*) (Tableau 1) (Garrity, 2005).

Tableau 1: Principaux groupes d'Entérobactéries (Perriere, 1992).

Groupes	Familles	Genres	Espèce
Groupe A	<i>Edwardsielleae</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>S. paratyphi</i> <i>S. enteritidis</i>
Groupe B	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
	<i>Levineae</i>	<i>Levinea</i>	
Groupe C	<i>Klebsielleae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxymore</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogen</i> <i>Enterobacter cloaceae</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
		<i>Erwinia</i>	
Groupe D	<i>Proteae</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus rettgerii</i>
		<i>Providencia</i>	
Groupe E	<i>Yersinieae</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i> <i>Y. pseudotuberculosis</i>

1.4. Caractéristiques des principales entérobactéries impliquées dans les infections urinaires

1.4.1. *Escherichia coli* :

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle fut découverte en 1885 par Théodore Escherich en 1885 (Maris, 2016), La rusticité d'*E. coli*, sa polyvalence, et sa facilité de manipulation en ont fait l'organisme le plus étudié et le mieux compris de la planète. Dans son état normal elle vit en symbiose dans le système digestif de l'homme et de nombreux animaux à sang chaud. Elle se caractérise par sa thermo tolérance et présente a sa surface des antigènes de nature polysaccharidique comme les antigènes O et K et les antigènes flagellaires « H » responsables de la mobilité(Croxen et al., 2013).

E.coli est fréquemment associée aux infections urinaires, ou elle est isolée dans 80% des cas, ainsi qu'à d'autres maladies telles que les bactériémies, les abcès hépatiques, etc.,(Clermont et al., 2013 ; Croxen et al., 2013).Ces infections peuvent être d'origine endogène ou exogène. Pour ces souches, une transmission aux patients peut se produire par le biais des pratiques de soins. On les observe à la fois dans des environnements hospitaliers et communautaires (Foxman, 2010). quatre phylogroupes principaux ont été identifiés chez *E. coli* : A, B1, B2 et D (Clermont et al., 2013).

1.4.1.1.Taxonomie(Clermont et al., 2012).

- Phylum :*Protéobactéries* .
- Classe : Gamma Proteobacterie .
- Famille : *Enterobacteriaceae*.
- Genre : *Escherichia*.
- Espèce : *Escherichia coli* .

1.4.1.2 Caractères génétiques

Escherichia coli est une bactérie dotée d'une grande flexibilité génomique. Grâce à son instabilité génomique et sa capacité d'effectuer des transferts génétiques horizontaux,elle peut agir comme un agent pathogène intestinal ou extra-intestinal. en plus, c'est une espèce clonale par excellence (Yu et al., 2021).

1.4.2. *Klebsiellapneumonie*

Klebsiella pneumoniae, est un pathogène opportuniste identifié pour la première fois en 1887, il s'agit d'un germe immobile et encapsulée, appartenant à la famille des

Entérobactéries. Avec une présence ubiquitaire, fermentant le lactose (**Podschun et Ullmann, 1998**).

1.4.2.1. Taxonomie (**Podschun et Ullmann, 1998**).

- Règne : *Bactéria*.
- Embranchement : *Protéobactéria*.
- Classe : *Gamma Proteobacteria*.
- Ordre : *Enterobacteriales*.
- Famille : *Enterobacteraceae*.
- Genre : *Klebsiella*.

Le genre *Klebsiella* comprend cinq espèces dont les plus importantes *K.pneumoniae* et *K.oxytoca*, *Klebsiella granulomatis*, *Klebsiella variicola*, et *Klebsiella africana*(**Podschun et Ullmann, 1998**).

1.4.2.2. Caractères génétiques

La cellule de *Klebsiella* renferme un chromosome d'ADN bicaténaire et plus de six plasmides. Des souches spécifiques appartenant aux espèces *klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* abritent des plasmides porteurs de gènes (nif) qui favorisent la fixation de l'azote atmosphérique. Ces plasmides sont susceptibles d'être transférés à *Escherichia coli* K12 (**Temme et al., 2012**).

1.4.3. *Enterobacter* spp

Le genre *Enterobacter*, classé au sein de la famille des *Enterobacteriales*, regroupe des bacilles à Gram négatif, anaérobies facultatifs, capables de décarboxyler l'ornithine. Ces bactéries, d'environ 2 micromètres de longueur, sont dotées d'une mobilité assurée par des flagelles répartis sur toute la surface cellulaire, dits péricitriche (**Mezzatesta et al., 2012**).

Certaines espèces du genre *Enterobacter* sont non mobiles. La présence d'une capsule a également été observée chez plusieurs souches. L'ensemble des espèces appartenant à ce genre sont catalase-positives et oxydase-négatives. Leur température optimale de croissance est d'environ 30 °C. Elles fermentent le mannitol et produisent du gaz à partir de certains sucres. Sur le plan écologique, *Enterobacter* spp. est isolé fréquemment du sol et de l'eau, et certaines espèces présentent un caractère phytopathogène, affectant divers végétaux. Par ailleurs, ces bactéries font partie intégrante du microbiote intestinal naturel de l'homme et de nombreux animaux (**Mezzatesta et al., 2012**).

1.4.3.1. Taxonomie (O'Hara et al., 2000)

- **Domaine** : Bacteria
- **Phylum** : Proteobacteria
- **Classe** : Gammaproteobacteria
- **Ordre** : Enterobacterales
- **Famille** : *Enterobacteriaceae*
- **Genre** : *Enterobacter*
- **Espèces représentatives (Mezzatesta et al., 2012)** :
 - *Enterobacter cloacae*
 - *Enterobacter aerogenes* (désormais reclassé comme *Klebsiella aerogenes*)
 - *Enterobacter hormaechei*
 - *Enterobacter asburiae*
 - *Enterobacter kobei*
 - *Enterobacter cancerogenus*
 - *Enterobacter bugandensis*, etc.

1.4.3.2. Caractères génétiques

Le genre *Enterobacter* présente une grande diversité génétique lui conférant une forte capacité d'adaptation à divers environnements, notamment en milieu hospitalier. Son génome est constitué d'un chromosome circulaire de 5 à 6 Mb avec une teneur en GC variant entre 54 et 57 % (Peng et al., 2024).

Parmi les éléments génétiquement codés, on retrouve des systèmes de sécrétion (type I, II, VI), des sidérophores (entérobactine, aérobactine), des adhésines fimbriales, ainsi que des gènes impliqués dans la formation de biofilm, favorisant la persistance dans l'hôte (Mezzatesta et al., 2012).

1.4.4. *Proteus mirabilis*

Le pathologiste allemand Gustav Hauser a découvert le genre *Proteus* en 1885. Ce genre a été identifié comme une bactérie à Gram négatif, mobile, à l'uréase positive, négative au lactose, négative à l'indole, et produisant du sulfure d'hydrogène (O'Hara et al., 2000).

Il a été démontré que la bactérie *Proteus mirabilis* se trouve fréquemment dans les environnements naturels, tels que les eaux contaminées, le sol, et le fumier. Elle est également

présente dans les viandes en décomposition, les abcès, où il est responsable de 1 à 10 % des infections urinaires (*Schaffer et Pearson, 2017*).

1.4.4.1. Taxonomie (O'Hara et al., 2000).

- Règne : *Bacteria*.
- Embranchement : *Proteobacteria*.
- Classe : *Gamma Proteobacteria*.
- Ordre : *Entérobactériale*.
- Famille : *Enterobacteriaceae*.
- Genre : *Proteus*.
- Espèce : *Proteus mirabilis*.

1.4.4.2. Caractère génétique

Le génome de la bactérie *P. mirabilis* présente une composition GC (G+C) de 38,88%. Ces gènes codent pour les éléments d'un mécanisme qui permet l'injection de protéines bactériennes dans des cellules hôtes. Ce génome est formé d'un unique plasmide de 36289 nucléotides. Bien qu'il ne contienne aucun gène de virulence, il peut renfermer une bactériocine (*Pearson, 2008*). Le chromosome de *Proteus mirabilis* est nettement plus petit que ceux des entérobactéries, comportant 3,685 séquences codantes et sept loci d'ARNr (*Pearson et al., 2008*).

En comparaison avec d'autres entérobactéries, le chromosome de *P. mirabilis* est considérablement plus petit, mais il présente une richesse fonctionnelle remarquable (*Pearson et al., 2008*). En effet, le génome renferme (*Pearson et al., 2008*):

- Quatre copies en tandem du gène zapE (métalloprotéase).
- Six autotransporteurs putatifs.
- Une extension de l'opéron fimbrial atf.
- Six gènes dont un homologue à mrpJ.
- Cinq systèmes d'acquisition du fer.
- Deux systèmes potentiels de sécrétion de type IV.
- Et 16 régulateurs à deux composants.

2. physiopathologie pathogène des infections urinaires

Les infections urinaires, très courantes surtout chez la femme, sont majoritairement causées par des entérobactéries, notamment *Escherichia coli* uropathogène. L'infection commence souvent par la contamination de la région périnéale par des bactéries issues du tube digestif. Ces bactéries remontent ensuite l'urètre vers la vessie, en s'aidant de structures spécialisées appelées *fimbriae*, qui leur permet de s'accrocher aux cellules des voies urinaires. Une fois dans la vessie, elles s'attachent à la paroi interne et peuvent former un biofilm, une sorte de couche protectrice qui les rend plus résistantes au système immunitaire et aux antibiotiques. Certaines souches réussissent même à pénétrer à l'intérieur des cellules de la vessie, où elles peuvent rester cachées, ce qui explique les récurrences fréquentes. Cette invasion déclenche une réaction inflammatoire de l'organisme, responsable des symptômes typiques comme les brûlures lors de la miction, les envies fréquentes d'uriner et les douleurs dans le bas-ventre. Si l'infection n'est pas traitée à temps, elle peut s'étendre aux reins et provoquer une pyélonéphrite, parfois accompagnée de fièvre et de bactéries dans le sang (Flores et al., 2015).

Les infections urinaires causées par les entérobactéries, principalement *Escherichia coli*, s'installent selon un processus physiopathologique complexe impliquant plusieurs étapes coordonnées. L'infection débute par la contamination de la région périurétrale par des bactéries d'origine fécale, suivie de leur ascension vers l'urètre, facilitée par des facteurs anatomiques et comportementaux. Une fois atteinte la vessie, ces bactéries s'attachent fermement à l'uroépithélium grâce à des adhésines spécifiques, telles que les *fimbriae* de type 1 (reconnaissant les résidus mannose) et les *fimbriae* P (ciblant les glycolipides des cellules rénales). Cette adhésion est essentielle pour résister au flux urinaire et amorcer l'invasion des tissus. Certaines souches uropathogènes d'E. coli (UPEC) pénètrent ensuite les cellules épithéliales vésicales, où elles forment des communautés bactériennes intracellulaires (IBC), ce qui leur permet d'échapper à la réponse immunitaire et de persister malgré un traitement antibiotique. Parallèlement, la reconnaissance des pathogènes par les récepteurs Toll-like (TLR) de l'hôte déclenche une réponse inflammatoire aiguë, caractérisée par la libération de cytokines (IL-6, IL-8, TNF- α) et le recrutement massif de neutrophiles. Certaines entérobactéries forment également des biofilms, en particulier sur les cathéters urinaires, ce qui renforce leur résistance et favorise les infections chroniques ou nosocomiales. Dans les cas non traités ou sévères, l'infection peut s'étendre aux reins (pyélonéphrite) via une

ascension active le long des uretères, aboutissant potentiellement à une bactériémie ou un urosepsis, surtout chez les patients vulnérables (Flores *et al.*, 2015).

3. Biofilm

3.1. Définition d'un biofilm

Les biofilms bactériens se présentent en communautés organisées de cellules enfermées dans une matrice polymérique auto-produite, principalement composée d'exopolysaccharides, et on peut trouver aussi de protéines et des acides nucléiques. Ces communautés peuvent adhérer à des surfaces vivantes ou inertes, ou se maintenir en suspension sous forme d'agrégats (Madsen *et al.*, 2012).

À l'intérieur des biofilms, les bactéries adoptent un phénotype distinct, caractérisé par un ralentissement du taux de croissance, une modification de l'expression génétique et une tolérance accrue aux antibiotiques ainsi qu'aux réponses immunitaires. Cette structure favorise les interactions intercellulaires grâce à la forte densité bactérienne et à la proximité physique entre les cellules, ainsi qu'à l'accumulation locale de signaux chimiques et d'ADN extracellulaire. Ces interactions intercellulaires sont facilitées grâce à la transmission des signaux via des canaux présents dans la matrice extracellulaire, ces canaux permettant aussi une distribution efficace des nutriments et l'élimination des déchets, y compris dans les couches profondes. Il est désormais reconnu que ce mode de croissance est majoritaire dans les habitats bactériens naturels (Madsen *et al.*, 2012).

Dans la nature les biofilms sont souvent multi-espèces et présentent des architectures tridimensionnelles complexes, allant de microcolonies à des formes plus ramifiées imitant la structure fongique (Madsen *et al.*, 2012).

Sur le plan génétique, plusieurs gènes ont été identifiés comme étant associés à la capacité de formation de biofilm chez les entérobactéries. Parmi les plus étudiés figurent *fimH*, *papC*, *csgA*, *luxS* et *bssS*. L'expression de ces gènes est souvent régulée par des systèmes de communication intercellulaire tels que le *quorum sensing* (développe plus loin), qui permet une adaptation fine aux conditions environnementales (Lui *et al.*, 2008).

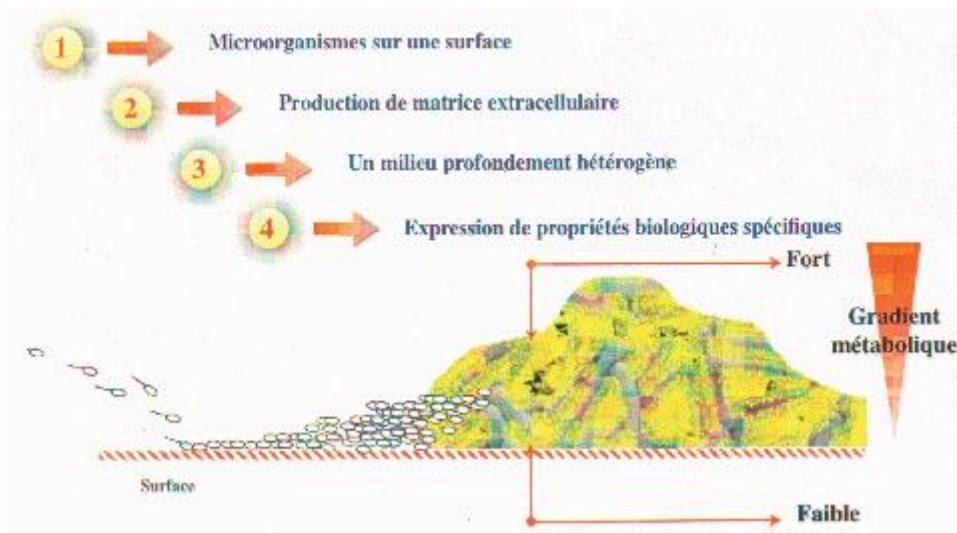


Figure 3: Points clés de la définition du biofilm. :L'architecture d'un biofilm est défini comme un ensemble de compartiments et composants déterminant sa structure et son l'activité, composé de quatre compartiments: la surface d'attachement des microorganismes, le biofilm lui-même(microorganismes et matrice d'EPS), la solution de nutriments et éventuellement la phase gazeuse (si elle existe) (Roux et Ghigo 2006).

3.2. Les étapes de formation de biofilm:

Les biofilms se forment progressivement en un cycle de croissance universel en six étapes(**figure 4**), affichant des traits communs quel que soit le phénotype des organismes. L'analyse directe des biofilms par microscopie, combinée à de nombreuses recherches génétiques sur ces structures, a conduit à la création d'un modèle de développement en plusieurs phases (Agnès et al., 2006).

3.2.1. Conditionnement de la surface

La phase initiale consiste en la création du biofilm conditionnant, constitué de protéines ou de fragments protéiques, de glucides, de lipides et de composés minéraux. Ces éléments sont utilisés pour altérer les propriétés physicochimiques de la surface, afin de créer un micro-environnement favorable à l'attachement des bactéries (Tremblay et al., 2014).

3.2.2. Transport des bactéries vers son support

Le transport des microorganismes vers la surface depuis le milieu ou un biofilm en phase de dispersion est influencé par plusieurs facteurs, y compris la nature, les mouvements et l'environnement. Le chimiotactisme, un facteur biologique, est défini comme la séquence de mouvements des flagelles d'une cellule ou des récepteurs spécifiques sensibles aux variations de concentration des nutriments disponibles (Hall et al., 2004).

Après la formation du film primaire, l'étape suivante consiste à transférer les microorganismes vers la surface. Ces microorganismes peuvent provenir soit de l'attraction

de bactéries présentes dans le milieu, soit d'un biofilm déjà établi dans l'environnement et qui est en phase de dispersion (Hall et al., 2004).

3.2.3. Adhésion

On distingue deux types d'adhésion: réversible et irréversible:

3.2.3.1. Adhésion réversible

Au départ, les cellules planctoniques microbiennes se déplacent dans l'eau par L'intermédiaire de forces physiques ou de flagelles. Lorsqu'elles se rapprochent d'une surface, des forces d'attraction ou de répulsion, variant en fonction des niveaux de nutriments, du pH, de la force ionique et de la température, provoquent une interaction réversible avec cette surface. surface (Høiby et al., 2011).

L'adhésion temporaire des bactéries à une surface indique que celles-ci se fixent sur un substrat tout en restant en mouvement brownien bidimensionnel, ce qui permet leur détachement facile, que ce soit par leur propre mobilité ou par les forces de cisaillement d'un liquide. Ce phénomène résulte d'interactions physique non spécifiques, telles que les forces électrostatiques, les interactions hydrophobes et les interactions van der Waals, conformément à la théorie DVLO (Stoodley et al., 2002). qui résulte de l'interaction entre un substrat solide et des bactéries sur une période donnée, ce qui peut provoquer la dissociation des cellules (Vilain et al., 2009).

3.2.3.2. Adhésion irréversible

La transition de la phase d'adhésion réversible à la phase d'adhésion irréversible s'effectuerait de manière très rapide. Une adhésion permanente qui se manifeste ultérieurement grâce à l'exopolymère sécrété par les bactéries, facilitant leur fixation sur le substrat. Dans ce contexte, des liaisons hydrophobes robustes se forment entre la surface et la bactérie (Flemming et Wingender, 2010). Les forces nécessaires pour le détachement des cellules doivent être considérablement plus élevées (grattage, ultrasons). À ce stade, le concept d'irréversibilité est lié aux nombreux points de contact qui aboutissent à une connexion à haute énergie. La rapidité et l'importance de l'adhésion microbienne sont affectées par des éléments tels que l'hydrophobicité de la surface, la présence d'appendices protéiques comme les pilis, les flagelles ou les *fimbriae*, ainsi que la composition et la proportion des exopolysaccharides (EPS) (Flemming et Wingender, 2010).

L'adhésion irréversible désigne une attache active et ciblée des microorganismes à une surface, résultant des interactions de courte portée telles que les liaisons hydrogène. Ce

processus est renforcé par la production d'EPS sécrétés par les bactéries et se poursuit durant la maturation du biofilm. (Høiby *et al.*, 2011)

3.2.4. Formation des microcolonies

Les bactéries fixées se reproduisent et se divisent soit par fission binaire, soit par division asymétrique. Cela conduit à une multiplication cellulaire et à une occupation de la surface, entraînant l'activation des seconds messagers, l'échange d'informations entre cellules et la première sécrétion de la matrice EPS. (Guzmán-Soto *et al.*, 2021).

L'agglutination, la multiplication et la reproduction des cellules peuvent donner lieu à des micro-colonies qui recouvriront partiellement ou totalement la surface traitée. Ces micro-colonies seront ensuite à l'origine de la formation d'un biofilm dont la complexité variera selon la composition bactérienne ainsi que les conditions chimiques et hydrodynamiques (Hall-Stoodley *et al.*, 2004).

3.2.5. Maturation de biofilm

Phase de maturation du biofilm Au cours de cette phase, le biofilm poursuit sa croissance exponentielle et subit une augmentation significative de son épaisseur, jusqu'à se transformer en un film hétérogène de dimensions variées .Le biofilm se développe et atteint sa maturité, s'épaississant jusqu'à devenir macroscopique s'il est laissé à maturation (Stoodley *et al.*, 2002).

3.2.6. Dispersion du biofilm

Les microorganismes peuvent se dissocier en raison du vieillissement du biofilm, de divers stress ou de carences, et ils peuvent revenir à un état dit « planctonique » ou coloniser de nouvelles surfaces plus propices (Kaplan, 2010).

Ce phénomène ne se limite pas à la phase finale de développement du biofilm, mais peut se produire, que ce soit par lyse cellulaire ou par l'évacuation de cellules viables, à chaque étape de la formation du biofilm et en réaction à une modification de l'environnement (Kaplan, 2010).

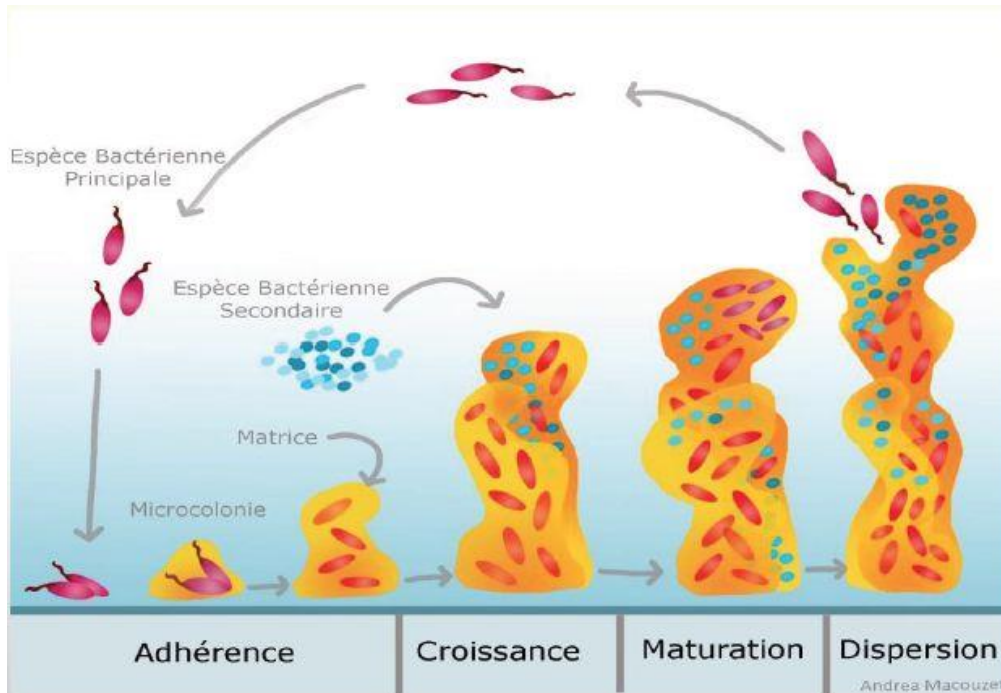


Figure 4: Etapes de formation d'un biofilm (Tremblay et al., 2014).

3.3. Facteur influençant de la formation du biofilm

3.3.1. Facteur lié à la surface

Les propriétés physico-chimiques d'une surface ont une influence directe sur la capacité des bactéries à s'y fixer. En général, plus la surface est rugueuse, plus elle facilite sa colonisation par les bactéries, car les irrégularités offrent des zones propices à l'ancrage des cellules. Sur le plan chimique, l'hydrophobicité joue également un rôle clé : les bactéries adhèrent plus facilement aux surfaces hydrophobes et non polaires, comme celles en verre ou en métal. De plus, la présence de films biologiques préexistants, tels que le sang, les larmes ou l'urine, peut modifier les caractéristiques de la surface et créer un environnement encore plus favorable à l'adhésion bactérienne et à la formation d'un biofilm (Donlan, 2002).

3.3.2. Facteur lié aux microorganismes

La densité de l'inoculum est directement proportionnelle au nombre de cellules capables de s'attacher à une surface. Par ailleurs, la composition de la surface cellulaire microbienne joue un rôle essentiel dans ce processus d'adhésion, notamment par la présence de protéines de surface, de *fimbriae*, ainsi que de lipopolysaccharides (Donlan, 2002).

L'hydrophobicité de la surface cellulaire, la présence de *fimbriae* et de flagelles, ainsi que la production d'EPS, jouent un rôle crucial dans l'adhésion des bactéries à une surface (Donlan, 2002).

3.4. Transfert d'information génétique au sein du biofilm

Le biofilm constitue un environnement idéal pour le transfert horizontal de gènes entre bactéries, notamment par conjugaison, un mécanisme où l'ADN est échangé directement entre deux cellules via un *pilus*. Ce processus est fortement favorisé dans les biofilms, où les cellules sont proches et en interaction constante (Öztürk et al., 2001).

Des études ont montré que la conjugaison est plus fréquente dans les biofilms que dans les milieux libres. Cela s'explique en partie par le rôle des plasmides conjugatifs, qui facilitent non seulement le transfert génétique, mais aussi l'adhésion des bactéries aux surfaces, leur donnant un avantage pour coloniser ces micro-environnements (Ochman et al., 2000).

Ce phénomène a des conséquences importantes, notamment dans la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques. Ainsi, l'utilisation excessive ou inadéquate d'antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire pourrait non seulement sélectionner des souches résistantes, mais aussi encourager la formation de biofilms persistants, difficiles à éradiquer, un enjeu majeur pour la santé publique (Hall et al., 2004).

3.5. biofilm comme facteur de virulence

Les agents pathogènes microbiens sont responsables d'infections persistantes en formant des biofilms et en produisant de nombreux facteurs de virulence. Les vésicules extracellulaires bactériennes (BEV) sont des nanostructures générées par différentes espèces bactériennes, jouant un rôle crucial dans le transport moléculaire (Jeong et al., 2024).

Les BEV contiennent divers éléments, tels que des lipides (glycolipides, LPS et phospholipides), des acides nucléiques (ADN génomique, plasmides et ARN court), des protéines (protéines membranaires, enzymes et toxines) ainsi que des molécules de signalisation détectant le quorum. Les BEV sont fondamentales pour la formation de substances polymères extracellulaires (EPS) dans les biofilms, car elles transportent des composants EPS comme les polysaccharides extracellulaires, les protéines et l'ADN extracellulaire. Il a été noté que les BEV transportent divers facteurs de virulence sécrétoires (Jeong et al., 2024).

3.6. Quorum-Sensing (QS)

Au sein d'un biofilm, les cellules bactériennes communiquent entre elles grâce à un mécanisme de régulation appelé *Quorum sensing* (QS). Ce système repose sur la production et la diffusion de molécules de signalisation, qui circulent à travers les micro-canaux de la matrice extracellulaire. Il permet aux bactéries de partager des informations, de coordonner leurs comportements collectifs, et d'estimer la densité cellulaire dans leur environnement immédiat. Le QS joue également un rôle clé dans le déclenchement du phénomène de dispersion des cellules planctoniques, un processus essentiel pour réguler la taille de la population bactérienne. Chez les bactéries à Gram négatif, les acyl-homosérines lactones (AHL) représentent la principale classe de molécules auto-inductrices impliquées dans ce processus. Leur synthèse est contrôlée par un système de régulation comprenant deux protéines, LuxI et LuxR, qui assurent la production du signal et la régulation de l'expression des gènes en réponse à la concentration des signaux (**Yung-Hua et Xiaolin, 2012**).

4. Les antibiotiques:

le terme « antibiotique » désigne une substance ayant une activité antibactérienne (**Kichou et al., 2020**). Il s'agit soit de métabolites produits naturellement par des micro-organismes tels que les bactéries ou les champignons, soit de composés obtenus par modification chimique de structures naturelles (semi-synthétiques), soit encore de molécules conçues de manière entièrement synthétique. Ces substances se caractérisent par les propriétés suivantes(**Levy et Marshall, 2004**):

- une activité antibactérienne spécifique,
- une efficacité en milieu biologique, c'est-à-dire dans les conditions complexes du corps humain ou animal.
- une bonne biodisponibilité, incluant une absorption efficace et une diffusion adéquate dans les différents tissus de l'organisme.

Les antibiotiques constituent des agents thérapeutiques essentiels en médecine pour le traitement des infections d'origine bactérienne. Leur sélection repose sur leur spectre d'activité et leur efficacité spécifique vis-à-vis de la souche bactérienne responsable de l'infection. Il en existe une grande variété, classée en plusieurs familles selon leur structure chimique et leur mécanisme d'action.

Ces molécules se distinguent par deux modes d'action principaux :

- les antibiotiques bactéricides, qui entraînent la destruction des bactéries,
- les antibiotiques bactériostatiques, qui inhibent leur croissance et leur multiplication (Pascale, 2014).

4.1. Classification des antibiotiques:

4.1.1. Les bêta-lactamines :

Les bêta-lactamines sont une grande famille d'antibiotiques bactéricides considérés comme les plus utilisés en traitement (Figure 5) (Mirabaud, 2003).

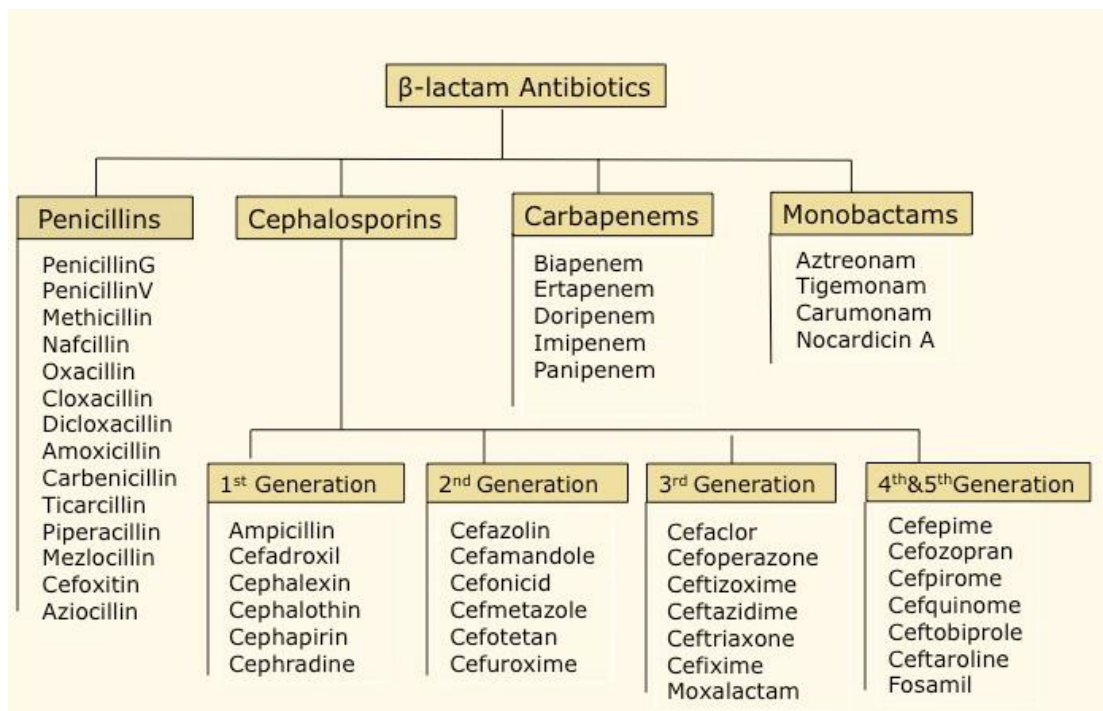


Figure 5: Classification des antibiotiques β-lactamines (Bush et Bradford, 2016)

Ces antibiotiques affaiblissent ou détruisent la paroi, ce qui entraîne la lyse de la cellule bactérienne et sa mort (Figure 6). C'est pourquoi on les qualifie d'antibiotiques bactéricides (Mehdi, 2008).

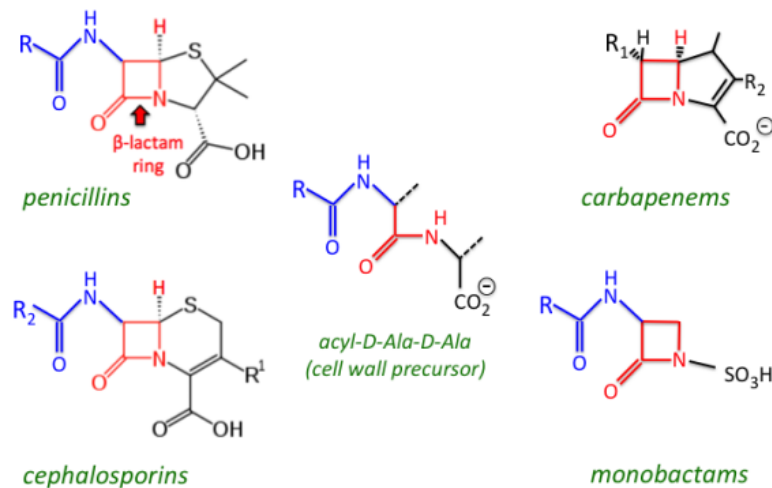


Figure 6: Structure de base des antibiotiques bêta-lactamines (AquaPortail, 2025).

4.1.1.1. Mode d'action des β -lactamines

Les β -lactamines agissent en bloquant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane, un composant essentiel de la paroi bactérienne. Grâce à leur structure similaire au dipeptide D-alanyl-D-alanine, elles se fixent de manière compétitive sur les protéines liant la pénicilline (PLP), situées sur la face externe de la membrane cytoplasmique. Ces PLP sont en réalité des enzymes, comme les transglycosylases, transpeptidases ou carboxypeptidases, responsables de l'assemblage et de la réticulation du peptidoglycane. En inhibant leur action, les β -lactamines perturbent la formation de la paroi cellulaire, entraînant la lyse bactérienne. Leur effet est donc bactéricide (Mammeri, 2012).

4.1.1.2. Les différentes familles de β -lactamines et leurs mécanismes d'action

➤ Pénicillines

Il s'agit d'un groupe de molécules caractérisées par la présence d'un noyau pénème, qui comprend un cycle thiazolidine saturé lié à un noyau β -lactame. Selon la nature spécifique de la chaîne latérale fixée à ce noyau, plusieurs sous-catégories ont été définies. Parmi celles-ci, on retrouve (Nikaido, 2009) :

- les aminopénicillines comme l'ampicilline et l'amoxicilline.
- les carboxypénicillines comme la ticarcilline.
- les amidinopénicillines, telles que le pivmecillinam.

➤ Céphalosporines

Les céphalosporines sont des antibiotiques contenant un noyau céphème, combinant un cycle β -lactame et un cycle dihydrothiazine. Elles sont classées en plusieurs générations chacun ayant un spectre d'activité différent (Nikaido, 2009):

- **Première génération (C1G)** : Efficaces principalement contre les bactéries Gram-positives (ex. céfalotine, céfazoline).
- **Deuxième génération (C2G)** : Couvrent un plus large spectre incluant les bactéries **Gram-négatives** (ex. céfamandole, céfuroxime).
- **Troisième génération (C3G)** : Actives contre la plupart des entérobactéries (ex. céfotaxime, ceftazidime).
- **Quatrième génération (C4G)** : Résistantes à l'hydrolyse des céphalosporinases, efficaces contre les entérobactéries résistantes aux C3G (ex. cefepime, cefpirome).

➤ Les pénèmes

Les pénèmes sont des antibiotiques contenant un cycle β -lactame et se divisent en sulfopénèmes, carbapénèmes et oxapénèmes. Les carbapénèmes sont particulièrement efficaces contre les bactéries Gram négatif et résistent à de nombreuses β -lactamases, ce qui les rend essentiels pour traiter les infections graves. Les principaux carbapénèmes sont imipénème, méropénème, ertapénème et doripénème (Papp-Wallace et al., 2011).

➤ Monobactames

Les monobactames sont des antibiotiques β -lactamines caractérisés par un unique cycle β -lactame non fusionné à un autre cycle, contrairement aux pénicillines ou aux céphalosporines (Katzung et al., 2012).

4.1.2. Les tétracyclines

Les tétracyclines ont un effet bactériostatique et une bonne capacité à pénétrer les cellules. De plus, ces molécules présentent une grande homogénéité. Elle se caractérise par une structure tétracyclique (**Figure 7**). On fait la distinction entre les cyclines naturelles et les cyclines semi-synthétiques (Chopra et Roberts, 2001).

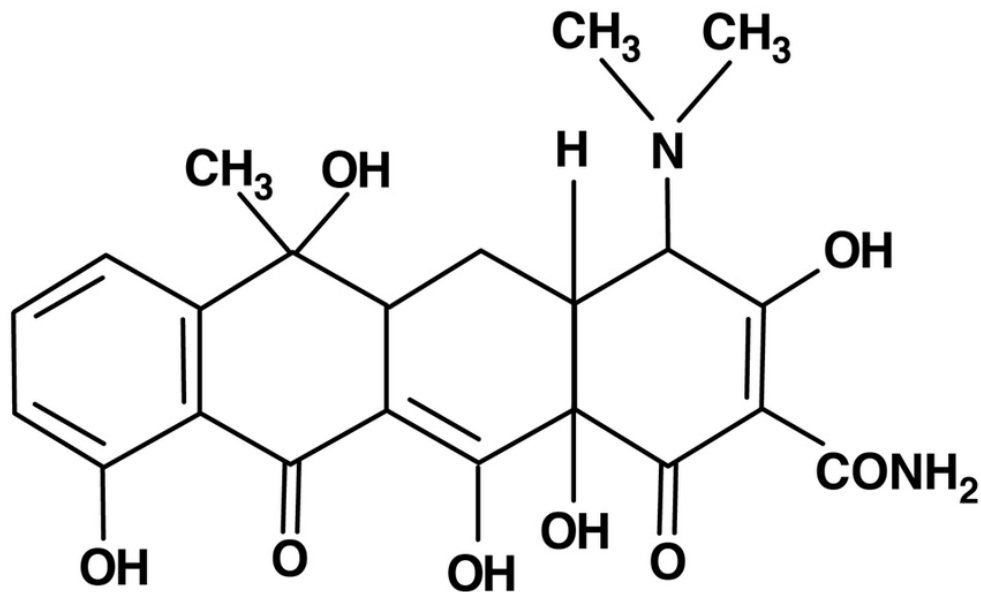


Figure 7: structure de tétracyclines (Chopra et Roberts, 2001).

4.1.2.1. Mode d'action de tétracyclines

Les cyclines, en particulier les tétracyclines, agissent en pénétrant dans le cytoplasme bactérien où elles se fixent sur la sous-unité 30S des ribosomes. Cette interaction empêche la traduction de l'ARN messager en protéines, inhibant ainsi la synthèse protéique. Leur action est bactériostatique, ce qui signifie qu'elles bloquent la croissance des bactéries sans les tuer directement (Mammeri, 2012).

- **Cyclines naturelles (Chopra et Roberts, 2001).**
- Chlortetracycline.
- Tetracycline base.
- **Cyclines semi-synthétiques**
- Oxytetracycline.
- Doxycycline .
- Minocycline.

4.1.3. Les aminosides :

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides caractérisés par une structure composée de plusieurs sucres aminés liés par des liaisons glycosidiques (**Figure 8**). D'origine naturelle (comme la streptomycine et la gentamicine) ou hémisynthétiques (comme l'amikacine, l'netilmicine et l'isapémicine). Ces antibiotiques sont efficaces et possèdent un large spectre d'action. Cependant, leur coefficient thérapeutique est relativement faible, ce qui

nécessite une surveillance rigoureuse. De plus, leur absence d'efficacité par voie orale limite leur utilisation, ce qui pousse souvent les prescripteurs à privilégier des antibiotiques plus faciles à administrer (Mingeot *et al.*, 1999).

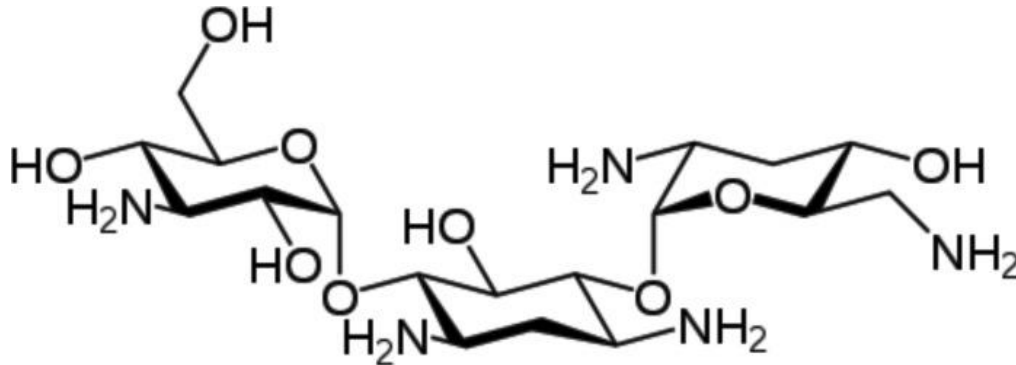


Figure 8: structure des aminosides (Davies et Wright, 1997).

4.1.3.1. Mode d'action

Ils agissent en perturbant la synthèse des protéines bactériennes en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome, ce qui entraîne une production de protéines défectueuses et mène à la destruction de la cellule bactérienne. Leur action est de type bactéricide (Mammeri, 2012).

4.1.4. Les Quinolones

Les quinolones sont utilisées pour traiter les infections urinaires. Ce sont des antibiotiques synthétiques dérivés de cycles hétérocycliques tels que la quinoléine, la naphtryridine ou la pyridopyrimidine (Figure 9). Parmi ces antibiotiques, on trouve la ciprofloxacine, la gémifloxacine et la norfloxacine. (Tran et Jacoby, 2002).

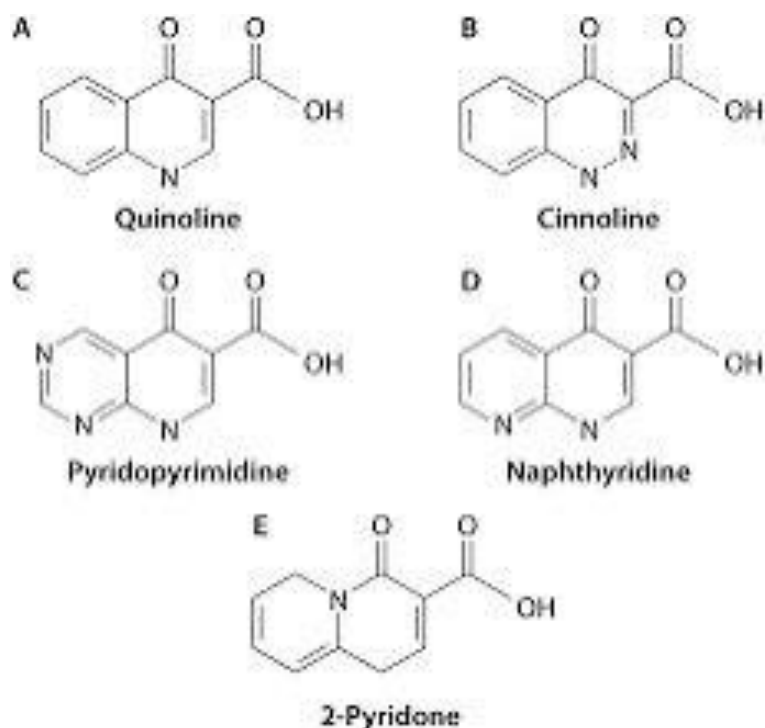


Figure 9: Structure générale et sous-classes des quinolones (**Ruiz et al.,2009**).

4.1.4.1. Mode d'action de Quinolones

Les quinolones inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe "ADN-ADN gyrase" en empêchant la réplication et transcription de l'ADN bactérien (**Mammeri, 2012**).

5.Mécanisme de résistance aux antibiotique

5.1. Imperméabilité bactérienne

La diminution de la perméabilité bactérienne est un mécanisme de résistance fréquent chez les bactéries à Gram négatif. Elle est liée à des modifications des porines (protéines formant des canaux dans la membrane externe) (**Figure 10**), qui peuvent être quantitatives ou qualitatives. Ces altérations limitent l'entrée des antibiotiques, réduisant ainsi leur concentration au site d'action et compromettant leur efficacité (**Schmieder et Edwards, 2012 ; Blair et al ., 2015**).

5.2. Systèmes d'efflux

Les systèmes d'efflux sont constitués de protéines membranaires qui agissent comme des pompes expulsant les antibiotiques de la cellule, soit du cytoplasme, soit de l'espace péri-cytoplasmique (**Figure 10**).

Ces systèmes peuvent être soit spécifiques conférant une diminution de la sensibilité à une molécule ou une famille de molécules, soit non spécifique, conférant une résistance croisée à plusieurs classes d'antibiotiques. Les bactéries possèdent souvent plusieurs pompes d'efflux dans leur physiologie normale, et elles jouent un rôle important dans la résistance intrinsèque aux antimicrobiens (**Zgorskaya et Nikaido, 2000**). Il y a plusieurs gènes codent également des protéines d'efflux:

DrfA et *mdfA* sont des gènes qui codent pour des protéines qui fonctionnent comme des pompes d'efflux dans la bactérie. Ces pompes aident la bactérie à expulser les médicaments et les substances toxiques hors de la cellule, ce qui contribue à sa résistance aux traitements (**Zgorskaya et Nikaido, 2000 ; Boutarfi et al., 2019**).

5.3.Modification de la cible

L'un des mécanismes majeurs de résistance bactérienne aux antibiotiques est la modification de la cible, souvent provoquée par des mutations ponctuelles dans les gènes codant pour les structures ou enzymes cibles des antibiotiques. Ce processus empêche l'antibiotique de se fixer efficacement à sa cible intracellulaire, réduisant ainsi son action inhibitrice. Par exemple, les fluoroquinolones agissent en inhibant l'ADN gyrase et la topoisomérase IV ; cependant, des mutations dans les gènes *gyrA* et *parC* modifient ces enzymes, entraînant une perte d'affinité pour l'antibiotique. De même, la rifampicine, utilisée contre *Mycobacterium tuberculosis*, devient inefficace lorsque des mutations surviennent dans le gène *rpoB*, qui code pour la sous-unité β de l'ARN polymérase (**Blair et al., 2015**). Ce phénomène est fréquent dans plusieurs types de résistances :

- Bêta-lactamines : altération des PLP (protéines liant la pénicilline) chez le pneumocoque.
- Fluoroquinolones : mutations des topoisomérases II et IV.
- Macrolides : méthylation de la sous-unité 50S des ribosomes.
- Glycopeptides : modification du précurseur du peptidoglycane.

Ces résistances touchent diverses macromolécules cibles (ribosomes, parois cellulaires, ADN enzymes) (**Figure 10**)(**Blair et al ., 2015**).

5.4. Inactivation enzymatiques:

L'inactivation enzymatique des antibiotiques est l'un des mécanismes les plus importants et les plus répandus de résistance bactérienne. Elle repose sur la production par les bactéries d'enzymes capables de modifier ou de dégrader les antibiotiques avant qu'ils n'atteignent leur cible (**Figure 10**). Chez les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif, les β -lactamases jouent un rôle central dans cette résistance. Par exemple, les gènes bla_TEM et bla_CTX-M codent pour des β -lactamases capables d'hydrolyser respectivement les pénicillines et les céphalosporines de troisième génération (cephalosporinases à spectre étendu, ou ESBLs, pour Extended Spectrum Beta-Lactamases). Ces enzymes rendent les β -lactamines inefficaces en détruisant l'anneau β -lactame de leur structure. D'autre part, chez *Acinetobacter baumannii*, le gène OXA-23 code pour une carbapénémase de classe D (oxacillinase) qui confère une résistance élevée aux carbapénèmes, considérés comme des antibiotiques de dernier recours. Ces gènes peuvent être portés sur le chromosome ou sur des éléments mobiles comme les plasmides ou les transposons, facilitant leur dissémination entre souches et espèces bactériennes. Ainsi, la production d'enzymes inactivatrices constitue un mécanisme puissant de contournement de l'action des antibiotiques, posant un défi majeur en milieu hospitalier (**Wright, 2005 ; Corvec et al., 2007**).

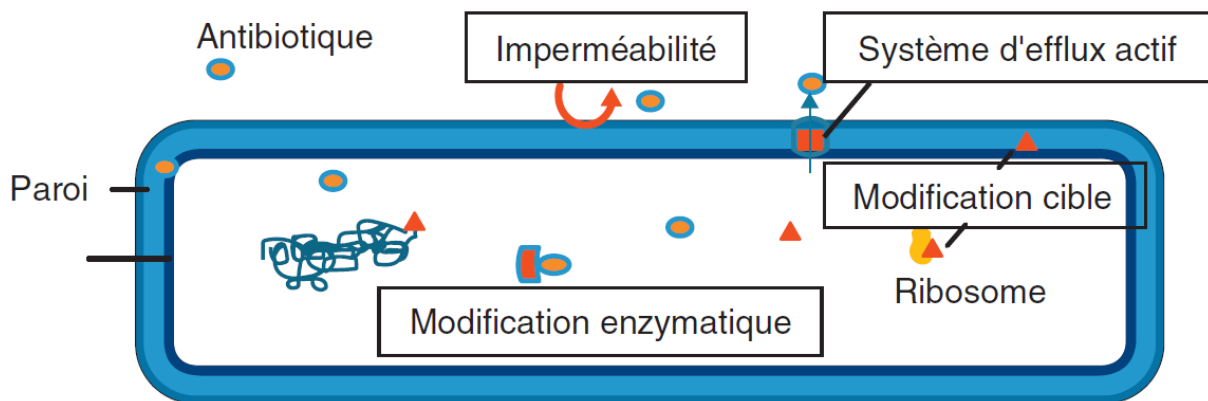


Figure 10: Principaux mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques (**Courvalin, 2008**).

6. types de résistance aux antibiotiques :

On distingue deux types de résistance aux antibiotiques, naturelle et acquise :

6.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque correspond à la capacité de résister à la présence d'un antibiotique pour toutes les souches d'une espèce ou d'un genre bactérien. La Société Française de Microbiologie (SFM) définit la résistance naturelle comme la caractéristique d'une espèce bactérienne qui se traduit par des concentrations minimales inhibitrices (CMI) supérieures à la concentration critique supérieure des tests de sensibilité pour l'antibiotique concerné. Habituellement, le support de cette résistance est chromosomique (**Munita et Arias, 2016**).

6.2. Résistance acquise

En opposé à la résistance naturelle, propriété d'espèce ou de genre, la résistance acquise qui est une propriété de souche. Cette dernière correspond à la capacité de supporter une concentration d'antibiotique beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce. Elle peut s'acquérir soit par mutation chromosomique, soit par acquisition de matériel génétique exogène (**Munita et Arias, 2016**).

6.3. Résistance par mutation chromosomique

La résistance est généralement due à une mutation au niveau de l'ADN qui affecte spécifiquement le mécanisme d'action d'un antibiotique ou d'une famille d'antibiotiques. Cette résistance est caractérisée par une faible fréquence d'apparition taux de mutation. La résistance, sous contrôle chromosomique, à plusieurs antibiotiques à la fois a donc une probabilité infime d'apparition : les bactéries multirésistantes fréquemment rencontrées en pratique ne sont pas des mutants multiples à quelques exceptions près (**Munita et Arias, 2016**).

- Par sa spontanéité. Elle apparaît en l'absence de l'antibiotique, qui n'est qu'un agent sélecteur des bactéries mutées.
- Par sa stabilité et son aspect héréditaire : lors de la division bactérienne, l'ADN muté est répliqué et transmis aux bactéries filles qui présenteront les caractères nouveaux apparus par mutation chez leur parent.

6.4. Résistance par acquisition de matériel génétique exogène (extra chromosomique)

Ce type de résistance procède de l'acquisition de gènes de résistance par l'intermédiaire d'un plasmide ou de transposons à la faveur de 3 mécanismes d'échange possibles : conjugaison, transformation ou transduction (**Figure 11**).

6.4.1. Conjugaison

Dans le phénomène de conjugaison, une bactérie donneuse transmet à une bactérie receveuse une copie de son plasmide porteur de gène de résistance (appelé plasmide R ou facteur R). Ce mécanisme peut s'effectuer entre bactéries de la même espèce, au sein d'un même genre ou parfois entre bactéries de genres différents d'où son efficacité. Par exemple peut échanger du matériel génétique avec *E. coli* (**Norman et al., 2009**).

6.4.2. Transformation

La transformation est le résultat d'un réarrangement de séquences d'ADN échangées entre deux bactéries. On peut alors obtenir de nouveaux gènes de résistance. Ce processus se fait généralement entre bactéries de genre proche car il doit y avoir une forte analogie entre les séquences nucléotidiques pour permettre (**Johnston et al., 2014**).

6.4.3. Transduction

Dans la transduction, un virus bactériophage incorpore une séquence d'ADN d'une bactérie et la transmet à une autre bactérie. Du fait de la spécificité des bactériophages espèce, ce phénomène n'a lieu que pour les bactéries de la même (**Touchon et al., 2017**).

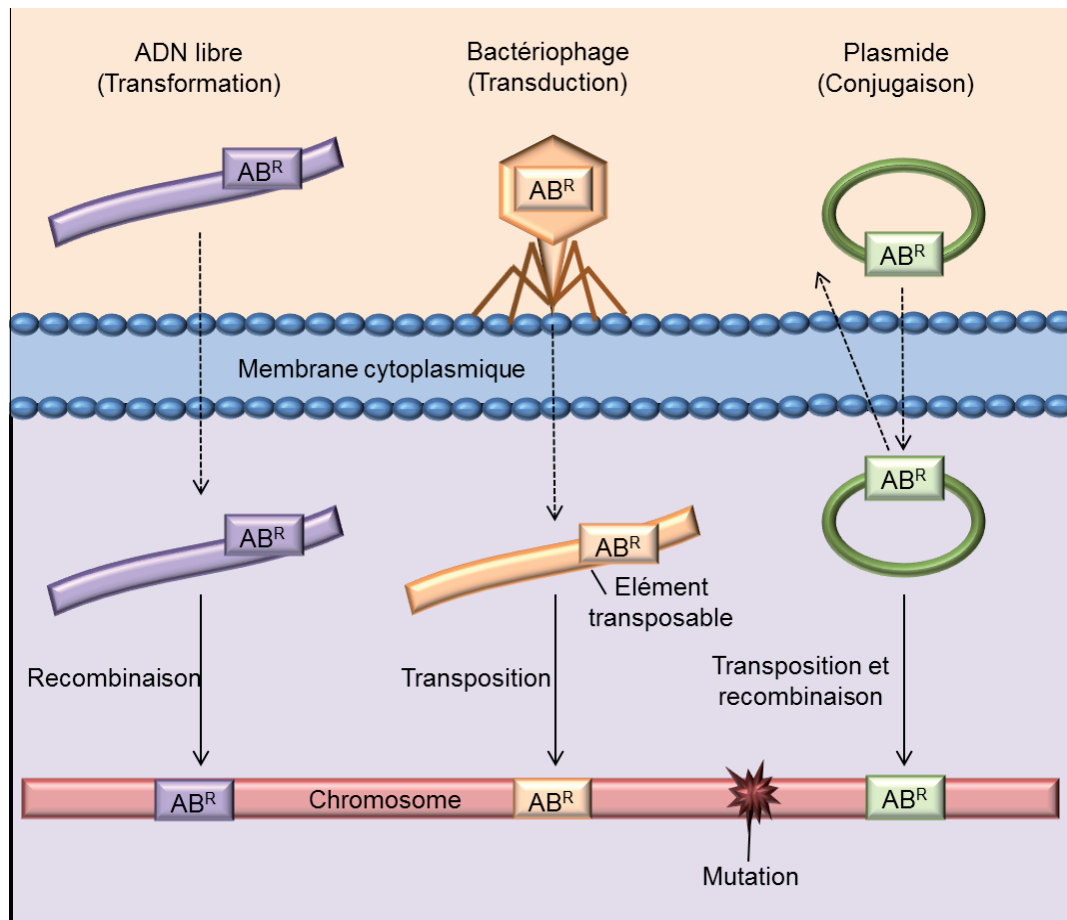


Figure 11: Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques (Aleskshun et Levy, 2007).

6.5. Résistances naturelles des entérobactéries

Les entérobactéries présentent une résistance naturelle à plusieurs classes d'antibiotiques (Tableau 2), notamment les pénicillines G et M, les macrolides, les lincosamides, les synergistines ainsi que les glycopeptides. En revanche, elles demeurent généralement sensibles à d'autres familles telles que les β -lactamines, les phénicoles, les tétracyclines, les sulfamides, le triméthoprim, les nitrofuranes, la fosfomycine, la colistine et les aminosides (CA-SFM, 2019). Le tableau 02 synthétise les principaux profils de résistance supplémentaires aux autres B-lactamines elles sont classées en quatre groupes. chez les espèces entérobactériennes les plus courantes (Andreu et Résimont, 2023).

Tableau 2: Profil de résistances naturelles des enterobacteries aux B-lactamines (Andreu et Résimont, 2023).

Groupe de B-lactamines	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Principaux genres d'entérobactéries rencontrées en milieu hospitalier.	<i>E. coli</i> <i>P. mirabilis</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>	<i>Klebsiell</i> <i>C. koseri</i>	<i>Enterobacter</i> , <i>Serratia Morganella</i> <i>Providencia</i> <i>C.freundii</i>	<i>Yersinia</i>
Aminopénicillines	S	R	R	R
Carboxypénicillines	S	R	S	R
Urédopénicillines	S	I/R	S	I/R
CIG	S	S	R	R
C3G	S	S	S	S
Carbapénèmes	S	S	S	S
Mécanismes de résistances	Absence de B-lactamase	Penicillinase à bas niveau	Céphalosporinase à bas niveau	Penicillinase+ céphalosporinase

7. Le support de la résistance aux antibiotiques

7.1. La résistance chromosomique:

La résistance chromosomique aux antibiotiques désigne l'ensemble des mécanismes de résistance portés directement sur le chromosome bactérien, par opposition à ceux transmis par des éléments génétiques mobiles comme les plasmides. Elle peut être d'origine naturelle (résistance intrinsèque) ou le résultat de mutations des gènes codant pour des cibles d'antibiotiques, c'est le cas des gènes *gyrA* et *parC* chez *Escherichia coli* (résistance aux fluoroquinolones). Le support chromosomique est caractérisé par sa stabilité génétique et sa transmission verticale, de cellule mère à cellule fille, ce qui rend sa propagation plus lente que celle des plasmides, mais plus durable. Il peut également être le site d'intégration stable de gènes de résistance provenant de transposons ou d'intégrons. Les mécanismes associés incluent la modification des cibles antibiotiques, la surexpression de pompes d'efflux, la réduction de la perméabilité membranaire et, dans certains cas, la production d'enzymes inactivatrices. Ce type de résistance est particulièrement préoccupant car il persiste même en

l'absence de pression de sélection exercée par l'antibiothérapies. Ainsi, le chromosome bactérien représente un support fondamental de la résistance (**Davies et Davies 2010**).

7.2. La résistance plasmique:

Les plasmides sont formés de molécules d'ADN bicaténaire, circulaires et extra-chromosomiques, qui se répliquent de manière autonome et se transmettent de façon stable à travers les générations. Ils possèdent certaines caractéristiques distinctes :

- Une taille réduite variant de 1 à 400 kb et au-delà, représentant une longueur d'ADN équivalente à environ 1/10 à 1/1 000 de celle du chromosome.
- Une réplication autonome, qui est indépendante de celle du chromosome, garantissant un nombre constant de copies plasmidiques par cycle de réplication du chromosome et leur distribution.
- La capacité de transfert horizontal entre bactéries de la même espèce ou d'espèces différentes, ce qui donne lieu à des plasmides conjugatifs.

Ce transfert par conjugaison est plus fréquent chez les gram négatif que les grams positifs (**Guillot, 1989**).

7.3. transposon:

Les transposons responsables d'antibiorésistances correspondent à un segment d'ADN long de 700 à quelques milliers de paires de base et constitué d'un ou plusieurs gènes de résistance limités aux extrémités par des séquences répétitives inversées pouvant ou non faire partie de séquences d'insertion. Pour la quasi-totalité des antibiotiques utilisés couramment les gènes de résistance peuvent être transposables. Un même transposon peut d'ailleurs porter plusieurs gènes de résistance (cas des transposons Tn4, Tn7, Tn21, Tn204, Tn232, Tn1696) (**Guillot, 1989**).

La capacité de ces gènes à se transposer est cruciale car elle facilite la dissémination par transposition plasmide-plasmide ou plasmide-bactériophage. Cette dissémination sur divers types d'ADN comprend les plasmides cryptiques présents dans de nombreuses bactéries, dont les fonctions des gènes qu'ils portent demeurent inconnues. En outre, la transposition joue un rôle dans l'évolution des génomes, comme cela a été suggéré pour les organismes supérieurs (**Guillot, 1989**). Tous les transposons bactériens se composent, au niveau de leurs extrémités, de séquences d'ADN inversées et répétées, qui sont les cibles des transposases, ainsi que de courtes séquences répétées de l'ADN cible qui entourent le transposon. Les plus petits transposons bactériens, appelés séquences d'insertion (SI), contiennent très peu d'informations génétiques en dehors des gènes codant pour les

transposasses. Ces séquences d'insertion ne codent d'ailleurs pas pour des gènes sélectifs, et leur découverte repose donc sur l'inactivation des gènes qu'elles produisent lorsqu'elles s'intègrent dans ceux-ci, ainsi que sur les modifications phénotypiques qu'elles entraînent. Lorsque deux séquences d'insertion de nature similaire, généralement en orientation inversée, encadrent d'autres gènes que ceux nécessaires à la transposition, tels que des gènes de résistance aux antibiotiques, on désigne cela comme un transposon composite (**Muylaert et Mainil, 2013**)

7.4. Les intégrons

Les intégrons ont un rôle plus important dans la dissémination de la résistances aux antibiotiques chez les entérobactéries, une cassette particulière, *aadA1*, conférant une résistance à la streptomycine et à la spectinomycine, est fréquemment retrouvée chez certain entérobactérie (**Schmitz et al., 1999 ; Boutarfi et al., 2019**). L'origine des intégrons et des cassettes demeure une énigme, tout comme le génome des cassettes. Plusieurs hypothèses ont été proposées, mais la plus plausible suggérerait que les super intégrons sont les ancêtres des trois classes d'intégrons associés à la multirésistance aux antibiotiques. Les intégrons de résistance auraient évolué à partir de super intégrons par le biais de la capture d'un gène *intI* et d'un site *attI* dans des structures mobiles de type transposon, et ensuite, sous l'effet de la pression de sélection, il y aurait eu capture de gènes de résistance provenant de pools de cassettes contenus dans différents super intégrons (**Schmitz et al., 1999**).

8. Biofilm et la résistance aux antibiotiques:

Les biofilms représentent une remarquable forme de résistance mécanique, due a leur structure, et biochimique, due l'activation des déférents mécanismes des résistances au sein de cette structure qui confère aux bactéries pathogènes une capacité accrue d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte. Par ailleurs, les bactéries intégrées dans un biofilm se montrent généralement beaucoup moins sensibles aux antibiotiques et aux désinfectants que leurs homologues en phase planctonique (**Tremblay et al., 2014**).

De nombreux problèmes liés au développement des biofilms dans le domaine médical proviennent de leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens, tels que les antibiotiques et les désinfectants. Cette résistance, qui est multifactorielle, est associée aux conditions de vie au sein du biofilm, telles que l'hétérogénéité, l'accès aux nutriments et à

l'oxygène. Ces facteurs modifient les propriétés physiologiques des micro-organismes et entraînent des mécanismes de résistance spécifiques qui s'ajoutent aux mécanismes de résistance déjà connus. La résistance élevée des biofilms aux agents antibactériens pourrait également être attribuée à la présence d'une sous-population de bactéries résistantes, capables de supporter de fortes concentrations d'antibiotiques. Ainsi, bien que les avancées de la médecine moderne permettent de traiter efficacement de nombreuses maladies infectieuses, celles qui sont associées à la présence de biofilms échappent largement à ce type de traitement. En effet, les antibiotiques sont très peu efficaces contre les biofilms, et les symptômes peuvent réapparaître une fois le traitement terminé (**Roux et Ghigo, 2006**).

Les mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques (ATB) peuvent être expliqués par trois hypothèses principales. La première hypothèse repose sur l'idée d'une barrière physique, qui pourrait justifier la pénétration lente et incomplète de certains ATB. La seconde hypothèse est associée à l'environnement particulier du biofilm, où les zones les plus profondes, riches en résidus acides et pauvres en oxygène et en nutriments, pourraient entraver l'action de l'ATB. Enfin, la dernière hypothèse se fonde sur les modifications phénotypiques observées dans certains biofilms, où les microorganismes qui les composent pourraient adopter des formes plus résistantes (**Stewart et Costerton, 2001**).



Matériel et méthodes

1. Cadre d'étude:

L'étude a été réalisée dans plusieurs laboratoires durant la période allant du 09 Février Jusqu'à 19 Mars 2025, concernant les souches des entérobactéries isolées dans plusieurs laboratoires de la région de KHENCHELA, les établissements concernés sont :

- Laboratoire Elhikma Khenchela.
- Laboratoire Eltawfik Khenchela.
- Laboratoire Chelia Kais.
- Hopital Kais .
- Laboratoire de L'institution Hospitalière Publique de Santé de Quartier, Kais-Frères Abdawi-Taouziant.
- Laboratoire ksori bouhmama.

2. Echantillonnage:

Les souches ont été isolées à partir des urines de patients représentant des signes cliniques d'infection urinaire et dont le clinicien a demandé un examen cyto bactériologique des urines.

2.1. L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU):

L'ECBU constitue l'examen biologique de référence permettant de confirmer la présence d'une infection urinaire. Bien que l'ECBU soit l'examen microbiologique le plus couramment effectué dans les laboratoires de diagnostic biologique, il demeure l'un des plus complexes à interpréter en raison de la multitude de paramètres influençant sa qualité de réalisation. Ces difficultés sont principalement attribuées à la contamination de l'échantillon par la flore commensale ainsi qu'à des conditions de transport inappropriées (**Janvier et al., 2008**):

2.1.1. Technique et les Conditions de prélèvement de l'ECBU

- **Prélèvement**

Au cours de la miction, l'urine peut être contaminée par des micro-organismes ou des résidus de sécrétions. La qualité du prélèvement influence celle de l'examen. C'est pourquoi il est recommandé de recueillir l'échantillon à partir des urines du matinale, après une rétention urinaire d'au moins 4 à 6 heures, afin d'augmenter la concentration bactérienne et cellulaire. En cas d'urgence, il peut être réalisé à tout moment de la journée. Mais Il est essentiel que le

prélèvement soit réalisé avant toute prise d'antibiotiques. Si un traitement antibiotique est en cours, un arrêt temporaire de 48 à 72 heures est recommandé pour ne pas fausser les résultats.

- **Hygiène et préparation**

Une hygiène rigoureuse est essentielle pour éviter toute contamination de l'échantillon. Le patient doit se laver soigneusement les mains et nettoyer sa zone génitale avant le prélèvement afin de réduire le risque de contamination.

- **Technique de recueil.**

Le recueil des urines doit se faire idéalement sur le "milieu du jet" en suivant ces étapes :

- Éliminer les premiers 20 ml d'urine afin de réduire les risques de contamination par la flore urétrale.
- Recueillir ensuite entre 20 et 30 ml dans un flacon stérile, sans toucher l'intérieur du récipient ni son bouchon.

- **Transport et conservation des urines:**

L'urine, collectée dans un récipient propre et stérile, elle doit être envoyée au laboratoire dans les deux heures suivant le prélèvement ou conservée à une température de + 4° C. Un délai plus long entraîne des altérations de la population bactérienne. Il est important d'indiquer sur le flacon la date et l'heure du prélèvement, ainsi que le nom du patient.

3. Isolement et Identification:

Les urines ont étéensemencées sur gélose nutritive et les colonies obtenues ont été purifiées par des repiquages successifs sur un milieu gélosé sélectif de type Mac Cocky qui va nous permettre d'isoler les BGN. Les souches pures ont été identifiées à l'aide des galeries API 20^E (bioMérieux®) on suit les instructions du fabricant.

3.1. Test oxydase

Évaluation de la présence de l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries Gram négatif, notamment *Pseudomonas*, qui produisent cette enzyme réagissant directement avec l'oxygène (Dash et al., 2012). Leur technique:

- Positionner un disque sur une lame à l'aide d'une pince stérilisée.

- À l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une colonie isolée du milieu et la déposer délicatement sur le disque (**Dash et al., 2012**).

3.2 .Identification par la galerie API 20^E:

3.2.1. Principe:

Cette méthode a été développée dans les années 1970 pour l'identification des entérobactéries, l'une des familles de bactéries Gram-négatives les plus courantes (**Galeries d'identification API. bioMérieux France, 2025**).

Cette méthode repose sur le contact entre l'inoculum bactérien et divers substrats, dont la modification de la coloration, ou son absence, après une période d'incubation, permet d'obtenir un profil distinctif. La coloration peut survenir de manière aléatoire ou être révélée par l'ajout de réactifs(**Figure 12**) (**Roxanne, 2019**).

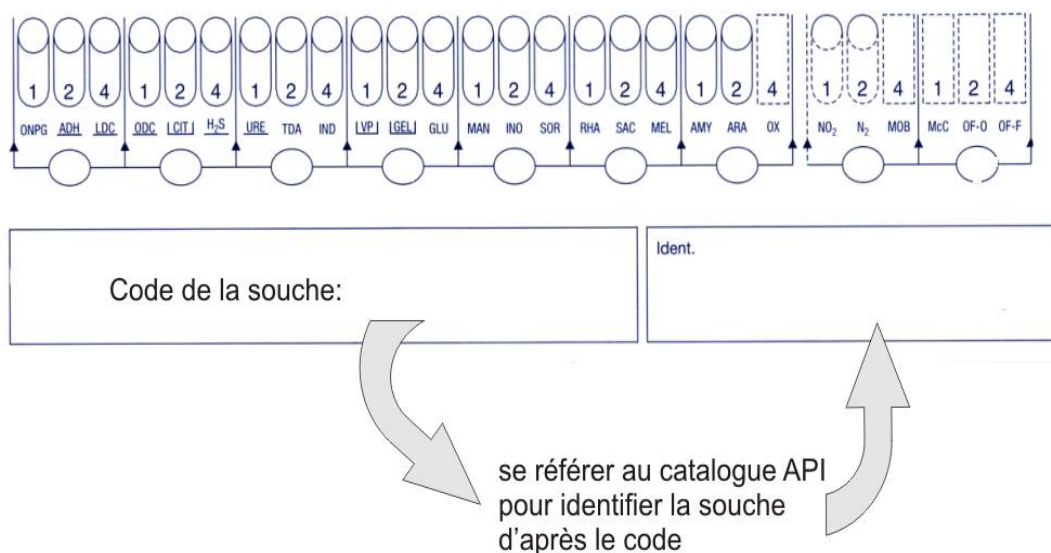


Figure 12: API 20E.

3.2.2.Mode opératoire:

- **Préparation de la galerie:**

Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum:**

Pour préparer l'inoculum, on utilise un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée, ou bien une ampoule de suspension de milieu. à partir de cultures jeunes

(âgées de 14 à 24 heures), puis une suspension bactérienne d'une faible opacité est préparée (**Galeries d'identification API. bioMérieux France, 2025**).

- **Inoculation de la galerie:**

Tout d'abord, assemblez le fond et le couvercle de la boîte d'incubation, puis ajoutez quelques millilitres d'eau distillée dans les alvéoles pour établir une atmosphère humide. Ensuite, placez la galerie dans la boîte d'incubation (**bioMérieux, 2025**).

- Inoculez chaque microtube à partir de la suspension en utilisant une pipette Pasteur stérile, en appuyant à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles.

- Remplissez les tubes et les cupules des tests encadrés : CIT, VP, GEL.

- Créez une anaérobiose dans les tests soulignés : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

- Fermez la boîte et incubez à 35-37°C pendant 18 à 24 heures (**bioMérieux, 2025**).

- **Lecture et interprétation**

lecture la et l'interprétation a été effectuée par l'algorithme API Web bioMérieux®, après 18-24 h d'incubation dans une température de 37 °C.

4. Conservation

Les souches isolée et identifier comme appartenant a la famille des *Enterobacteriaceae* ont été conservé pour des future testes à 80°C dont du BHIB additionné d'un cryoprotecteur (glycérol) (**Figure 13**).

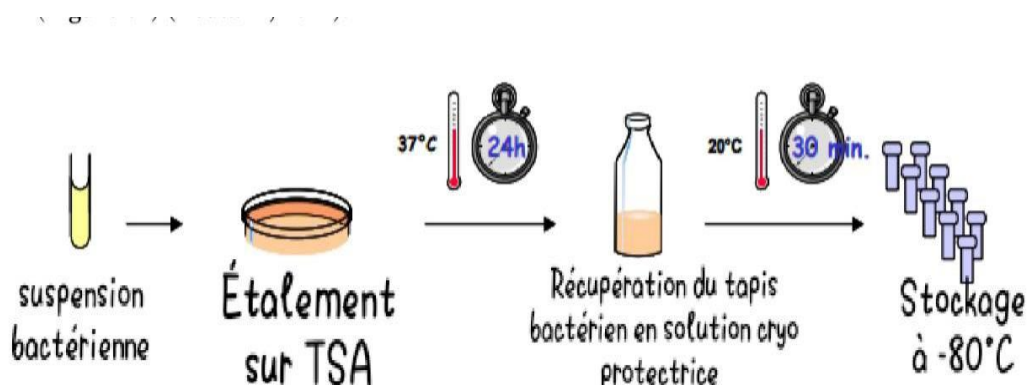


Figure 13: Représentation schématique du protocole de la conservation à -80°C (**Allion et al., 2004**).

5. AntibioGramme:

Le test de sensibilité vis-à-vis les disques des molécules suivants Amoxiciline (AMX), amoxiciline +acide clavunamique (AMX+AC), Ticarcilline (TIC), Piperacilline (PIP),cefalotine (CFL), Céfazoline (CFZ), Céfixime (CFM), Céfotaxime (CTX), Céfoxitine (FOX), Aztréonam (ATM), Amikacine (AMK),impeneme (IPM),Méropénème (MEM),Gentamicine (GEN), Ciprofloxacine (CIP) Acide nalidixique (NAL) Nitrofurantoïne (NTF), Furanes (F), Fosfomycine (FOS), Bactrim (SMT),colistine (COL) et Chloramphénicol (CHL)a été réalisée par technique de diffusion de l'antibiotique sur milieu gélosé de type Müller-Hinton, ce test consiste en application des disques chargé de la molécule a testé sur la surface de la gélose préalablement ensemencé par écouvillonnage d'une suspension bactérienne d'une souche jeune (18 -24h) (CLSI, 2022).

5.1.Lecture et interprétation:

Interprétation des résultats a été effectuer après la comparaison des diamètre des zones d'inhibition créer par l'activité de l'antibiotique (**Figure 14**), avec ceux des valeurs critiques indiqué dans le tableaux du CLSI ainsi les souches ont été classées en trois catégories S (Sensible), I(intermédiaire), R(résistante) .

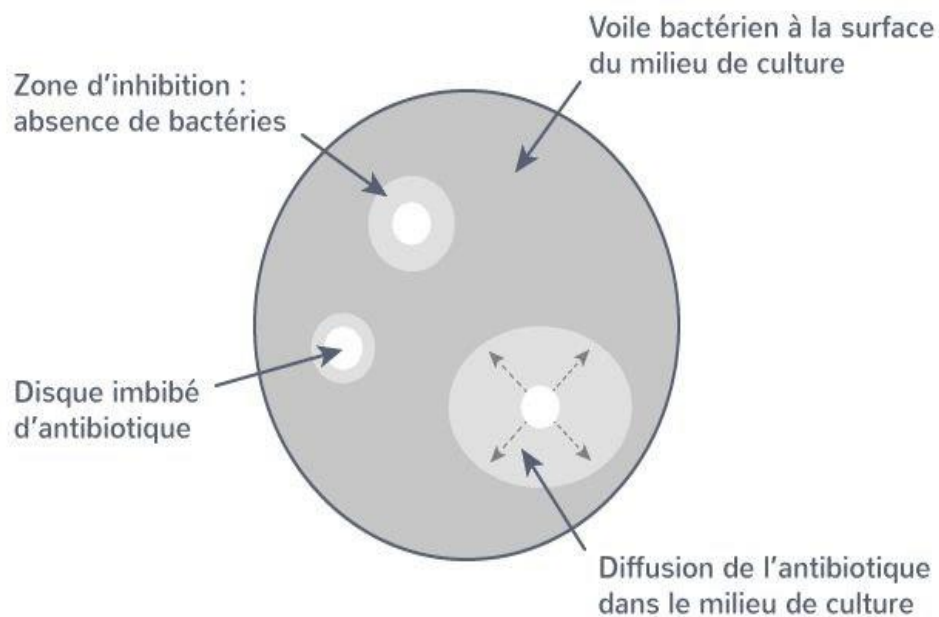


Figure 14: Schéma d'un antibiogramme illustrant la diffusion d'un antibiotique et la zone d'inhibition bactérienne (Jorgensen et Ferraro, 2009).

5.2.Evaluation du pouvoir adhésif

- **Méthode qualitative**

Le test a été réalisé par ensemencement encadrant d'une souche pure sur milieu BHIA additionné de 0,8% de rouge congo et 5% de Saccharose, l'interaction du rouge congo avec la matrice extra cellulaire, dont la production est favorisée par le saccharose, donne à la colonie une couleur noire caractéristique de la capacité de formation de biofilm (**Bellifa, 2014 ; George A. O'Toole, 2011**).

- **Méthode quantitative**

La quantification du pouvoir adhésif sur un support en poly-éthylène a été faite par la technique décrite par (**George A. O'Toole, 2011**). Brièvement:

-Les microplaques, préalablement remplies avec 180 µl de BHIB, ont été inoculées avec 10 µl de culture jeune des souches à tester, après 24h d'incubation à 37°C les microplaques ont subi trois lavages successifs qui visent à éliminer les formes planctoniques.

- Après séchage, les bactéries adhérentes sur les parois du cupule ont été colorées avec une solution de cristal violet (1%) pendant 15min suivie de trois lavages qui visent à éliminer l'excédent du colorant.

Les formes adhérentes étaient dissoutes avec 200 µl d'acide acétique à 30%.

-Enfin, une lecture de l'absorbance de la solution de cristal violet dissous dans l'acide acétique à une longueur d'onde de 570 nm sur un lecteur de microplaque de type Biotek instrument ELX 800 (Photo 01) contre un témoin nous a permis de classer nos isolats en trois catégories selon leur pouvoir adhésif (**Thibeaux et al., 2020**). Le test a été effectué à 3 répétitions.

-En fonction des absorbances les bactéries: non formatrices (0.00-0.19), Modérément formatrices (0.4-0.59), Fortement formatrices (0.60-0.79).



Photo 1: Lecteur de microplaque.



Résultats et discussion

1. Répartition des isolats en fonction de l'espèce

Au cours de cette étude, 77 souches différentes d'entérobactéries uro-pathogènes ont été isolées. L'analyse statistique (**Figure 15**) a révélée une nette prédominance de l'espèce *Escherichia coli* qui était présente dans 56% des prélèvements ce qui la pose en tête des agents incriminé dans les infections urinaires, le genre *Klebsiellase* positionne en deuxième rend avec un taux de 31% suivi du genre *Proteus* (11%). En revanche, les genres *Enterobacter* et *Morganella morganii* ne représentent qu'une faible proportion inférieure à 1%. **Haber et al. (2007)** ont rapporté que les bacilles à Gram négatif représentaient 88,5% des souches isolées chez des patients atteints d'infections d'origine bactérienne. Parmi celles-ci, *Escherichia coli* était l'espèce la plus fréquemment retrouvée, avec un taux de 51,6 %, suivie de *Pseudomonas aeruginosa* (8,4%) et *Klebsiella pneumoniae* (5,3%). Certains de ces résultats sont proches de ceux obtenus dans notre étude.

Par ailleurs, la fréquence d'isolement de *E. coli* dans notre série est comparable à celle rapportée par **Perrin et al. (1998)**, qui ont observé un taux de 60%. Toutefois, ils ont isolé d'autres genres que celles retrouvées dans notre étude, telles que *Serratia spp.*

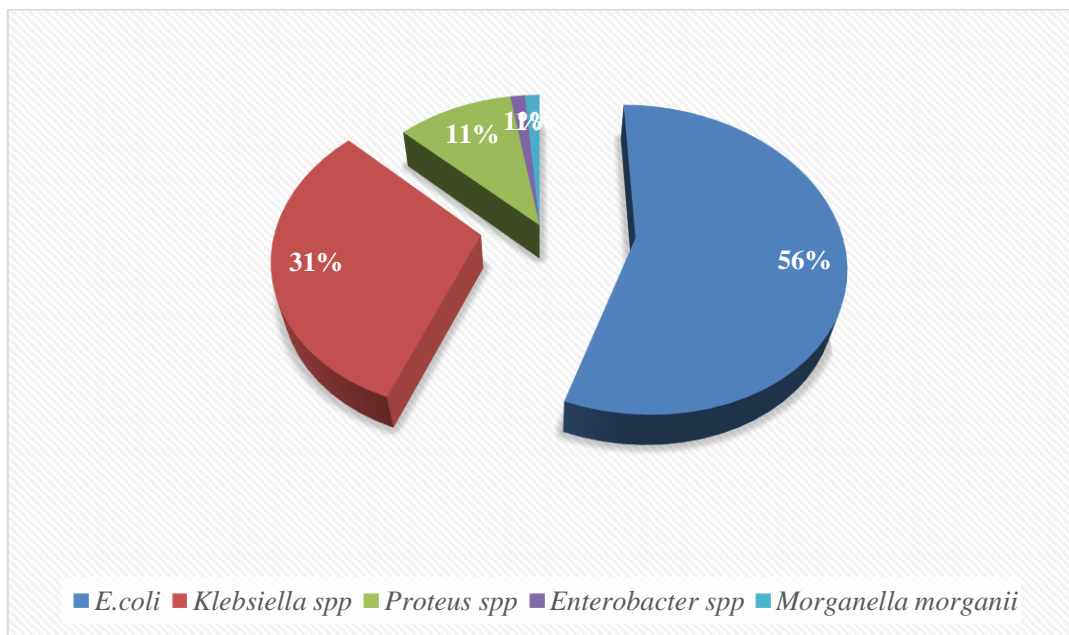


Figure 15: Répartition des isolats en fonction de l'espèce.

2. Répartition des souches en fonction de région d'isolement

L'analyse de la répartition géographique des souches isolées (**figure 16**) a démontré que 51 souches étaient isolées au niveau des laboratoires de commune de Khenchela ce qui représente un taux de 66%. Suivie par la commune de Kais avec 21%, et Faïs avec 12%,

tandis que Bouhmama n'a contribué qu'à 1% des isollements. À noter que l'ensemble des souches collectées dans ces différentes localités représente 50% du total général.

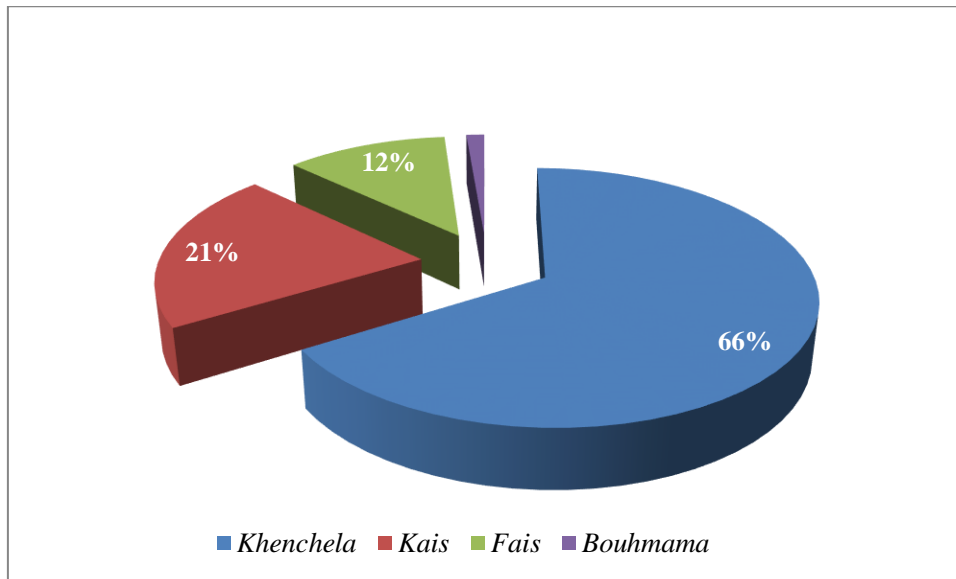


Figure 16: répartition des souches en fonction de région d'isolement

La majorité des souches ont été isolées dans la commune de Khenchela, ce qui peut refléter le plus grand nombre de patients qui consultent dans cette région et un meilleur accès aux centres de santé. Cela montre aussi que dans d'autres communes, comme Bouhmama, il y a peut-être moins de cas détectés à cause d'un manque d'infrastructures ou de moyens pour faire les analyses. Des études précédentes ont aussi montré que les différences dans la répartition des bactéries responsables d'infections urinaires sont souvent liées aux conditions sociales, économiques et à l'organisation des soins (Flores-Mireles *et al.*, 2015 ; Ndiaye *et al.*, 2015). Il est donc important d'améliorer la surveillance et le dépistage dans toutes les régions pour mieux connaître la situation et mieux soigner les patients (Mordi *et al.*, 2009).

3. Répartition des isolats en fonction du sexe

Au cours de notre étude, nous avons observé une nette prédominance des cas d'infections urinaires chez les femmes 57%, avec un sex-ratio de 0,75 [sex-ratio = homme/femme = 33/44 = 750], par rapport aux hommes 43% (figure 17). Cela reste en au dessus du niveau de signification requis par le test de Fisher (Hamilton, 1967 ; Charlat *et al.*, 2007) (Tableau 3).

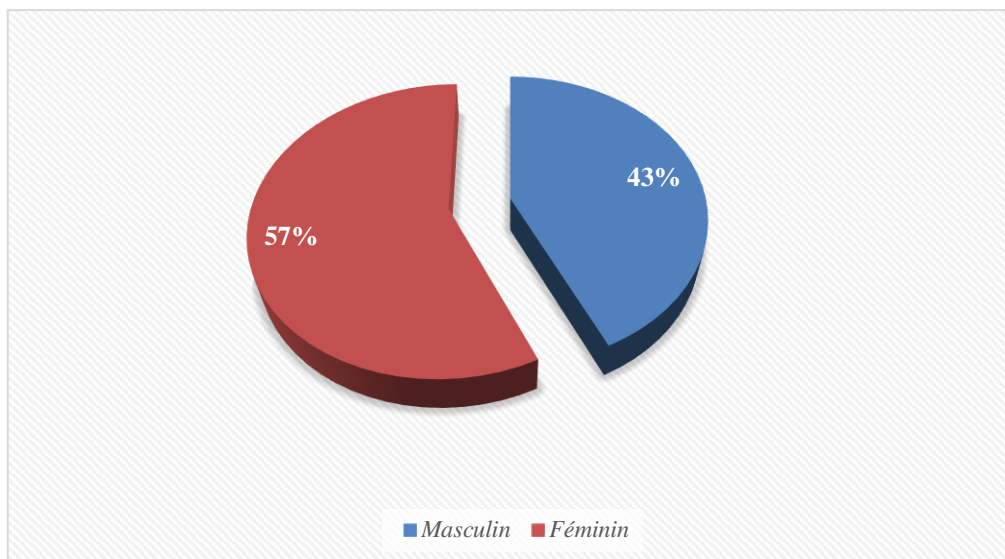


Figure 17: Répartition des isolats en fonction du sexe.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Anoukoum et al. (2001)** qui a montré que le taux d'infection urinaire est plus élevé chez les femmes que les hommes se ce et dû principalement au différences anatomique existante entre l'homme et la femme, l'anus étant très proche du méat urinaire chez les sujets de sexe féminin ce qui favorise la contamination par des bactéries d'origine fécale, notamment *Escherichia coli*, de plus, l'urètre féminin est beaucoup plus court que celui de l'homme (environ 3 à 4 cm), permettant une ascension rapide des micro-organismes vers la vessie.

Tableau 3: Répartition des isolats en fonction du sexe

Sexe	Effectifs	Pourcentage
Masculin	33	42,80%
Féminin	44	57,20%
Totale	77	100%

4. Répartition des souches en fonction de l'âge

La répartition des isolats en fonction des tranches d'âge (**Figure 18**), Ce graphique II met en évidence que les sujets âgés de plus de 65 ans sont les plus touchés des infections urinaires avec un taux de 31%, cette vulnérabilité peut s'expliquer par la l'affaiblissement de la capacité du système immunitaire, ainsi que les probables pathologies adjacentes tels que le diabète ou l'HTA. Vient ensuite la tranche des jeunes adultes (17-25 ans) avec environ 20 cas, suivie par les adultes (26-65 ans) avec 15 cas. Les enfants (2-16 ans) et les nourrissons (0-2 ans) représentent les groupes les moins touchés, avec respectivement environ 11 et 6 cas. Cette répartition par âge est très représentative de l'épidémiologie des infections urinaires, qui

connaissent des pics d'incidence chez les jeunes adultes (notamment les femmes sexuellement actives) et les personnes âgées, en raison de facteurs physiologiques et pathologiques propres à ces étapes de la vie (**Tableau 4**).

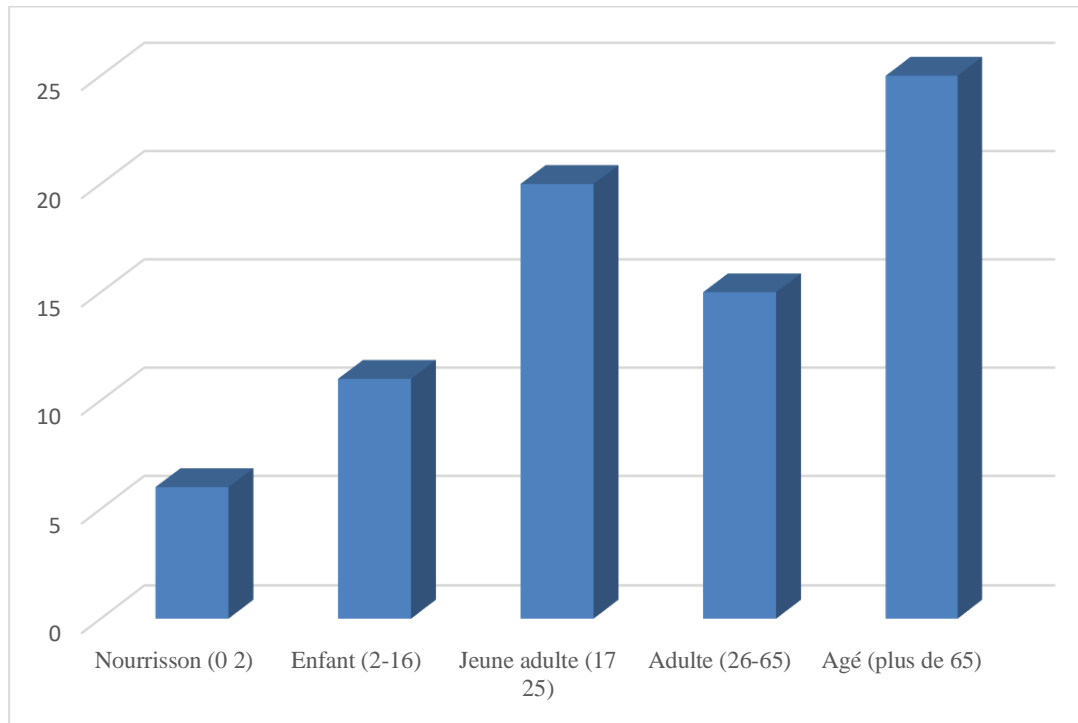


Figure 18: Répartition des souches en fonction de l'âge

Ces résultats sont en concordance avec ceux rapportés par **Eveillard (2014)**, qui souligne que les infections urinaires constituent les affections infectieuses les plus fréquentes chez les personnes âgées (plus de 65 ans), en raison notamment de la baisse physiologique des défenses immunitaires et de la présence de multiples facteurs de risque.

Tableau 4: Répartition des souches en fonction de l'âge

Tranche d'âge	Effectifs	Taux
Nourrisson (0-2)	6	7,79%
Enfant (2-16)	11	14,28%
Jeune adulte (17-25)	20	25,97%
Adulte (26-65)	15	19,48%
Agé (plus de 65)	25	32,46%

5.Prévalence de la résistance aux antibiotiques.

L'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques de certaines molécules a révélé des taux de résistance significativement élevés pour certaines classes de bêta-lactamines (**Figure 19**),

allant de 48 % pour l'amoxicilline à 40 % pour la ticarcilline et 39 % pour l'AMX + acide clavulanique. Cette situation peut s'expliquer par des différences anatomiques entre les sexes. D'autres molécules testées ont montré une activité satisfaisante, atteignant 77 % pour la nitrofurantoïne, 76 % pour la colistine, 75 % pour le méropénème, 74 % pour l'imipénème, 73 % pour l'aztréonam et 72 % pour l'amikacine et la gentamicine. Ces antibiotiques peuvent être considérés comme des traitements de première intention pour les infections causées par cette souche bactérienne, compte tenu de leur grande efficacité .

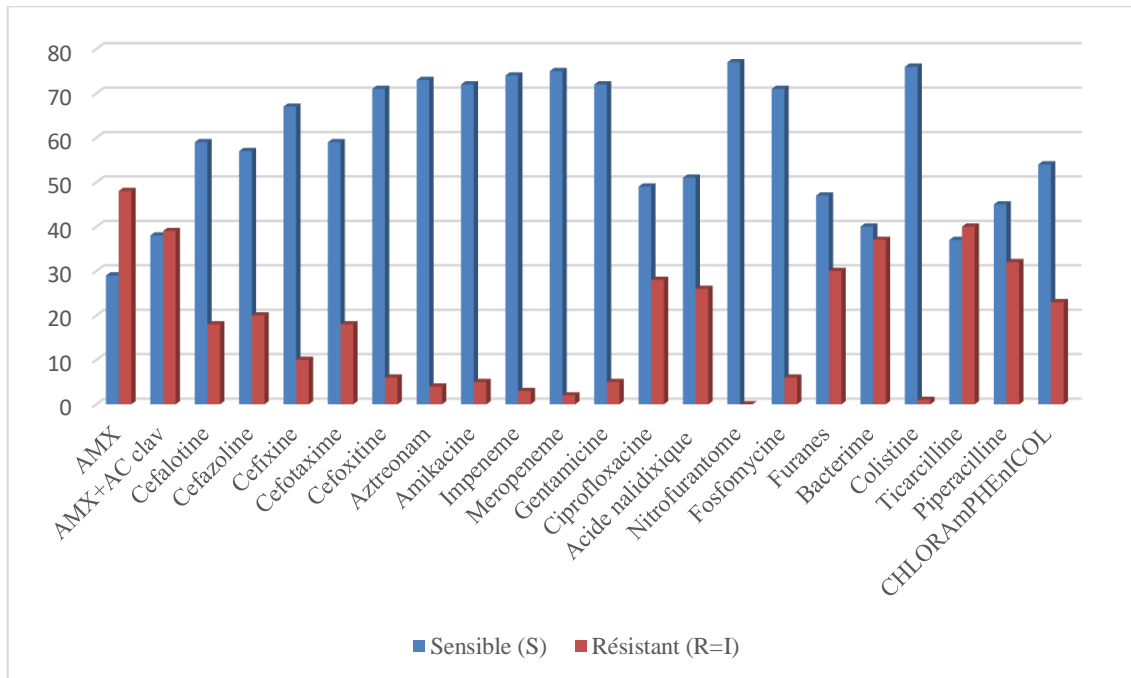


Figure 19: Prévalence de la résistance aux antibiotiques.

Dans cette étude on a remarque un effet souche ou certains isolées était multirésistance présentant des résistances croisées à de multiple molécules allant jusqu'à 11 antibiotiques pour la souche 35 CH (*E. coli*), et la souche 7H (*E. coli*) avec des résistance qui ont touché 10 antibiotique ce phénomène peut s'explique par l'accumulation de gène de résistance au sein du génome bactérienne. Ces gènes ont pu être acquis soit par transfert horizontal ou par mutation.

Impeneme, meropeneme, nitrofurantome et cifixine ont une excellente activité vis à-vis des bacilles à Gram négatif ce qui convergent vers les résultats rapportés par **Ebongue et al. (2015)**.

Gangoué-Pieboji et al. (2006) ont observé des taux de résistance aux bêtalactamines chez les BGN plus élevés que ceux obtenus dans notre étude.

6. Evaluation de la formation de biofilm

Dans le cadre de notre étude, nous avons évalué la capacité des souches isolées à former des biofilms en utilisant deux méthodes distinctes.

6.1. Technique de Rouge Congo Agar

L'analyse des résultats obtenus par la méthode RCA montre que les souches capables de former un biofilm représentent 49 %, contre 51 % de souches non formatrices (**Figure 20**).

Cette répartition relativement équilibrée conduit que, bien que la formation de biofilm ne soit pas une caractéristique habituelle, elle concerne tout de même une proportion importante des souches isolées (**Tableau 5**). Ce potentiel de formation de biofilm pourrait jouer un rôle clé dans la persistance des infections urinaires, en conférant aux bactéries une plus grande résistance aux traitements antibiotiques et aux défenses immunitaires de l'hôte.

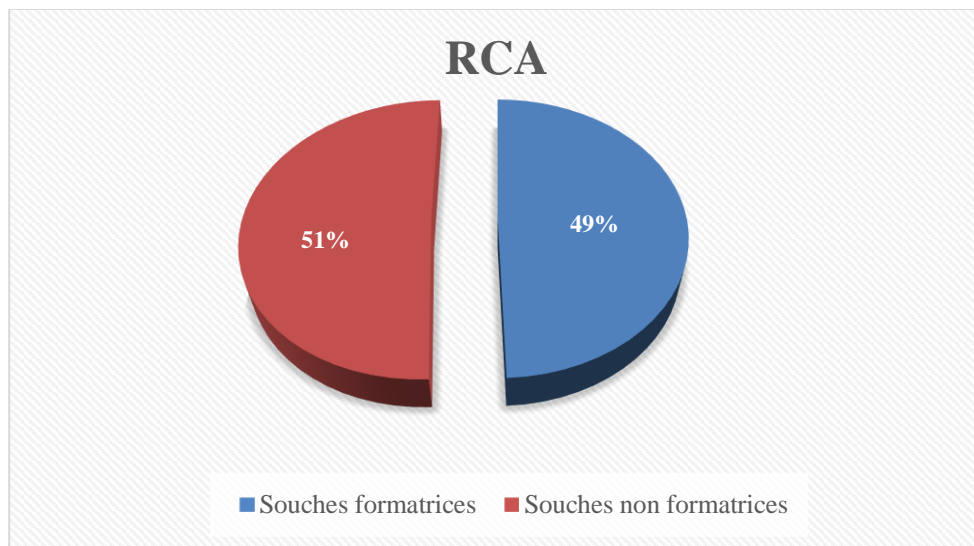


Figure 20: Répartition des isolats en fonction de leurs aptitudes de formation de biofilm (Rouge Congo Agar)

Ces résultats supérieurs à ceux obtenus par **Sultan et Nabil (2019)**, qui ont observé une prévalence de 33 % de souches productrices de biofilm, contre 67 % de souches non productrices, parmi un total de 115 isolats de bacilles à Gram négatif responsables d'infections urinaires. En revanche, nos données concordent avec celles rapportées par **Afoufou et Aissaoui (2024)**, qui ont identifié une proportion de 52 % de souches formatrices de biofilm, comparée à 48 % de souches non formatrices. Ce qui peut indiquer la formation de biofilm et l'un des facteurs les plus importants permettant l'installation de l'infection urinaire

Tableau 5: Evaluation de la formation de biofilm par Rouge Congo Agar

	Souches formatrices	Souches non formatrices
<i>E. coli</i>	28	17
<i>Klebsiella spp</i>	7	15
<i>Proteus spp</i>	3	5
<i>Enterobacter spp</i>	0	1
<i>Morganella morganii</i>	0	1

6.2. Technique de microplaque

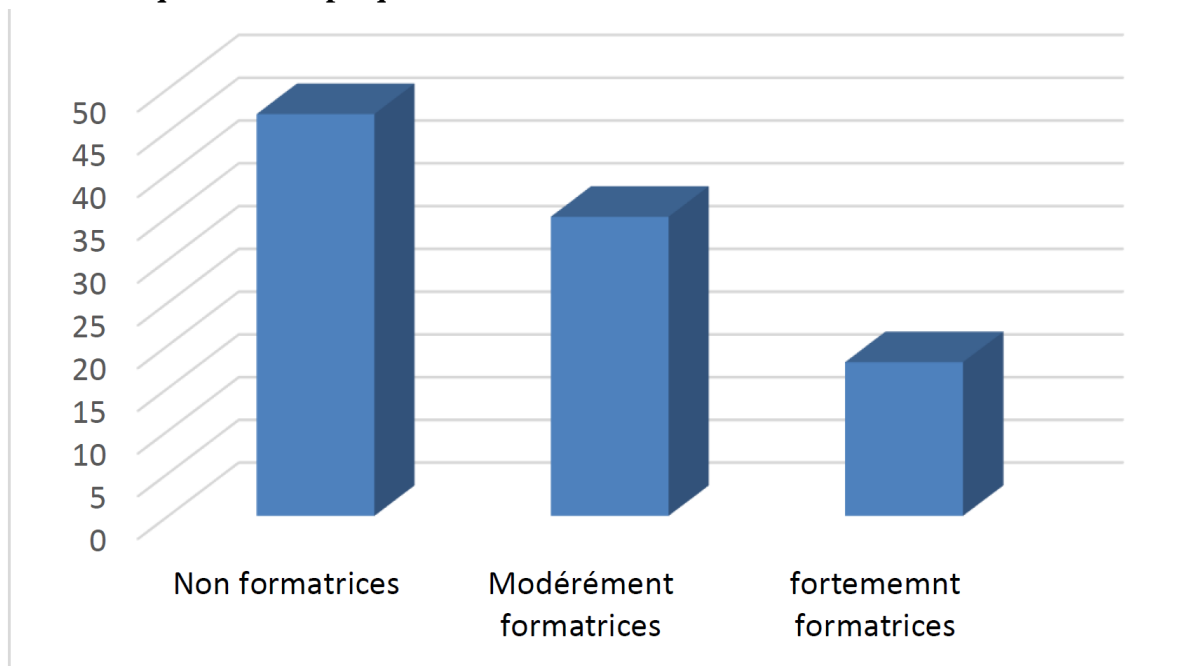


Figure 21: Evaluation de la formation de biofilm par la méthode de microplaques

L'analyse révèle qu'une proportion d'environ 45 % des souches n'a pas la capacité de former un biofilm tandis que 33 % présentent une aptitude modérée et 15 % une forte capacité de formation. Cette distribution met en évidence une variabilité marquée dans le potentiel de formation de biofilm, avec une prédominance de souches à faible pouvoir adhésif, ce qui pourrait jouer un rôle dans la persistance ou non de l'infection urinaire.

Des travaux précédents, comme ceux de **Stepanović et al. (2007)**, ont trouvé des résultats semblables, avec 40 à 60 % des souches cliniques capables de former du biofilm à différents niveaux. Cela confirme que le phénomène est fréquent, mais dépend de plusieurs facteurs comme le milieu de culture, les conditions de croissance, ou encore le type de bactérie.

A decorative scroll graphic with a central text box. The scroll is oriented horizontally and has a light gray fill. It features three rolled-up ends: one on the left side, one on the top right corner, and one on the bottom right corner. The central text box is a white rectangle with a thin black border, containing the text "Conclusion et perspectives" in a black, italicized serif font.

Conclusion et perspectives

Conclusion

Dans le cadre de notre étude, nous avons isolé 77 souches bactériennes à partir d'échantillons urinaires, puis nous avons évalué leur sensibilité à 22 antibiotiques. Les résultats ont mis en évidence une grande diversité des profils de sensibilité aux antibiotiques allant du profil sauvage aux profils de multi-résistance, ce qui reflète la variabilité génétique au sein de la population des uro-pathogènes.

L'aptitude à la formation de biofilm observée chez de nombreuses souches représente un mécanisme de défense majeur, conférant à ces bactéries une protection accrue contre les agents antimicrobiens. La présence de biofilm est étroitement liée à la chronicité des infections et aux échecs thérapeutiques.

Ces observations renforcent l'idée que la formation du biofilm ne se limite pas à un simple facteur de virulence, mais constitue un véritable mécanisme d'adaptation qui permet à la bactérie de survivre dans un environnement hostile, notamment en présence d'antibiotiques.

Pour lutter efficacement contre les entérobactéries uropathogènes, il est donc essentiel d'adopter une approche intégrée, basée sur un diagnostic rapide, une surveillance microbiologique rigoureuse et le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblées.

En perspective de ce travail, il serait intéressant d'élargir l'étude vers d'autres établissements et d'autres groupes bactériens afin de mieux cerner cette problématique.

Il serait aussi intéressant d'étudier les isolats sur le plan moléculaire afin de mieux comprendre le mécanisme impliqué dans l'installation de ces infections et dans le phénomène de résistance aux antibiotiques.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

Gangoue-Pieboji, J., Koulla-Shiro, S., Ngassam, P., Adiogo, D., & Ndumbe, P. (2006). Antimicrobial activity against Gram negative bacilli from Yaoundé central hospital, Cameroon. *african health sciences*, 6(4).

Ebongue, C. O., Tsiazok, M. D., Nda, J. P., Ngaba, G. P., Beyiha, G., & Adiogo, D. (2015). Evolution de la résistance aux antibiotiques des *entérobactéries* isolées à l'Hôpital général de douala. *Pan African medical journal*, 20. <https://doi.org/10.11604/pamj.20.227>

Ndiaye, B. P., Fall, M. C., & Diouf, F. S. (2015). Distribution des entérobactéries uropathogènes dans les hôpitaux sénégalais. *Revue Africaine de Pathologie*, 19(1), 27–34.

Alhamadani, Y., et Oudah, A. (2022). Étude de la sensibilité bactérienne à différents antibiotiques isolés chez des patients atteints d'infection urinaire à l'aide de la méthode de Kirby-Bauer. *Journal of Biomedicine and Biochemistry*, 1(2), 1-5.

Touchon, M., Moura de Sousa, J. A., & Rocha, E. P. C. (2017). Embracing the enemy: The diversification of microbial gene repertoires by phage-mediated horizontal gene transfer. *Current Opinion in Microbiology*, 38, 66–73.

Li, Y.-H., & Tian, X. (2012). Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. *Sensors*, 12(3), 2519–2538.

Corvec, S., Poirel, L., Naas, T., Drugeon, H., & Nordmann, P. (2007). Genetics and expression of the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase gene bla OXA-23 in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(4), 1530–1533.

Courvalin, P. (2008). *Predictable and unpredictable evolution of antibiotic resistance*. *Journal of Internal Medicine*, 263(4), 158–167.

Flemming, H.-C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623–633.

Thibeaux, R., Kainiu, M., & Goarant, C. (2020). Formation et quantification de biofilm à l'aide de la plaque de 96 microtitres. *Methods in Molecular Biology*, 2134, 207-214.

Sultan, A. M., & Nabel, Y. (2018). Tube method and Congo red agar versus tissue culture plate method for detection of biofilm production by Uropathogens isolated from

Références bibliographiques

midstream urine: Which one could be better? African journal of clinical and experimental microbiology, 20(1), 60.

Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., & Bonomo, R. A. (2011). Carbapenems: Past, present, and future. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(11), 4943–4960.

Pearson, M. M., Sebaihia, M., Churcher, C., Quail, M. A., Seshasayee, A. S., Luscombe, N. M., Abdellah, Z., Arrosmith, C., Atkin, B., Chillingworth, T., Hauser, H., Jagels, K., Moule, S., Mungall, K., Norbertczak, H., Rabinowitsch, E., Walker, D., Whithead, S., Thomson, N. R., Rather, P. N., Parkhill, J., & Mobley, H. L. T. (2008). Complete genome sequence of uropathogenic *Proteus mirabilis*, a master of both adherence and motility. *Journal of Bacteriology*, 190(11), 4027–4037.

Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). *Molecular mechanisms of antibiotic resistance*. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 42–51.

Ait-Mimoune, N., Hassaine, H., & Boulanoir, M. (2022). Bacteriological profile of urinary tract infections and antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* in Algeria. *Iranian journal of microbiology*, 14(2), 156.

Alekshun, M. N., & Levy, S. B. (2007). Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128(6), 1037–1050. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.00>

Allion, A. (2004). *Environnement des bactéries et sensibilité aux biocides: mise au point antimicrobiens* (Thèse de doctorat, ENSIA (AgroParisTech)).

Andreu, A., & Résimont, R. (2023). Résistances bactériennes : une voie sans issue. *Medicatrix*.

AquaPortail. (s.d.). *Bêta-lactamine - définition*. Consulté le 29 avril 2025, sur <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/10584/beta-lactamine>

Références bibliographiques

Bellifa S. (2014). Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Thèse de doctorat Universitéaboubekrbelkaid, Tlemcen.

Bouallègue, O., Saidani, M., & Mzoughi, R. (2004). Bacteriologic features of urinary tract infections in children in the Sousse area, Tunisia. *La Tunisie Medicale*, 82(8), 742-746.

CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) Recommandations 2019 – Vecteurs de résistances et interprétation des antibiogrammes. Société Française de Microbiologie (SFM), Paris, 2019.

Charlat, S., Hornett, E. A., Fullard, J. H., Davies, N., Roderick, G. K., Wedell, N., & Hurst, G. D. D. (2007). Extraordinary flux in sex ratio. *Science*, 317(5835), 214–214.

Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(2), 232–260.

Clermont, O., Christenson, J. K., Denamur, E., & Gordon, D. M. (2013). The Clermont *Escherichiacoli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental Microbiology Reports*, 5(1), 58–65.

Corvec, S., Poirel, L., Naas, T., Drugeon, H., & Nordmann, P. (2007). Genetics and expression of the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase gene bla_{OXA-23} in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(5), 1530–1533.

Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., & Finlay, B. B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 822–880.

CLSI. Normes de performance pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens. 32e éd. Wayne PA : supplément CLSI M100 ; 2022

Dash, S. K., Chakraborty, S. P., Mandal, D., & Roy, S. (2012). Isolation and characterization of multi drug resistant uropathogenic *Escherichia coli* from urine sample of urinary tract infected patients. *Int J Life Sci Pharma Res*, 2(1), 25-39.

Références bibliographiques

Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 74(3), 417-433.

Donlan, R. M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), 881–890.

Eveillard, V., & Eveillard, M. (2014). Infections urinaires chez la personne âgée : difficultés du diagnostic microbiologique et impact de la prescription des ECBU pour la prise en charge des personnes âgées CHU d'Angers (Thèse de doctorat).

Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), 269–284.

Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Disease-a-Month*. 2003;49(2):53–70. doi:10.1067/mda.2003.7

Guillot, J.-F. (1989). Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 20(1), 3–16.

Guzmán-Soto, I., McTiernan, C. D., Gonzalez-Gomez, M., Ross, A., Kumar, A., & Perni, S. (2021). Mimicking biofilm formation and development: Recent progress in in vitro and in vivo biofilm models. *iScience*, 24(5), 102443.

Haber, N., Paute, J., Gouot, A., Sevali Garcia, J., Rouquet, M. L., Sahraoui, L., Gamard, M. N., Jarlier, V., Chaibi, P., & Cambau, E. (2007). Incidence et caractéristiques cliniques des infections urinaires symptomatiques dans un hôpital gériatrique. *Médecine et maladies infectieuses*, 37(10), 664–672.

Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., & Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 95–108.

Hamilton, W. D. (1967). Extraordinary Sex Ratios: A sex-ratio theory for sex linkage and inbreeding has new implications in cytogenetics and entomology. *Science*, 156(3774), 477-488.

Références bibliographiques

Foxman, B. (2010). The epidemiology of urinary tract infection. *Nature Reviews Urology*, 7(12), 653–660. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2010.190>

Høiby, N., Ciofu, O., Johansen, H. K., Song, Z. J., Moser, C., Jensen, P. & Bjarnsholt, T. (2011). The clinical impact of bacterial biofilms, *International journal of oral sciences*. 3(2), 55-65.

Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2015). Mechanisms of drug resistance: Quinolone resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1354(1), 12–31.

Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2006). The Enterobacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1), 1–25.

Janvier, F., Mbongo-Kama, E., Merens, A., & Cavallo, J.-D. (2008). Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 38(3), 123–127.

Jeong, G.J., Khan, F., Tabassum, N. et Kim, Y. (2024). Altération des biofilms microbiens buccaux par les édulcorants. *Biofilm*, 7, 100171

Johnston, C., Martin, B., Fichant, G., Polard, P., & Claverys, J.-P. (2014). Bacterial transformation: distribution, shared mechanisms and divergent control. *Nature Reviews Microbiology*, 12(3), 181–196.

Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases*, 49(11), 1749–1755.

Ruiz, N., Kahne, D., & Silhavy, T. J. (2009). Transport of lipopolysaccharide across the cell envelope: the long road of discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 7, 677–683.

Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β -Lactams and β -Lactamase inhibitors: An overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8), a025247.

Kaplan, J. B. (2010). *Biofilm dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses*. *Journal of Dental Research*, 89(3), 205–218.

Références bibliographiques

Katzung, B. G., Trevor, A. J., & Masters, S. B. (2012). *Basic and Clinical Pharmacology* (12th ed.). McGraw-Hill Education.

Kichou, A. O., MANCEUR, K., & OUYED, M. (2020). Profil de la consommation des antibiotiques à usage systémique en milieu hospitalier: Expérience du CHU de Tizi-Ouzou. (Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou).

Lane, M. C., Lockatell, V., Monterosso, G., Lamphier, D., Weinert, J., Hebel, J. R., Johnson, D. E., & Mobley, H. L. T. (2005). Role of motility in the colonization of uropathogenic *Escherichia coli* in the urinary tract. *Infection and Immunity*, 73(11), 7644–7656.

Liu, J., Li, X., Li, J., Zhang, Z., Chen, M., & Wang, Y. (2025). Characterization of AI-2/LuxS quorum sensing system in antibiotic resistance, pathogenicity of non carbapenemase-producing carbapenem-resistant *Escherichia coli*. *BMC Microbiology*, 25(1), Article 387.

Madsen, J. S., Burmølle, M., Hansen, L. H., & Sørensen, S. J. (2012). The interconnection between biofilm formation and horizontal gene transfer. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 65(2), 183–195.

Mammeri, H. (2012). *Mode d'action des antibiotiques*. Service de bactériologie, CHU Amiens. Consulté à

Maris, S (2016). Caractérisation de souches d'*Escherichia coli* pathogènes urinaires provenant de Guadeloupe : portrait de la diversité des facteurs de virulence présents. Mémoire présentée pour l'obtention du grade de maitre ès sciences : microbiologie appliquée. Université du Québec, Institut National de la recherche scientifique Armand Frappier. p1-5.

MEMOBIO. (s.d.). Bacilles à Gram négatif. Consulté le 10 mai 2025, à l'adresse https://www.memobio.fr/html/bact/ba_ba_bgn.html

Mezzatesta, M.L., Gona, F. and Stefani, S. (2012) Enterobacter cloacae Complex: Clinical Impact and Emerging Antibiotic Resistance. *Future Microbiology*, 7, 887-902.

Mingeot-Leclercq, M. P., Glupczynski, Y., & Tulkens, P. M. (1999). Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(4), 727–737.

Références bibliographiques

Afoufou, A., et Aissaoui, R. (2024). Évaluation du pouvoir adhésif d'une collection de bacilles à Gram négatif d'origine clinique (mémoire de master).

Garrity, G. M. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2^eéd., Vol. 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria).

Zgurskaya, H. I., & Nikaido, H. (2000). Multidrug resistance mechanisms: drug efflux across two membranes. *Molecular Microbiology*, 37(2), 219–225.

Mirabaud, M. I. (2003). *Entérobactéries à Bêta-lactamases à spectre élargi en pédiatrie en 1996* (Thèse de doctorat en médecine). Université de Genève, Faculté de Médecine.

Mordi, R. M., & Momoh, M. I. (2009). Incidence of urinary tract infections among pregnant women in Nigeria and the detection of the bacterial pathogens. *Journal of Biomedical Sciences*, 8(2), 66–70.

Moreira de Gouveia, M.I.; Bernalier-Donadille, A.; Jubelin, G. Enterobacteriaceae in the Human Gut: Dynamics and Ecological Roles in Health and Disease. *Biology* 2024, 13, 142.

Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2), 1–24.

Muylaert, A., & Mainil, J. (2013). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur "contagiosité". *Annales de Médecine Vétérinaire*, 156, 109–123.

Nikaido H. 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev* 67:593–656

Ochman, H., Lawrence, J. G., & Groisman, E. A. (2000). *Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation*. *Nature*, 405(6784), 299–304.

Öztürk, F. Y., Darcan, C., & Kariptaş, E. (2022). The determination, monitoring, molecular mechanisms and formation of biofilm in *E. coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54, 1035–1047

Références bibliographiques

Pascale, G. (2014). *Les antibiotiques : mécanismes d'action et enjeux thérapeutiques*. Éditions MédicScience.

Peng M, Lin W, Zhou A, Jiang Z, Zhou F, Wang Z. High genetic diversity and different type VI secretion systems in Enterobacter species revealed by comparative genomics analysis. *BMC Microbiol*. 2024 Jan 19;24(1):26.

Perrin, M., Le Garzic, J., Tas, A., & Avril, J. L. (1998). Infections urinaires communautaires et nosocomiales à bacilles à Gram négatif en milieu gériatrique. *Médecine et maladies infectieuses*, 28(6-7), 505-510. [https://doi.org/10.1016/s0399-077x\(98\)80020-6](https://doi.org/10.1016/s0399-077x(98)80020-6)

Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(4), 589–603. <https://doi.org/10.1128/cmr.11.4.589>

Raetz CR, Whitfield C. 2002. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu Rev Biochem* 71: 635–700.

Roux, A., & Ghigo, J.-M. (2006). Les biofilms bactériens. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 159(3), 261–268.

Roxanne Ornstein. Développement de sondes fluorogéniques pour le suivi du métabolisme et de la croissance de bactéries en gouttes. *Biochimie [q-bio.BM]*. Sorbonne Université, 2019. Français.

Schaffer, J. N., & Pearson, M. M. (2017). *Proteus mirabilis and urinary tract infections*. In *Microbiology Spectrum*, 5(4).

Schmieder, R., & Edwards, R. (2012). Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches. *Future Microbiology*, 7(1), 73–89.

Schmitz, F.-J., Martinez-Freijo, P., Theis, S., Fluit, A. C., Verhoef, J., Heinz, H.-P., & Jones, M. E. (1999). Class I integrons: prevalence and impact on antibiotic susceptibility in 278 consecutive unrelated Gram-negative blood isolates. *Clinical Microbiology and Infection*, 5(8), 496–498.

Références bibliographiques

Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(5), a000414.

Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Di Bonaventura, G., Djukic, S., Ćirković, I., & Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 115(8), 891-899.

Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., & Costerton, J. W. (2002). *Biofilms as complex differentiated communities*. *Annual Review of Microbiology*, 56, 187–209.

-Temme, K., Zhao, D., & Voigt, C. A. (2012). Refactoring the nitrogen fixation gene cluster from *Klebsiella oxytoca*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(18), 7085–7090.

Tran, J. H., & Jacoby, G. A. (2002). Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, 99(8), 5638–5642.

Tremblay, Y. D., Hathroubi, S., & Jacques, M. (2014). Les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78(2), 110-116.

Vilain, S., Pretorius, J. M., Theron, J., & Brözel, V. S. (2009). DNA as an adhesin: *Bacillus cereus* requires extracellular DNA to form biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(9), 2861–2868.

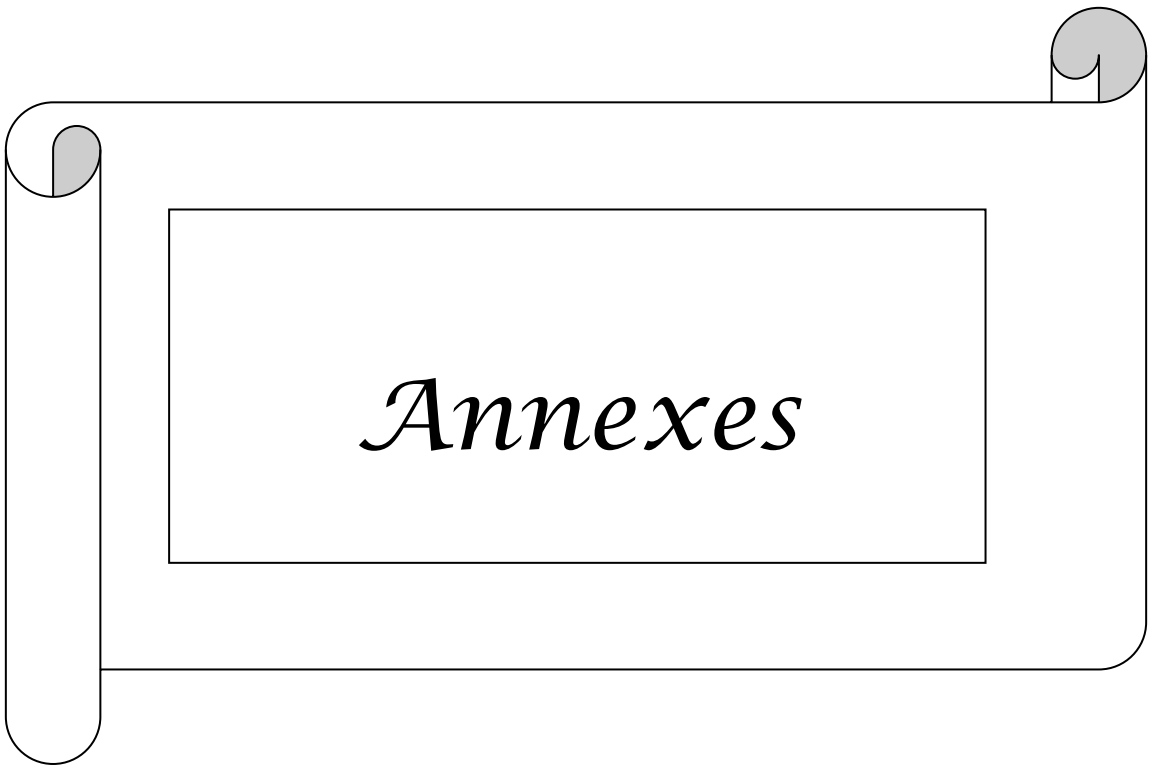
Vu, B., Chen, M., Crawford, R. J., & Ivanova, E. P. (2009). Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. *Molecules*, 14(7), 2535–2554.

Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(12), 4576–4579.

Références bibliographiques

-Wright, G. D. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **57**(10), 1451–1470.

Yu, D., Banting, G., & Neumann, N. F. (2021). A review of the taxonomy, genetics, and biology of the genus *Escherichia* and the type species *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology*, **67**(8), 553-571.



Annexes

Annexes 01. Milieux de culture utilisés

Gélose Mac Conkey :

Composition

- Peptone de caséine 7g
- Peptone de viande 3g
- Lactose 10g
- Mélange de sels biliaires 1.5g
- Chlorure de sodium 5.0
- Rouge neutre 0.03g
- Cristal violet 0.001g
- Agar agar 13.5g
- pH final 7,1

Gélose Mueller-Hinton :

Composition

- Infusion de viande de boeuf 3g
- Hydrolysate de caséine 17.5g
- Amidon 1.5g
- Gélose 17g
- pH final 7,4

BHIB :

Composition

- Infusion de cerveau et de cœur 200 g/L
- Peptone de soja 17.5 g/L
- Peptone de viande 10 g/L
- Glucose 2 g/L
- Chlorure de sodium 5g/L
- Phosphate dsodique 2.5 g/L

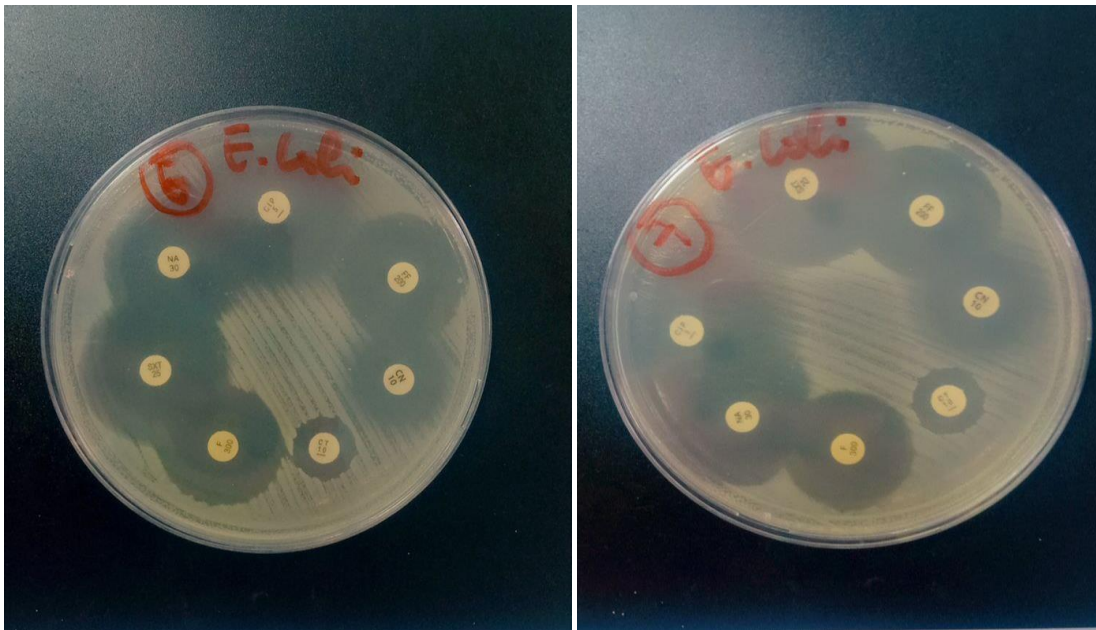
BHIA :

Composition

- Infusion de cerveau et de cœur 200 g/L
- Peptone de soja 17.5 g/L
- Peptone de viande 10 g/L

- Glucose 2 g/L
- Chlorure de sodium 5 g/L
- Phosphate dsodique 2.5 g/L
- Agar 15 g/L

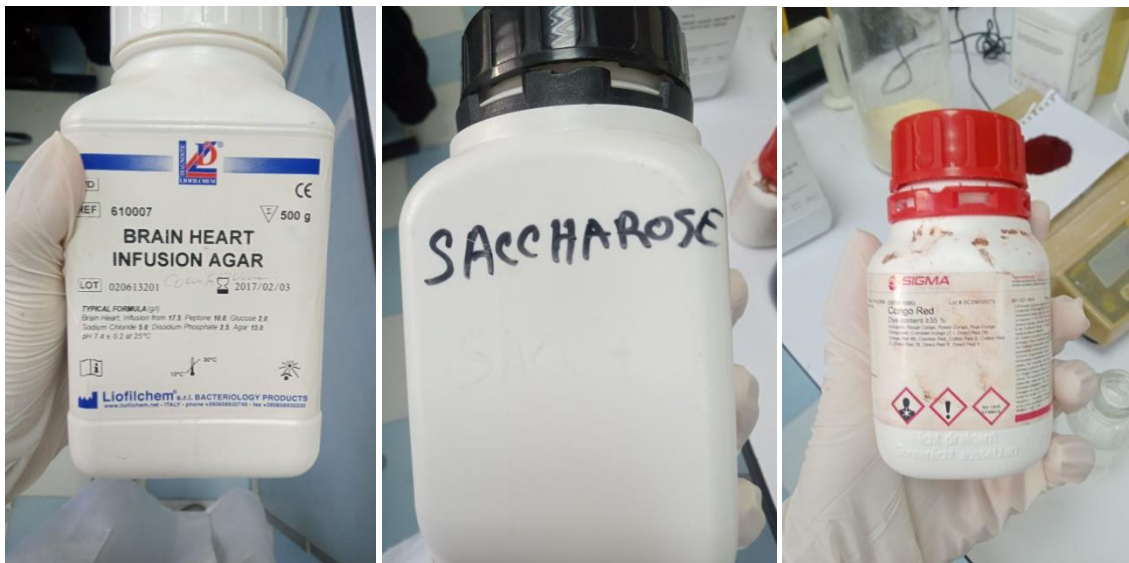
Annexes 02. Antibiogramme.



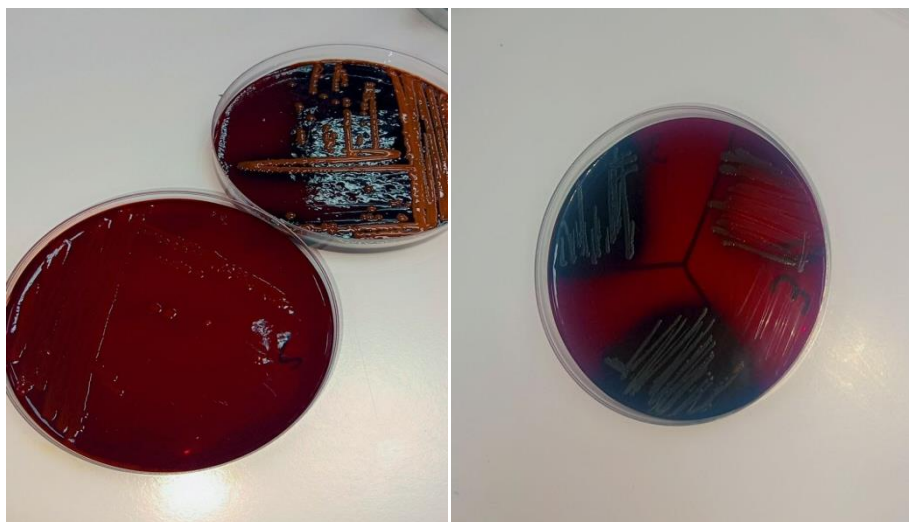
Annexes 03. Préparation d'un milieu de culture BHIB.



Annexes 04. Préparation de RCA.



Annexes 05. Résultats de biofilm par RCA.



Annexes 06. Préparation de microplaque.

