

UNIVERSITE MOHAMMED V -SOUISSI-
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE –RABAT-

ANNEE: 2012

THESE N°: 80

L'EFFET DU REPIQUAGE DE *KLEBSIELLA
PNEUMONIAE BLSE* SUR LES CARACTÈRES
MORPHOLOGIQUES, BIOCHIMIQUES ET
SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le:.....

PAR

Melle. Torres Chaimae

Née le 27 Novembre 1987 à Tanger

pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Repiquage, *Klebsiella pneumoniae BLSE*, pureté, viabilité, Lactose.

MEMBRES DE JURY

Mr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

PRESIDENT

Mme. S. EL HAMZAOUI

Professeur de Microbiologie

RAPPORTEUR

Mme. S. TELLAL

Professeur de Biochimie et Biochimie clinique

Mme. N.CHARKAOUI

Professeur de la pharmacie galénique

JUGES

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِمَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)



**UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

- 1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur AbdelmajidBELMAHI

ADMINISTRATION :

- Doyen : Professeur NajiaHAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie
4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie
7. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie –Réanimation
10. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

11. Pr. ABROUQ Ali* Oto-Rhino-Laryngologie
12. Pr. BENOMAR M'hammed Chirurgie-Cardio-Vasculaire

13. Pr. BENSOUDA Mohamed
14. Pr. BENOSMAN Abdellatif
15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Anatomie
Chirurgie Thoracique
Physiologie

Novembre 1983

16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
17. Pr. BALAFREJ Amina
18. Pr. BELLAKHDAR Fouad
19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

21. Pr. BOUCETTA Mohamed*
22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
25. Pr. NAJI M'Barek *
26. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

27. Pr. BENJELLOUN Halima
28. Pr. BENSAID Younes
29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
30. Pr. IHRAI Hssain *
31. Pr. IRAQI Ghali
32. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie
athologie Chirurgicale
Neurologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Pneumo-phtisiologie
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

33. Pr. AJANA Ali
34. Pr. AMMAR Fanid
35. Pr. CHAHED OUZZANI Houriaép.TAOBANE
36. Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq
37. Pr. EL HAITEM Naïma
38. Pr. EL MANSOURI Abdellah*
39. Pr. EL YAACOUBI Moradh
40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
41. Pr. LACHKAR Hassan
42. Pr. OHAYON Victor*

Radiologie
Pathologie Chirurgicale
Gastro-Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Cardiologie
Chimie-Toxicologie Expertise
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Médecine Interne

43. Pr. YAHYAOUI Mohamed

Neurologie

Décembre 1988

44. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib

Chirurgie Pédiatrique

45. Pr. DAFIRI Rachida

Radiologie

46. Pr. FAIK Mohamed

Urologie

47. Pr. HERMAS Mohamed

Traumatologie Orthopédie

48. Pr. TOLOUNE Farida*

Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

49. Pr. ADNAOUI Mohamed

Médecine Interne

50. Pr. AOUNI Mohamed

Médecine Interne

51. Pr. BENAMEUR Mohamed*

Radiologie

52. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali

Cardiologie

53. Pr. CHAD Bouziane

Pathologie Chirurgicale

54. Pr. CHKOFF Rachid

Urologie

55. Pr. KHARBACH Aïcha

Gynécologie -Obstétrique

56. Pr. MANSOURI Fatima

Anatomie-Pathologique

57. Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Neurologie

58. Pr. SEDRATI Omar*

Dermatologie

59. Pr. TAZI Saoud Anas

Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

60. Pr. AL HAMANY Zaïtounia

Anatomie-Pathologique

61. Pr. ATMANI Mohamed*

Anesthésie Réanimation

62. Pr. AZZOUZI Abderrahim

Anesthésie Réanimation

63. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM

Néphrologie

64. Pr. BELKOUCHI Abdelkader

Chirurgie Générale

65. Pr. BENABDELLAH Chahrazad

Hématologie

66. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif

Chirurgie Générale

67. Pr. BENSOUDA Yahia

Pharmacie galénique

68. Pr. BERRAHO Amina

Ophtalmologie

69. Pr. BEZZAD Rachid

Gynécologie Obstétrique

70. Pr. CHABRAOUI Layachi

Biochimie et Chimie

71. Pr. CHANA El Houssaine*

Ophtalmologie

72. Pr. CHERRAH Yahia

Pharmacologie

73. Pr. CHOKAIRI Omar

Histologie Embryologie

74. Pr. FAJRI Ahmed*

Psychiatrie

75. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*

Chirurgie Générale

76. Pr. KHATTAB Mohamed

Pédiatrie

77. Pr. NEJMI Maati

Anesthésie-Réanimation

78. Pr. OUAALINE Mohammed*

Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène

79. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH

Pharmacologie

80. Pr. TAOUFIK Jamal

Chimie thérapeutique

Décembre 1992

81. Pr. AHALLAT Mohamed

Chirurgie Générale

82. Pr. BENOUDA Amina

Microbiologie

83. Pr. BENSOUADA Adil

Anesthésie Réanimation

84. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib

Radiologie

85. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza

Gastro-Entérologie

86. Pr. CHRAIBI Chafiq

Gynécologie Obstétrique

87. Pr. DAOUDI Rajae

Ophthalmologie

88. Pr. DEHAYNI Mohamed*

Gynécologie Obstétrique

89. Pr. EL HADDOURY Mohamed

Anesthésie Réanimation

90. Pr. EL OUAHABI Abdessamad

Neurochirurgie

91. Pr. FELLAT Rokaya

Cardiologie

92. Pr. GHAFIR Driss*

Médecine Interne

93. Pr. JIDDANE Mohamed

Anatomie

94. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine

Gynécologie Obstétrique

95. Pr. TAGHY Ahmed

Chirurgie Générale

96. Pr. ZOUHDI Mimoun

Microbiologie

Mars 1994

97. Pr. AGNAOU Lahcen

Ophthalmologie

98. Pr. AL BAROUDI Saad

Chirurgie Générale

99. Pr. BENCHERIFA Fatiha

Ophthalmologie

100. Pr. BENJAAFAR Nouredine

Radiothérapie

101. Pr. BENJELLOUN Samir

Chirurgie Générale

102. Pr. BEN RAIS Nozha

Biophysique

103. Pr. CAOUI Malika

Biophysique

104. Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Endocrinologie et Maladies Métaboliques

105. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT

Gynécologie Obstétrique

106. Pr. EL AOUAD Rajae

Immunologie

107. Pr. EL BARDOUNI Ahmed

Traumato-Orthopédie

108. Pr. EL HASSANI My Rachid

Radiologie

109. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur

Médecine Interne

110. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*

Chirurgie Cardio- Vasculaire

111. Pr. ERROUGANI Abdelkader

Chirurgie Générale

112. Pr. ESSAKALI Malika

Immunologie

113. Pr. ETTAYEBI Fouad

Chirurgie Pédiatrique

114. Pr. HADRI Larbi*

Médecine Interne

115. Pr. HASSAM Badredine

Dermatologie

116. Pr. IFRINE Lahssan

Chirurgie Générale

117. Pr. JELTHI Ahmed

Anatomie Pathologique

118. Pr. MAHFOUD Mustapha

Traumatologie – Orthopédie

119. Pr. MOUDENE Ahmed*

Traumatologie- Orthopédie

120. Pr. OULBACHA Said

Chirurgie Générale

121. Pr. RHRAB Brahim

Gynécologie – Obstétrique

122. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR

Dermatologie

123. Pr. SLAOUI Anas

Chirurgie Cardio-Vasculaire

Mars 1994

124. Pr. ABBAR Mohamed*
125. Pr. ABDELHAK M'barek
126. Pr. BELAIDI Halima
127. Pr. BRAHMI Rida Slimane
128. Pr. BENTAHILA Abdelali
129. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
130. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
131. Pr. CHAMI Ilham
132. Pr. CHERKAOUI LallaOuafae
133. Pr. EL ABBADI Najia
134. Pr. HANINE Ahmed*
135. Pr. JALIL Abdelouahed
136. Pr. LAKHDAR Amina
137. Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

138. Pr. ABOUQUAL Redouane
139. Pr. AMRAOUI Mohamed
140. Pr. BAIDADA Abdelaziz
141. Pr. BARGACH Samir
142. Pr. BEDDOUCHE Amocrane*
143. Pr. BENZAOUZ Mustapha
144. Pr. DIMOU M'barek*
145. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
146. Pr. EL MESNAOUI Abbes
147. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
148. Pr. FERHATI Driss
149. Pr. HASSOUNI Fadil

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Gynécologie Obstétrique
Médecine Préventive, Santé Publique
et Hygiène

150. Pr. HDA Abdelhamid*
151. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
152. Pr. IBRAHIMY Wafaa
153. Pr. MANSOURI Aziz
154. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
155. Pr. RZIN Abdelkader*
156. Pr. SEFIANI Abdelaziz
157. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Cardiologie
Urologie
Ophtalmologie
Radiothérapie
Ophtalmologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

158. Pr. AMIL Touriya*
159. Pr. BELKACEM Rachid
160. Pr. BELMAHI Amin
161. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Chirurgie réparatrice et plastique
Ophtalmologie

162. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
163. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*
164. Pr. GAOUZI Ahmed
165. Pr. MAHFOUDI M'barek*
166. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid
167. Pr. MOHAMMADI Mohamed
168. Pr. MOULINE Soumaya
169. Pr. OUADGHIRI Mohamed
170. Pr. OUZEDDOUN Naima
171. Pr. ZBIR EL Mehdi*

Novembre 1997

172. Pr. ALAMI Mohamed Hassan
173. Pr. BEN AMAR Abdesselem
174. Pr. BEN SLIMANE Lounis
175. Pr. BIROUK Nazha
176. Pr. BOULAICH Mohamed
177. Pr. CHAOUIR Souad*
178. Pr. DERRAZ Said
179. Pr. ERREIMI Naima
180. Pr. FELLAT Nadia
181. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
182. Pr. HAIMEUR Charki*
183. Pr. KANOUNI NAWAL
184. Pr. KOUTANI Abdellatif
185. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
186. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
187. Pr. NAZI M'barek*
188. Pr. OUAHABI Hamid*
189. Pr. SAFI Lahcen*
190. Pr. TAOUFIQ Jallal
191. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

192. Pr. AFIFI RAJAA
193. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*
194. Pr. ALOUANE Mohammed*
195. Pr. BENOMAR ALI
196. Pr. BOUGTAB Abdesslam
197. Pr. ER RIHANI Hassan
198. Pr. EZZAITOUNI Fatima
199. Pr. KABBAJ Najat
200. Pr. LAZRAK Khalid (M)

Novembre 1998

201. Pr. BENKIRANE Majid*

Chirurgie Générale
Parasitologie
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumo-ptisiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Urologie
Neurologie
O.RL.
Radiologie
Neurochirurgie
Pédiatrie
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie Réanimation
Physiologie
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Cardiologie
Neurologie
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Gastro-Entérologie
Pneumo-ptisiologie
Oto-Rhino-Laryngologie
Neurologie
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Hématologie

202. Pr. KHATOURI ALI*
203. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

204. Pr. ABID Ahmed*
205. Pr. AIT OUMAR Hassan
206. Pr. BENCHERIF My Zahid
207. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd
208. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
209. Pr. CHAOUI Zineb
210. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
211. Pr. ECHARRAB El Mahjoub
212. Pr. EL FTOUH Mustapha
213. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
214. Pr. EL OTMANY Azzedine
215. Pr. GHANNAM Rachid
216. Pr. HAMMANI Lahcen
217. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
218. Pr. ISMAILI Hassane*
219. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
220. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
221. Pr. TACHINANTE Rajae
222. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-ptisiologie
Neurochirurgie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

223. Pr. AIDI Saadia
224. Pr. AIT OURHROUI Mohamed
225. Pr. AJANA Fatima Zohra
226. Pr. BENAMR Said
227. Pr. BENCHEKROUN Nabiha
228. Pr. CHERTI Mohammed
229. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
230. Pr. EL HASSANI Amine
231. Pr. EL IDGHIRI Hassan
232. Pr. EL KHADER Khalid
233. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
234. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
235. Pr. HSSAIDA Rachid*
236. Pr. LACHKAR Azzouz
237. Pr. LAHLOU Abdou
238. Pr. MAFTAH Mohamed*
239. Pr. MAHASSINI Najat
240. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie

241. Pr. NASSIH Mohamed*
242. Pr. ROUIMI Abdelhadi
Décembre 2001

Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

243. Pr. ABABOU Adil
244. Pr. AOUAD Aicha
245. Pr. BALKHI Hicham*
246. Pr. BELMEKKI Mohammed
247. Pr. BENABDELJLIL Maria
248. Pr. BENAMAR Loubna
249. Pr. BENAMOR Jouda
250. Pr. BENELBARHDADI Imane
251. Pr. BENNANI Rajae
252. Pr. BENOUACHANE Thami
253. Pr. BENYOUSSEF Khalil
254. Pr. BERRADA Rachid
255. Pr. BEZZA Ahmed*
256. Pr. BOUCHIKHI IDRISSI Med Larbi
257. Pr. BOUHOUCHE Rachida
258. Pr. BOUMDIN El Hassane*
259. Pr. CHAT Latifa
260. Pr. CHELLAOUI Mounia
261. Pr. DAALI Mustapha*
262. Pr. DRISSI Sidi Mourad*
263. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira
264. Pr. EL HIJRI Ahmed
265. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
266. Pr. EL MADHI Tarik
267. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
268. Pr. EL OUNANI Mohamed
269. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
270. Pr. ETTAIR Said
271. Pr. GAZZAZ Miloudi*
272. Pr. GOURINDA Hassan
273. Pr. HRORA Abdelmalek
274. Pr. KABBAJ Saad
275. Pr. KABIRI EL Hassane*
276. Pr. LAMRANI Moulay Omar
277. Pr. LEKEHAL Brahim
278. Pr. MAHASSIN Fattouma*
279. Pr. MEDARHRI Jalil
280. Pr. MIKDAME Mohammed*
281. Pr. MOHSINE Raouf
282. Pr. NABIL Samira
283. Pr. NOUINI Yassine

Anesthésie-Réanimation
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Rhumatologie
Anatomie
Cardiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Urologie

284. Pr. OUALIM Zouhir*
285. Pr. SABBAH Farid
286. Pr. SEFIANI Yasser
287. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia
288. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie
Urologie

Décembre 2002

289. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
290. Pr. AMEUR Ahmed *
291. Pr. AMRI Rachida
292. Pr. AOURARH Aziz*
293. Pr. BAMOU Youssef *
294. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
295. Pr. BENBOUAZZA Karima
296. Pr. BENZEKRI Laila
297. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
298. Pr. BERNOUSSI Zakiya
299. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya
300. Pr. CHOHO Abdelkrim *
301. Pr. CHKIRATE Bouchra
302. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
303. Pr. EL ALJ Haj Ahmed
304. Pr. EL BARNOUSSI Leila
305. Pr. EL HAOURI Mohamed *
306. Pr. EL MANSARI Omar*
307. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
308. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
309. Pr. HADDOUR Leila
310. Pr. HAJJI Zakia
311. Pr. IKEN Ali
312. Pr. ISMAEL Farid
313. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
314. Pr. KRIOULE Yamina
315. Pr. LAGHMARI Mina
316. Pr. MABROUK Hfid*
317. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
318. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
319. Pr. MOUSTAINE My Rachid
320. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
321. Pr. OUJILAL Abdelilah
322. Pr. RACHID Khalid *
323. Pr. RAISS Mohamed
324. Pr. RHOU Hakima
325. Pr. SIAH Samir *
326. Pr. THIMOU Amal

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Rhumatologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Gynécologie Obstétrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie

327. Pr. ZENTAR Aziz*
328. Pr. ZRARA Ibtisam*

Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

329. Pr. ABDELLAH El Hassan
330. Pr. AMRANI Mariam
331. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
332. Pr. BENKIRANE Ahmed*
333. Pr. BENRAMDANE Larbi*
334. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
335. Pr. BOULAADAS Malik
336. Pr. BOURAZZA Ahmed*
337. Pr. CHAGAR Belkacem*
338. Pr. CHERRADI Nadia
339. Pr. EL FENNI Jamal*
340. Pr. EL HANCI ZAKI
341. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
342. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
343. Pr. HACHI Hafid
344. Pr. JABOUIRIK Fatima
345. Pr. KARMANE Abdelouahed
346. Pr. KHABOUZE Samira
347. Pr. KHARMAZ Mohamed
348. Pr. LEZREK Mohammed*
349. Pr. MOUGHIL Said
350. Pr. NAOUMI Asmae*
351. Pr. SAADI Nozha
352. Pr. SASSENOU ISMAIL*
353. Pr. TARIB Abdelilah*
354. Pr. TIJAMI Fouad
355. Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Chimie Analytique
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Gastro-Entérologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

356. Janvier 2005

357. Pr. ABBASSI Abdellah
358. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
359. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
360. Pr. ALLALI Fadoua
361. Pr. AMAR Yamama
362. Pr. AMAZOUZI Abdellah
363. Pr. AZIZ Nouredine*
364. Pr. BAHIRI Rachid
365. Pr. BARKAT Amina
366. Pr. BENHALIMA Hanane
367. Pr. BENHARBIT Mohamed
368. Pr. BENYASS Aatif

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Néphrologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Ophtalmologie
Cardiologie

369. Pr. BERNOUSSI Abdelghani
 370. Pr. BOUKLATA Salwa
 371. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
 372. Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 373. Pr. EL HAMZAoui Sakina
 374. Pr. HAJJI Leila
 375. Pr. HESSISSEN Leila
 376. Pr. JIDAL Mohamed*
 377. Pr. KARIM Abdelouahed
 378. Pr. KENDOOUSSI Mohamed*
 379. Pr. LAAROUSSI Mohamed
 380. Pr. LYAGOUBI Mohammed
 381. Pr. NIAMANE Radouane*
 382. Pr. RAGALA Abdelhak
 383. Pr. SBIHI Souad
 384. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam
 385. Pr. ZERAIDI Najia

Ophtalmologie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Biophysique
 Microbiologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Cardiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Parasitologie
 Rhumatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Histo-Embryologie Cytogénétique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 425. Pr. AKJOUJ Said*
 426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra
 427. Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 428. Pr. BENCHEIKH Razika
 429. Pr. BIYI Abdelhamid*
 430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 432. Pr. CHEIKHAOUI Younes
 433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 434. Pr. DOGHMI Nawal
 435. Pr. ESSAMRI Wafaa
 436. Pr. FELLAT Ibtissam
 437. Pr. FAROUDY Mamoun
 438. Pr. GHADOUANE Mohammed*
 439. Pr. HARMOUCHE Hicham
 440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine
 442. Pr. JROUNDI Laila
 443. Pr. KARMOUNI Tariq
 444. Pr. KILI Amina
 445. Pr. KISRA Hassan
 446. Pr. KISRA Mounir
 447. Pr. KHARCHAFI Aziz*
 448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*

Dermatologie
 Radiologie
 Dermatologie
 Hématologie
 O.R.L
 Biophysique
 Chirurgie - Pédiatrique
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Médecine Interne
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie

450. Pr. MANSOURI Hamid*
 451. Pr. NAZIH Naoual
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak
 453. Pr. SAFI Soumaya*
 454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 455. Pr. SEFIANI Sana
 456. Pr. SOUALHI Mouna
 457. Pr. TELLAL Saida*
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
 461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *
 462. Pr. BAITE Abdelouahed *
 463. Pr. TOUATI Zakia
 464. Pr. OUZZIF Ezzohra *
 465. Pr. BALOUCH Lhousaine *
 466. Pr. SELKANE Chakir *
 467. Pr. EL BEKKALI Youssef *
 468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
 469. Pr. EL ABSI Mohamed
 470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
 471. Pr. ACHOUR Abdessamad *
 472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
 473. Pr. GHARIB Nouredine
 474. Pr. TABERKANET Mustafa *
 475. Pr. ISMAILI Nadia
 476. Pr. MASRAR Azlarab
 477. Pr. RABHI Monsef *
 478. Pr. MRABET Mustapha *
 479. Pr. SEKHSOKH Yessine *
 480. Pr. SEFFAR Myriame
 481. Pr. LOUZI Lhoussain *
 482. Pr. MRANI Saad *
 483. Pr. GANA Rachid
 484. Pr. ICHOU Mohamed *
 485. Pr. TACHFOUTI Samira
 486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine
 487. Pr. MELLAL Zakaria
 488. Pr. AMMAR Haddou *
 489. Pr. AOUI Sarra
 490. Pr. TLIGUI Houssain
 491. Pr. MOUTAJ Redouane *

Anatomie pathologique
 Anesthésie réanimation
 Anesthésier réanimation
 Anesthésie réanimation
 Anesthésie réanimation
 Cardiologie
 Biochimie
 Biochimie
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie plastique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Dermatologie
 Hématologie biologique
 Médecine interne
 Médecine préventive santé publique et hygiène
 Microbiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Virologie
 Neuro chirurgie
 Oncologie médicale
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 ORL
 Parasitologie
 Parasitologie
 Parasitologie

492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen *	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AMAHZOUNE Brahim *	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
Pr. ABOUZAHIR Ali*	Médecine interne
Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne
Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
Pr. L'kassimiHachemi*	Microbiologie
Pr. AKHADDAR Ali *	Neuro-chirurgie
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie
Pr. KARBOUBI Lamya	Pédiatrie
Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie

Pr. KABIRI Meryem
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
Pr. BASSOU Driss *
Pr. ALLALI Nazik
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. AMINE Bouchra
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
Pr. KADI Said *

Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Rhumatologie
Rhumatologie
Traumatologie orthopédique
Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. CHERRADI Ghizlan
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. ALILOU Mustapha
Pr. KANOUNI Lamyia
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. MALIH Mohamed*
Pr. BOUSSIF Mohamed*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. RAISSOUNI Zakaria*
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. LEZREK Mounir
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. LAMALMI Najat
Pr. ZOUAIDIA Fouad
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. CHADLI Mariama*

Médecine interne
Gastro entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie réanimation
Radiothérapie
Radiologie
Radiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Médecine aérologique
Chirurgie plastique et réparatrice
Chirurgie pédiatrique
Urologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
ORL
Ophtalmologie
Hématologie
Anatomie pathologique
Anatomie pathologique
Physiologie
Biochimie chimie
Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima
3. Pr. ALAOUI KATIM
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
5. Pr. ANSAR M'hammed

Physiologie
Biochimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie Chimique

6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
9. Pr. CHAHED OUZZANI LallaChadia	Biochimie
10. Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11. Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13. Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootéchnie
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine	Pharmacologie
17. Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19. Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
21. Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22. Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23. Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*** *Enseignants Militaire***

+



A Mes très chers parents

Aucune dédicace ne saurait traduire la profondeur des sentiments d'affection, d'estime et de respect envers vous.

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

*Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long
parcours.*

*J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous êtes fière de moi, et
que je réalise l'un de vos rêves*

*J'espère être la fille que vous aviez voulu que je sois, et je
m'efforcerai d'être digne de ce que vous auriez souhaité que je
sois. Ce titre de Docteur en Pharmacie je le porterai fièrement et
je vous le dédie tout particulièrement.*

*Puisse Dieu vous procurer bonheur, santé, longue vie et vous
garder à mes côtés le plus longtemps possible*

A mes très chères frères Abdelghafour et Anas

J'espère avoir été à la hauteur de votre estime et que ce travail soit un témoignage de mes sentiments les plus chers que j'ai pour vous.

Que Dieu vous protège et vous accorde un brillant avenir avec une vie pleine de joie, de bonheur et succès.

A mon grand-père Mesbahi Abderrahmane

Je ne trouve pas les lettres pour vous exprimer tout ce que je ressens envers vous. Vous avez toujours été à mes côtés, votre amour et votre confiance en moi m'ont poussé vers l'avant et j'espère être à la hauteur de vos espérances.

Que Dieu le tout puissant vous protège et vous procure longue vie.

A ma grande mère Elaraychi Fatoumata

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon
affection et mes pensées.*

*Je vous dédie ce travail et vous souhaite une vie pleine de santé et de
bonheur.*

Que Dieu prolonge votre vie

*A la mémoire de mes grands parents
Abdelghafour Torres, Rokaya Azziman*

Vous serez toujours parmi nous.

Ni la mort ni le temps vous ferons oublier

Que Dieu vous accorde sa grâce et sa miséricorde

A tous les membres de ma famille

Vous avez toujours fait la preuve d'attachement, de sincérité, et de considération envers ma personne.

Je voudrais pouvoir vous apporter ici la chaleur de mon affection et de mon amour.

Votre aide, votre générosité extrême, votre soutien, étaient pour moi une source de courage, de conscience et de patience.

Puisse Dieu, le tout puissant, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer longue vie.

*A tous mes maîtres, professeurs de la faculté de
Médecine et de Pharmacie de Rabat.*

A tous ceux qui me sont chers

A mes chères amies

Habiba et Hajar

J'aurais toujours à l'esprit le souvenir des agréables années qu'on a mené à trois, avec les inoubliables moments de joie et de tristesse qu'on savait adroitement éluder en s'épaulant mutuellement.

Puisse Dieu vous protéger et nous laisser unies et solidaires à jamais.

A tous mes amies:

Nada, Imane, Rajae, Soukaina, Inssaf, Ijlal, Fatima ezzahrae et Houssnia.

Mes merveilleuses amies, toujours compréhensives attentionnés et de bonne humeur.

Je vous offre ce travail en souvenir du bon vieux temps qu'on a passé ensemble.

Je vous exprime par ce travail toute mon affection et j'espère que notre amitié restera intacte et durera pour toujours

Puisse Dieu vous procure, bonheur, succès et prospérité

A tous mes collègues,

Je vous remercie pour votre soutien tout le long de ces années de travail

et pour les moments passés de joie ou de tristesse toujours on a été

épaulés l'un à l'autre.

A tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

A tous ceux qui ont pour mission cette pénible tâche de soulager l'être

humain et d'essayer de lui procurer le bien-être physique, psychique et

social.

A tous ceux connus ou inconnus qui vont feuilleter un jour ce travail.

Remerciements



À notre maître et président de thèse

Monsieur Mimoun Zohdi

Professeur de Microbiologie

En présidant ce jury, vous nous faites un grand honneur.

*Votre compétence, votre rigueur et vos qualités humaines exemplaires,
ont toujours suscité notre admiration.*

*Veillez trouver, cher maître, dans ce modeste travail, l'expression de
notre très haute considération et notre profonde gratitude.*

A notre maître et rapporteur de thèse

Madame Sakina El Hamzaoui

Professeur de Microbiologie

Nous vous remercions pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail.

Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous votre direction, et avons trouvé auprès de vous la conseiller et le guide qui nous a reçus en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance.

Votre compétence, votre dynamisme, votre rigueur et vos qualités humaines et professionnelles ont suscité en nous une grande admiration et un profond respect.

Nous tenons à vous adresser nos plus vifs remerciements pour nous avoir suggérer ce sujet très passionnant.

Nous voudrions être dignes de la confiance que vous nous avez accordée et vous prions, chère Maitre, de trouver ici le témoignage de notre sincère reconnaissance et profonde gratitude

A notre maître et juge de thèse

Madame Saida Tellal

Professeur de Biochimie et Biochimie clinique

*Nous vous remercions sincèrement de l'honneur que vous nous faites en
siégeant dans notre jury.*

*Votre sérieux, vos compétences et vos qualités humaines et
intellectuelles n'ont cessé de suscité ma grande admiration.*

*Que ce travail soit pour nous l'occasion de vous exprimer notre
gratitude et notre profond respect.*

A notre maître et juge de thèse

Madame Nawal Charqaoui

Professeur de pharmacie galénique

*C'est un réel plaisir et un honneur pour nous de vous compter parmi les
membres de ce jury de thèse.*

*En dépit de vos nombreuses occupations vous avez accepté de venir
juger ce travail.*

*Veillez trouver, cher maître, l'expression de notre très haute
considération et notre profonde gratitude.*

Liste des figures :

Figure1 : Colonies de <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur milieu Mac Conkey	6
Figure 2 : <i>Klebsiella Pneumoniae</i> après coloration de Gram des crachats.....	6
Figure 3 : Photos d'une galerie API 20 E de <i>Klebsiella Pneumoniae</i> réalisée au laboratoire de Microbiologie de L'HMIMV-Rabat 2012/ <i>TORRES Chaimae</i>	7
Figure 4 : l'aspect de synergie « Aspect en bouchon de champagne » entre l'AMC, les céphalosporines de 3ème génération et l'aztréonam pour une souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> . Laboratoire de Microbiologie de l'HMIMV-Rabat/ <i>EL HAMZAOUI Sakina</i>	14
Figure 5 : photo de la gélose au sang cuit avec des colonies de <i>Klebsiella Pneumoniae</i> initiale réalisée au laboratoire de Microbiologie de L'HMIMV-Rabat-2012 / <i>TORRES Chaimae</i>	17
Figure 6 : photo de la gélose BCP avec des colonies de <i>Klebsiella pneumoniae</i> réalisée au laboratoire de Microbiologie de LMIMV-Rabat-2012/ <i>TORRES Chaimae</i>	17
Figure7 : photo de la gélose Mueller-Hinton avec des colonies de <i>Klebsiella pneumoniae</i> et un disque d'imipénème réalisé au laboratoire de Microbiologie de L'HMIMV-Rabat-2012 / <i>TORRES Chaimae</i>	18
Figure8 : milieu citrate de Simmons avec des bactéries citrate négatives (1) et citrate positives (2).....	19
Figure 9 : milieu MANNITOL-MOBILITE-NITRATE... ..	20
Figure 10 : milieu Lactose-Glucose-H ₂ S (KLIGLER-HAJNA.....	21
Figure 11 : milieu Clark et Lubs	22
Figure 12 : Photo du milieu LDC réalisée au laboratoire de Microbiologie de l'HMIMV-Rabat-2012 / <i>TORRES Chaimae</i>	23

Figure 13 : milieu viande foie avec des bactéries productrice (1) et non (2) de gaz.....	24
Figure 14 : Galerie API 20 E. Laboratoire de Microbiologie de L’HMIMV Rabat-2012 / <i>TORRES Chaimae</i>	26
Figure 15 : Bec bunsen	26
Figure 16 : des pipettes pasteur.....	26
Figure 18 : Une boîte de pétri.....	27
Figure 17 : poire en caoutchouc	27
Figure 19 : une anse en platine.....	27
Figure 20 : lames en verre.....	27
Figure 21 : microscope optique.....	27
Figure 22 : portoir des tubes de la galerie classique. Laboratoire de Microbiologie de l’HMIMV Rabat/ <i>Torres Chaimae</i>	27
Figure 23 : tubes d’eau stériles.....	28
Figure 24 : tubes à hémolyses.....	28
Figure 25 : étuve d’incubation.....	28
Figure 26 : réfrigérateur utilisé en bactériologie.....	28
Figure 27 : bain marie utilisé en bactériologie.....	28
Figure 28 : méthode d’ensemencement en quadrant.....	31
Figure 29 : ensemencement en quadrant d’une souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur gélose au sang cuit. Laboratoire de Microbiologie de L’HMIMV-Rabat-2012/ <i>TORRES Chaimae</i>	31
Figure 30 : méthode de réalisation de l’inoculum pour le remplissage de la galerie API 20 E -2012- / <i>TORRES Chaimae</i>	33

Figure 31: tubes d'eppendorf contenant des souches de <i>Kp</i> mises dans le milieu Luria Bertani. Laboratoire de Microbiologie de l'HMIMV-Rabat-2012/ <i>TORRES Chaimae</i>	39
Figure 32: La taille des colonies de <i>Kp</i> après repiquages successifs sur milieu BCP. Laboratoire de microbiologie à l'HMIMV -Rabat-2012/ <i>TORRES Chaimae</i>	44
Figure 33 : Le gram de <i>Kp</i> après repiquages successifs. Laboratoire de Microbiologie à l'HMIMV -Rabat-2012/ <i>TORRES Chaimae</i>	50
Figure 34 : Le gram de <i>Kp</i> BLSE fait à partir d'une colonie blanchâtre située à côté de l'amoxicilline + acide clavulanique (AMC). Laboratoire de microbiologie à l'HMIMV-Rabat-2012 / <i>TORRES Chaimae</i>	50
Figure 35: Lecture de la galerie miniaturisé API20 E après incubation à l'étuve 37°C. Laboratoire de microbiologie à l'HMIMV -Rabat- 2012/ <i>TORRES Chaimae</i>	51
Figure 36 : aspect de la galerie classique de LEMINORensemencée par <i>Kp</i> après incubation à 37°C. Laboratoire de microbiologie à l'HMIMV -Rabat-2012/ <i>TORRES Chaimae</i>	53
Figure 37 : milieu citrate de Simmons ensemencé par <i>Klebsiella pneumoniae</i> . Laboratoire de microbiologie à l'HMIMV Rabat-2012 / <i>TORRES Chaimae</i> ...	53

Liste des tableaux :

Tableau I: classification des carbapénèmases	10
Tableau II : classification des BLSE au sein des bêta-lactamase.....	13
Tableau III : Lecture de la galerie miniaturisée API 20 E	34
Tableau IV: Les caractéristiques macroscopiques de <i>Kp</i> cultivée sur milieu BCP après incubation à 37°C.....	45
Tableau V : Les paramètres biochimiques de <i>Kp lus</i> par la galerie micronisée API 20 E après incubation à 37°C	52
Tableau VI : Les paramètres biochimiques de <i>Kp lus</i> par la galerie classique après incubation à 37°C	54
Tableau VII : Le comportement de <i>Kp</i> vis-à-vis certains antibiotiques..	57

Liste des abréviations :

Kp	: Klebsiella pneumoniae.
BLSE	: Bêta-lactamases à spectre étendu.
SHV	: Sulfhydril variable.
OXA	: Oxacillinase.
VIM	: Verona Imipénèmase.
C3G	: Céphalosporine de la 3 ^{ème} génération.
C2G	: Céphalosporine de la 2 ^{ème} génération.
C1G	: Céphalosporines de la 1 ^{ère} génération.
CTX	: Cefotaxime.
CAZ	: Ceftazidime.
ATM	: Aztréonam.
HMMIV	: Hôpital militaire d'instruction Mohamed V.
BCP	: Pourpre de bromocrésol.
M.H	: MUELER-HINTON.
L.D.C	: Lysine-décarboxylase.
VF	: VIANDE-FOIE.
TDA	: Tryptophane-désaminase.
API	: Appareillage et Procédés d'Identification.
E	: Entérobactéries.
ONPG	: Ortho nitro-phényl- galactoside.
ADH	: Arginine désaminase.
ODC	: Ornithine décarboxylase.
CIT	: Citrate.
TDA	: Tryptophane désaminase.
IND	: Indole.
VP	: Voges-Proskauer.
GEL	: Gélatinase.
H2S	: Thiosulfate de sodium.
GLU	: Glucose.
MAN	: Mannitol.
INO	: Inositol.

SOR	: Sorbitol.
RHA	: Rhamnose.
SAC	: Saccharose.
MEL	: Melibiose.
AMY	: Amygdaline.
ARA	: Arabinose.
AML	: Amoxicilline.
TIC	: Ticarcilline.
AMC	: Amoxicilline + Acide clavulanique.
CAZ	: Ceftazidime.
CTX	: Cefotaxime.
FOX	: Céfoxitine.
FEP	: Céfépime.
KF	: Cefalotine.
ATM	: Aztréonam.
IMP	: Imipénème.
AK	: Amikacine.
CN	: Gentamicine.
TOB	: Tobramycine.
FOS	: Fosfomycine.
CT	: Colistine.
SXT	: Sulfaméthoxazole + Triméthoprim.
NOR	: Norfloxacin.
BGN	: Bacilles à Gram Négatif.

TABLE DES MATIERES

I.INTRODUCTION	1
II.GENERALITE SUR KLEBSIELLA PNEUMONIAE	4
II.1Caractère bactériologique	5
II.1.1 Taxonomie	5
II.1.2 Généralités sur <i>Klebsiella pneumoniae subsp.pneumoniae</i>	5
II.1.3 Habitat	5
II.1.4 Aspect macroscopique	6
II.1.5 Aspect microscopique	6
II.1.6 Caractères biochimiques.....	7
II.2 Pouvoir pathogène	7
II.3 Sensibilités et résistances chez <i>Klebsiella pneumoniae</i>	8
II.3.1 Résistances aux inhibiteurs des bêta-lactamases.....	8
II.3.2 Résistances acquises « pénicillinase de haute niveau »	9
II.3.3 Résistances de type betalactamase plasmidique de classe C	9
II.3.4 Résistances aux céfépime et au cefpirome	9
II.3.5 Résistances aux carbapénèmes.....	9
II.3.6 Résistances aux aminosides.....	11
II.3.7 Résistances aux quinolones et aux fluoroquinolones.....	11
II.3.8 Résistance de type bêta-lactamase de classe A à spectre étendu (BLSE)	12
II.3.8.1 Définition.....	12
II.3.8.2 Classification	13

III.2.5.4.3 Lecture d'antibiogramme.....	38
III.2.6 Souchage	39
IV. RESULTAT	40
IV.1 Les caractéristiques macroscopiques de la souche	
Bactérienne.....	42
IV.1.1 Pureté	42
IV.1.2 Viabilité.....	42
IV.1.3 Pigmentation	42
IV.1.4 Relief des colonies	43
IV.1.5 Allure des contours des colonies	43
IV.1.6 Aspect de la surface des colonies.....	43
IV.1.7 La taille des colonies.....	43
IV.2 Les caractéristiques microscopiques après coloration	
de Gram.....	49
IV.3 Les paramètres biochimiques	51
IV.3.1 Par la galerie API 20 E.....	51
IV.3.2 Par la galerie classique (de LEMINOR)	53
IV.4 Le comportement vis-à-vis certains antibiotiques	57
V. DISCUSSION.....	59
VI. LIMITES	65
VII. PERSPECTIVES D'AVENIR.....	67
VIII. CONCLUSION	69
RESUME	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

I. INTRODUCTION

Le repiquage correspond au prélèvement d'une petite partie d'une culture de bactéries ou de tissus pour la transplanter sur un milieu neuf où elle continuera sa croissance [1, 2].

Cela permet de :

- ⇒ Isoler les bactéries pour les dénombrer en cas de contrôle sanitaire.
- ⇒ Identifier une bactérie en cas d'une souche pure.
- ⇒ Réaliser un antibiogramme à partir d'une colonie pure afin de déterminer la sensibilité de la bactérie et de trouver un traitement adapté à une infection.
- ⇒ Avoir un nombre important de bactéries à partir d'une colonie pure pour d'éventuelles utilisations.

Le repiquage nécessite des conditions de travail rigoureuses tel que la stérilisation du matériel et l'hygiène du manipulateur pour éviter toute contamination de la souche en question et de l'environnement y compris le manipulateur.

Klebsiella pneumoniae (*Kp*) est un pathogène à fort potentiel épidémique fréquemment impliqué dans des infections sévères.

De nombreuses épidémies nosocomiales causées par cette bactérie ont été décrites, notamment chez des patients hospitalisés dans des unités de soins intensifs adultes ou pédiatriques [3, 4].

Ces vingt dernières années, *Klebsiella pneumoniae* a démontré ses particularités d'acquisition de plasmide exprimant des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) dont la dissémination fut amorcée par l'utilisation massive de céphalosporines à large spectre en milieu hospitalier.

La biosynthèse de BLSE chez *Kp* restreint considérablement l'arsenal thérapeutique disponible dans le traitement de ces infections sévères. De plus,

des gènes de résistance à d'autres antibiotiques leurs sont souvent associés (aminosides, fluoroquinolones) [5, 6].

Objectif du travail :

L'objectif principal de notre travail est de déterminer l'effet des repiquages successifs sur le comportement d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* BLSE de point de vue morphologique, biochimiques et sensibilité aux antibiotiques.

*II. GENERALITES SUR
KLEBSIELLA
PNEUMONIAE*

II.1 Caractères bactériologiques :

II.1.1 Taxonomie [7]

Règne : Bacteria, Embranchement : Proteobacteria, Classe : Gamma Proteobacteria

Ordre : Enterobacteriales, Famille : Enterobacteriaceae, Genre : Klebsiella

Espèces : Pneumoniae/oxytoca/granulomatis/singaporensis/variicola.

Sous espaces de *Klebsiella pneumoniae* : Pneumoniae/ Ozaenae/ Rhinoscleromatis

Klebsiella pneumoniae subsp.pneumoniae est l'espèce la plus couramment rencontrée en pratique clinique. Cette bactérie fera l'objet de notre travail.

II.1.2 Généralité sur *Klebsiella pneumoniae*

subsp.pneumoniae [8]

Anciennement appelé : pneumo bacille de Friedlander, c'est une entérobactérie, qui fait partie du groupe (KESH : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*), elle pousse sur milieu ordinaire pour les entérobactéries après 24heurs d'incubation à 37°C. [9]

II.1.3 Habitat

Ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des Hommes et des animaux en tant que bactéries commensales.

Elles sont fréquentes dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale.

Elles sont abondantes dans le sol, les eaux et sont des fixateurs de l'azote atmosphérique [10].

II.1.4 Aspect macroscopique [11]

Sur milieu ordinaire pour les entérobactéries après 24heurs d'incubation à 37°C : Colonies volumineuses (3-4mm de diamètre), bombées, brillantes et d'aspect muqueux (Figure 1).

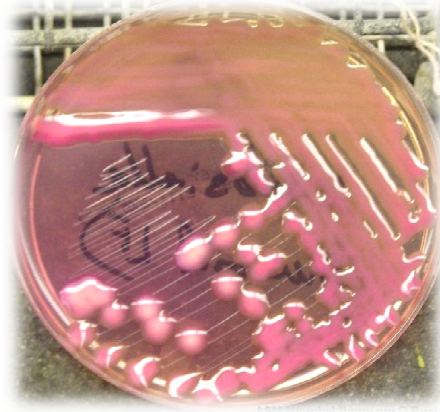


Figure1 : Colonies de *Klebsiella pneumoniae* sur milieu Mac Conkey [12]

II.1.5 Aspect microscopique [13]

A l'examen direct à l'état frais entre lame et lamelle, *Kp* apparait comme un bâtonnet immobile. En revanche, après coloration de gram, *Kp* apparait comme un bacille à gram négatif à extrémités arrondies à bords parallèles, non sporulé, quelque fois capsulé quand la culture est fraîche (Figure 2).

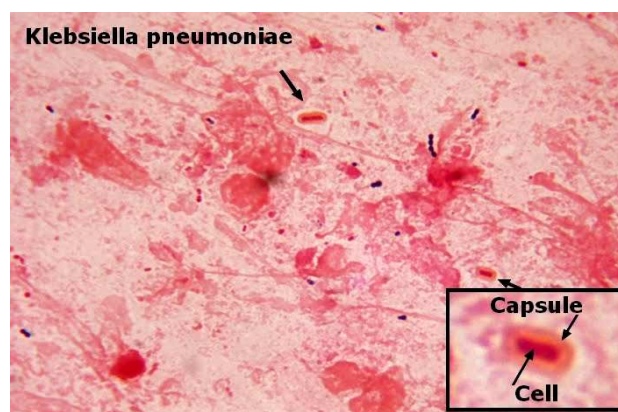


Figure 2 : *Klebsiella Pneumoniae* après coloration de Gram des crachats [14]

polysaccharidique qui explique l'aspect gluant et bombé des colonies sur les milieux usuels. Son rôle est encore mal compris, avec des résultats différents pour les études *in vivo* et *in vitro* [19].

- Sa production de sidérophores.
- Sa production de lipopolysaccharide (LPS).
- Sa production d'un complexe extracellulaire (toxique pour les tissus pulmonaire) cet effet est lié à la capsule, car il disparaît en présence d'isolats de bactéries vivantes mais non capsulées. De plus la cytotoxicité des souches non capsulée est restaurée par simple ajout de capsules extraites par purification d'un isolat capsulé [20].
- Sa production d'adhésine lui permettant de produire des biofilms.

II.3 Sensibilité et résistances chez *Klebsiella pneumoniae* :

Klebsiella pneumoniae est naturellement résistante aux aminopénicillines (amoxicilline, ampicilline) et aux carboxypénicillines (ticarcilline) du fait de la synthèse d'une pénicillinase chromosomique de type SHV-1 (Sulfhydryl variable) inhibée par l'acide clavulanique. En revanche *Kp* sauvage reste sensible aux autres antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (Céphalosporines de 1^{ère} et 3^{ème} génération, et les carbapénèmes) ainsi on parle d'une pénicillinase de bas niveau. *Kp* est aussi sensible aux autres antibiotiques tel que : la colistine, quinolones, aminosides, furanes, et à l'association sulfaméthoxazole-triméthoprime[21, 22]

Parmi les résistances acquises chez *Klebsiella pneumoniae* on retrouve :

II.3.1 Résistances aux inhibiteurs des bêta-lactamases :

Ce sont des bêta-lactamase de classe A de type TRI (Temoneira résistante aux inhibiteurs des bêta-lactamases) insensible à l'acide clavulanique [22-24].

II.3.2 Résistances acquises « pénicillinase de haut niveau » :

Résistances aux aminopenicillines et leurs associations aux inhibiteurs, aux carboxypenicillines, aux ureidopenicillines et aux céphalosporines de 1ère génération. Cette résistance peut s'étendre aux céphalosporines de 2^{ème} génération, en plus d'une diminution de la sensibilité aux associations : ticarcilline-clavulanate et piperacilline-tazobactam[21].

II.3.3 Résistances de type bêta-lactamase plasmidique de classe C :

Chez *Klebsiella pneumoniae*, on connaît un grand nombre de bêta-lactamases plasmidiques de classe C qui dérivent des céphalosporinases chromosomiques. On peut citer FOX-1 et MOX-1 (homologue à AmpC de *P.aeruginosa*), et LAT-1 (L-amino acid transport) et CMY-2 (Cephamicinase gène) (homologues à Amp C de *Citrobacter freundii*) [21, 25]. Ce phénotype touche même les céphamycines [21].

II.3.4 Résistance au céfépime et au cefpirome :

Elle semble liée à la combinaison de deux mécanismes : la production à haut niveau d'une BLSE SHV-5 et la diminution de la perméabilité de la membrane externe [26, 27].

II.3.5 Résistance aux carbapénèmes :

Chez les entérobactéries, cette résistance est due principalement à deux mécanismes impliquant des bêta-lactamases :

Le premier associe la production d'une céphalosporinase (chromosomique ou plasmidique) ou d'une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) à une diminution de la perméabilité membranaire par perte ou altération de porines.

Plusieurs études suggèrent que ces résistances sont réversibles du fait de l'instabilité de la modification des porines [28]. Une modification de ces porines

entraînerait une limitation de croissance bactérienne liée à une moindre utilisation de substrats.

Le second mécanisme est lié à l'expression de bêta- lactamases à forte activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes (les carbapénèmases). Cette activité catalytique est liée à l'existence d'un pont disulfure au niveau du site de liaison des bêta-lactamines [29, 30].

Classification des carbapénèmases selon Ambler : (tableau I)

Elle est basée sur la structure moléculaire de l'enzyme, la séquence des nucléotides et des acides aminés des carbapénèmases [31].

Les enzymes des classes A et D sont dites des enzymes à sérines actives. Leur site actif nécessite le dit acide aminé pour l'hydrolyse des substrats [31], alors que les enzymes du groupe B (métallo bêta-lactamase) nécessitent l'ion zinc sur leur site actif.

Tableau I: classification des carbapénèmases [32]

Type d'enzyme	Classification Ambler	Spectre d'activité	Germe (s)
KPC	A	Toutes les betalactamines	Entérobactéries Pseudomonas aeruginosa
SME	A	Carbapénèmes et aztréonam mais pas C3G	S.marcesens
NMC-A, IMI	A	Carbapénèmes et aztréonam mais pas C3G	Enterobacter spp
GES	A	Imipenème et C3G	P.aeruginosa Entérobactéries
IMP, VIM	B	Toutes les betalactamines sauf aztréonam	Pseudomonas spp, Acinetobacter spp, Entérobactéries
OXA	D	Carbapénèmes (faible activité)	A. baumannii, P. aeruginosa, Entérobactéries (rare)

KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapénèmase, **SME** : *Serratia marcescens* enzyme, **NMC-A** : non métallos carbapénèmase de classe A, **IMI**, **IMP** : imipénèmase, **GES** : Guyana extendedSpectrum, **OXA** : oxacillinase, **VIM** : Verona Imipénèmase, **C3G** : céphalosporine de 3^{ème} génération.

II.3.6 Résistances aux aminosides :

Ce type de résistance est liée à certains déterminants enzymatiques de type aminoside-6'-N-acétyltransférase reliés aux gènes CTX-M [33]. On distingue les phénotypes suivants :

- Phénotype sauvage : sensible à toutes les molécules appartenant à la famille des aminosides.
- Phénotype I ou G : résistance à la gentamicine.
- Phénotype II ou KTG : résistance à la kanamycine (K), tobramycine (T), et à la gentamicine (G).
- Phénotype III ou KTG^{Nt} : résistance à la kanamycine (K), tobramycine (T), la gentamicine (G) et à la nétilmicine (N) et sensible à l'amikacine.
- Phénotype IV ou KTGAN^t : résistance à tous les aminosides utilisées. [34, 35].

II.3.7 Résistances aux quinolones et aux fluoroquinolones :

Les mécanismes de résistance sont soit de type chromosomique dus essentiellement à la modification des topoisomérases de type II, ou de type plasmidique par protection de la cible Qnr (quinolones résistance), ou par modification de la cible aminoside-6'-N-acétyltransférase-Ib-cr, ou alors par efflux actifs QepA (quinolone efflux pump) [36, 37].

II.3.8 Résistance de type bêta-lactamase de classe A à spectre étendu (BLSE) :

II.3.8.1 Définition :

Les bêta-lactamases à spectre étendu ou BLSE sont des enzymes qui hydrolysent aussi bien les pénicillines que les oxyminocéphalosporines (cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone) et les monobactames (aztréonam).

Contrairement à ce que l'on croyait, Les BLSE ne sont pas l'apanage des entérobactéries car elles sont également produites par des germes tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.

Ce sont des enzymes redoutables, puisqu'elles induisent une résistance à presque toutes les bêta-lactamines. Néanmoins les céphamycines (céfoxitine, céfotetan), les polypeptides (colistine) et les carbapénèmes (imipénème, ertapénème, méropénème) restent actifs.

Cependant, les activités des fluoroquinolones de deuxième génération (ciprofloxacine, norfloxacine), des céphalosporines de quatrième génération (céfépimes, cefpirome), des aminosides (gentamycine, amikacine, tobramycine, nétilmicine) et des associations betalactamines/inhibiteurs de bêta-lactamase sont variables [38, 39]; [40, 41].

La diversité des bêta-lactamases à spectre étendu décrite chez *Klebsiella pneumoniae* est très grande. Des BLSE telles que TEM-24, TEM-26 ont été décrites. De nombreux variant de type SHV (sulfhydryl variable) sont également connus (SHV-4, SHV-5, SHV-6 ou SHV-8). Plus récemment, la BLSE TEM-52 a été caractérisée : elle présente une activité inhabituelle vis-à-vis du monobactame, ainsi qu'une synergie entre cet antibiotique et le clavulanate [24, 42] ; [43, 44].des nouvelles BLSE non dérivées des pénicillinases TEM et SHV ont émergé : des céfotaximases de type CTX-M, des ceftazidimases de types GES

(Guyana extended-Spectrum bêta-lactamase) et des VEB (Vietnam extended-Spectrum bêta-lactamase) pour ne citer que les plus fréquentes[36, 37]

II.3.8.2 Classification :

Parmi les β -lactamases, on distingue 4 classes selon le schéma d'Ambler :

Les enzymes de classe A, C et D sont dites à sérine active tandis que celles de la classe B sont appelées métallo- β -lactamases (carbapénèmases) [45]. A l'exception des BLSE de type OXA (classe D), les BLSE sont des β -lactamases de classe A (comme TEM1/2 et SHV-1), et selon la classification de Bush-Jacoby- Medeiros, les BLSE font aussi partie du groupe 2be (tableau 2).

Tableau II : classification des BLSE au sein des bêta-lactamase [46].

Classification des BLSE au sein des bêta-lactamase									
classification		enzyme	activité enzymatique préférentielle						activité inhibitrice
Ambler	Brush		pénicilline	C1G	C3G	AZT	IMP	Ac.clav	EDTA
A	2be	BLSE	+++	++	++	++	-	+++	-

C1G : céphalosporine de 1^{ère} génération ; **C3G** : céphalosporine de 3^{ème} génération ; **AZT** : aztréonam ; **IMP** : imipénème ; **Ac clav** : acide clavulanique.

La détection des BLSE de classe A est classiquement basée sur l'observation d'une synergie entre l'AMC (amoxicilline acide clavulanique), les céphalosporines de 3^{ème} génération ex : cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), et les monobactames ex: aztréonam (ATM).

Cet effet synergique apparait comme un bouchon de champagne selon la figure4

III. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Type d'étude :

Il s'agit d'une étude prospective réalisée dans le laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V (HMMIV) de Rabat, s'étalant sur une période de trois mois de Décembre 2011 au Mars 2012.

III.1 Matériel :

III.1.1 La souche incluse :

La souche incluse est *Klebsiella pneumoniae* de phénotype bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), isolée à partir d'un prélèvement d'hémoculture, chez une patiente hospitalisée dans le service réanimation médicale, étant diabétique, hypertendue et victime d'une infection nosocomiale.

III.1.2 Les milieux de culture utilisés :

III.1.2.1 Gélose au sang cuit (Figure 5)

C'est une gélose enrichie avec des suppléments polyvitaminiques (S.P.V), Sa couleur brune vient du sang cuit qui entre dans sa composition. Elle est appropriée pour cultiver certaines bactéries capricieuses en termes de facteurs de croissance. En plus des globules rouges cuits qui libèrent des substances nutritives, elle renferme souvent quelques additifs exigés par certaines bactéries. On y ajoute aussi des antibiotiques destinés à inhiber la croissance de certains organismes, afin de mieux sélectionner les colonies désirées. Cette gélose est utilisée entre autres pour cultiver *Neisseria gonorrhoeae* et *Haemophilus*[47].

Dans notre cas la gélose utilisée est dépourvue d'antibiotiques, son usage a pour but d'isoler notre bactérie « *Klebsiella pneumoniae* » à partir d'une gélose au sang cuit utilisée pour ensemercer l'hémoculture positive précédemment citée.

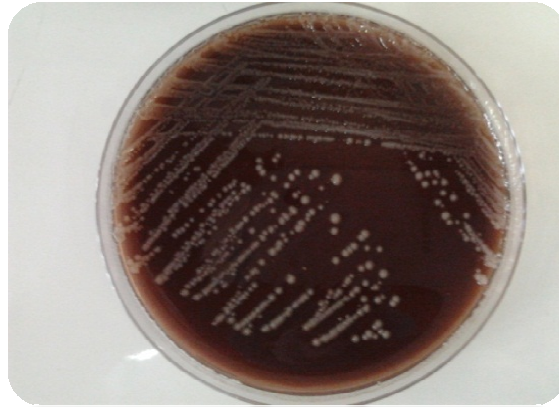


Figure 5 : photo de la gélose au sang cuit avec des colonies de *Klebsiella pneumoniae* initiale réalisée au laboratoire de Microbiologie de L'HMIMV-Rabat-2012 / *TORRES Chaimae*

II.1.2.2 Milieu BCP-Lactose (Figure 6)

C'est une gélose lactosée au bromocrésol-pourpre, utilisée pour l'isolement des entérobactéries ; cependant de nombreuses espèces bactériennes n'appartenant pas à cette famille, peuvent cultiver sur ce milieu non inhibiteur. Il permet de différencier les espèces fermentant le lactose de celles qui ne le fermentant pas.[48]

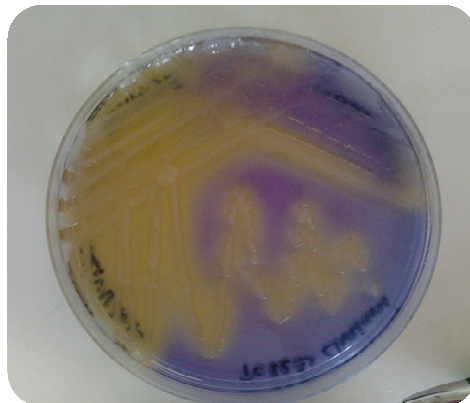


Figure 6 : Photo de la gélose BCP avec des colonies de *Klebsiella pneumoniae* réalisée au laboratoire de Microbiologie de LMIMV-Rabat-2012/ *TORRES Chaimae*.

III.1.2.3 Milieu MUELLER-HINTON (Figure7)

La gélose de MUELLER-HINTON (M.H) est un milieu solide utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme, elle constitue également un excellent milieu de base pour la préparation d'une gélose au sang.[49]

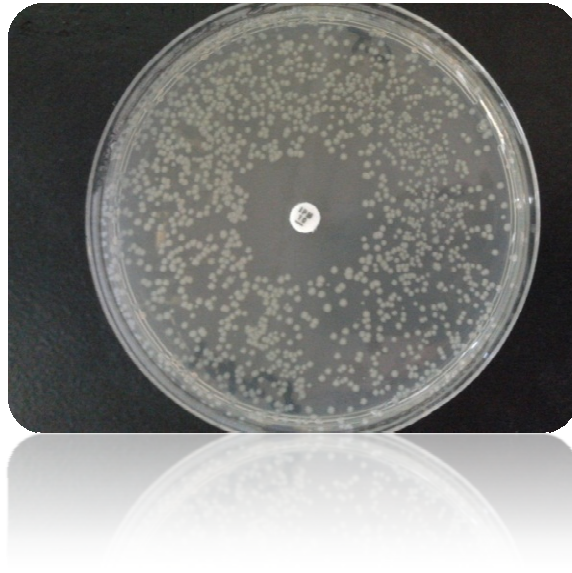


Figure7 : Photo de la gélose Mueller-Hinton avec des colonies de *Klebsiella pneumoniae* et un disque d'imipénème réalisée au laboratoire de bactériologie de L'HMIMV-Rabat-2012 /
TORRES Chaimae

III.1.2.4 Milieux pour la galerie classique :

III.1.2.4.1 Citrate de sodium (CITRATE DE SIMMONS)

(Figure8)

Le milieu minéral minimum au citrate de sodium (milieu Simmons) est utilisé pour l'identification des bacilles à Gram négatifs.

Il permet la recherche de l'utilisation du citrate de sodium comme seule source de carbone et d'énergie par les bactéries.

Lecture :

- Les bactéries « citrate positives » bleussent ce milieu en donnant une culture souvent abondante.
- Les bactéries « citrate négatives » ne donnent ni culture, ni bleuissement du milieu, même après plusieurs jours d'incubation [50, 51].



Figure8 : milieu citrate de Simmons avec des bactéries citrate négatives (1) et citrate positives (2) [52]

III.1.2.4.2 Milieu MANNITOL-MOBILITE

NITRATE(Figure9)

C'est un milieu semi-solide permettant de fournir quatre réponses :

- 1- La fermentation ou non du mannitol
- 2- La mobilité ou non des bacilles
- 3- Le type respiratoire
- 4- La présence ou non d'une nitrate-réductase.

Lecture :

- Pour la fermentation du mannitol: le milieu vire au jaune. Dans le cas contraire il garde sa couleur initiale.

- Pour la mobilité : Les bacilles mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, en créant un trouble du milieu. Les bacilles immobiles cultivent uniquement le long de la strie d'ensemencement.
- En ajoutant, à la surface du milieu, les réactifs de GRIESS* (acide sulfanilique et alpha-naphtylamine), il est possible de mettre en évidence le nitrite, si la bactérie possède une nitrate-réductase.[53]



Figure 9 : milieu MANNITOL-MOBILITE-NITRATE [54]

III.1.2.4.3 Milieu Lactose-Glucose-H₂S (KLIGLER-HAJNA) (Figure10)

Ce milieu donne quatre réponses en 24 heures maximum :

- 1- Fermentation de lactose.
- 2- Fermentation de glucose.
- 3- La production de H₂S (Thiosulfate de sodium)
- 4- La production de gaz

Lecture :

- La fermentation de lactose : se manifeste par le jaunissement de la surface inclinée.

- La fermentation de glucose : Se traduit par le jaunissement du culot.
- S'il y a production de gaz, il est possible d'observer, soit quelques bulles, soit une poche gazeuse qui décolle complètement le milieu du fond du tube.
- La production de H₂S se traduit par un noircissement du milieu dans la zone joignant le culot à la pente. Certaines bactéries comme *Salmonelle typhi* produisent très peu d'H₂S ce qui se traduit par un noircissement localisé au niveau de la piqure [55]



Figure 10 : milieu Lactose-Glucose-H₂S (KLIGLER-HAJNA)[56]

III.1.2.4.4 Milieu CLARK ET LUBS (Figure 11)

Ce milieu sert à l'étude de deux réactions :

- Réaction de rouge de méthyle (RM) ;
- Réaction de Voges-Proskauer (VP) ;
- > La réaction de VP positive traduit la production par certaines bactéries de l'acétyl-méthyle carbinol (=acétoïne) dans le milieu. Ce composé est un produit de dégradation de l'acide pyruvique, il se manifeste en pratique par l'apparition d'une couleur rose foncée.
- > La réaction au RM permet de mettre en évidence le degré d'acidité du milieu

Si le milieu prend :

- Une teinte rouge ($\text{PH} < 4.2$) : réaction (RM+)
- Une teinte jaune ($\text{PH} > 6.3$) : réaction négative (RM-). [57]



Figure 11 : milieu Clark et Lubs [58].

III.1.2.4.5 L.D.C (lysine-décarboxylase selon Taylor)

(Figure12)

Le milieu à la lysine de Taylor est un milieu semi-liquide utilisé pour la recherche de la lysine décarboxylase.

- Si la lysine a été décarboxylée, le milieu est bleu-violet.
- Dans le cas contraire, il est jaune.

En cas de coloration jaune bleuté, poursuivre l'incubation pendant 24 heures supplémentaires.[59]



Figure 12 Photo du milieu LDC réalisée au laboratoire de Microbiologie de l'HMIMV-Rabat-2012 /*TORRES Chaimae*

III.1.2.4.6 Milieu VIANDE-FOIE (V.F) (Figure 13)

C'est un milieu semi-solide, gélosé à 6‰ est utilisé pour la recherche du mode respiratoire des bactéries, ainsi que pour l'isolement en profondeur des anaérobies.

Lecture : (recherche du mode respiratoire) :

Après incubation nécessaire au développement bactérien, il est possible de reconnaître 4 types principaux de mode respiratoire :

- Aérobie stricts, qui cultivent uniquement dans la zone superficielle ;
- Anaérobies stricts, qui cultivent uniquement en profondeur ;
- Aérobie-anaérobies facultatives, qui se développent sur toute la hauteur du milieu ;
- Micro-aérophiles, qui forment un anneau dans la zone intermédiaire aérobie-anaérobie.[60]

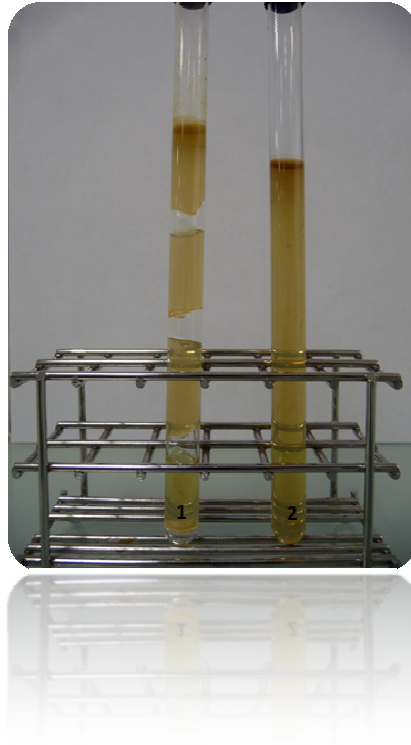


Figure 13 : milieu viande foie avec des bactéries productrice (1) et non (2) de gaz [61]

III.1.2.4.7 Milieu UREE-INDOLE

C'est un milieu liquide utilisé pour la recherche de :

- > L'Uréase
- > La production d'indole
- > La tryptophane-désaminase (TDA) [62]

III.1.3 Autres matériels :

▪ **Galerie API 20 E : (Figure 14)**

C'est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

La galerie API (Appareillage et Procédés d'Identification) 20 E (E=Entérobactéries) comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification. [63, 64]

La galerie API 20 E permet la recherche de :

- la bêta-décarboxylase (ONPG).
- l'arginine désaminase (ADH), de la lysine décarboxylase (LDC) et de l'ornithine décarboxylase (ODC)
- l'utilisation de citrate comme seule source de carbone (CIT)
- la présence d'une uréase (urée)
- Le tryptophane désaminase (TDA).
- Le tryptophanase dont le produit est l'indole (IND)
- la production d'acétoïne par la réaction de Voges-Proskauer (VP).
- la gélatinase (GEL)

- la fermentation des sucres : Glucose (GLU), Mannitol (MAN), Inositol (INO), Sorbitol (SOR), Rhamnose (RHA), Saccharose (SAC), Melibiose (MEL), amygdaline (AMY), arabinose (ARA)



Figure 14 : Galerie API 20 E. Laboratoire de bactériologie de L'HMIMV-Rabat-2012 /TORRES Chaimae

Bec benzène (Figure 15)



Figure 15 : Bec bunsen[65]

Pipettes pasteur (Figure 16)

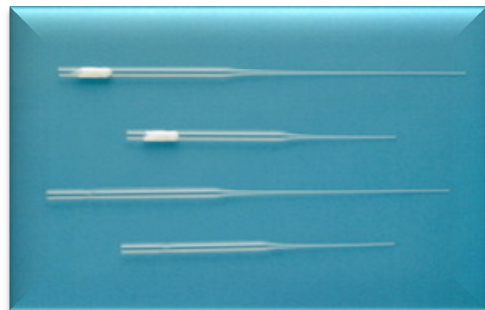


Figure 16 : Pipette pasteur [66]

Poire (Figure 17)

Boites de pétri (Figure 18)



Figure 17 : poire en caoutchouc [67])

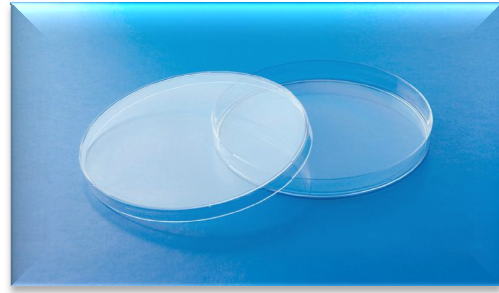


Figure 18: Une boîte de pétri [68]

Anse (Figure 19)



Figure 19 : une anse en platine[69]

Lame (Figure 20)



Figure 20: lames en verre [70]

Microscope optique (Figure 21)



Figure 21 : microscope optique [71]

Portoir pour tubes(Figure 22)



Figure 22 : portoir des tubes de la galerie classique.Laboratoire de microbiologie de l'HIMV -Rabat-2012/*Torres chaimae*

Tube d'eau stérile (Figure 23)



Figure 23 : tubes d'eau stériles [72]

Tube à hémolyse (Figure 24)



Figure 24: tubes à hémolyses [73]

Etuve 37°C (Figure 25)



Figure 25 : étuve d'incubation [74]

Réfrigérateur (Figure 26)



Figure 26 : réfrigérateur utilisé en bactériologie [75]

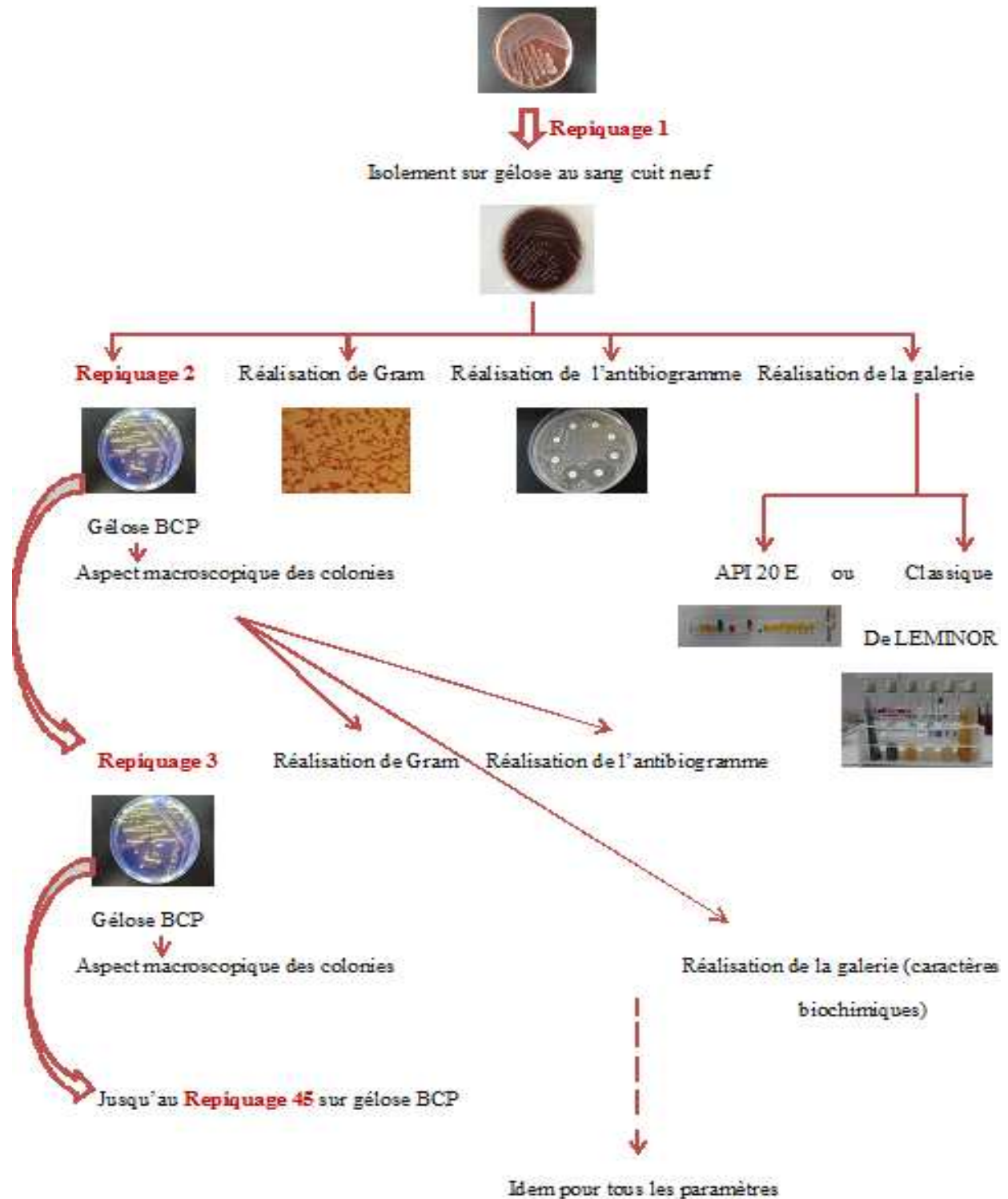
Bain marie (Figure 27)



Figure 27 : bain marie utilisé en bactériologie [76]

III.2 Méthode:

A partir d'une colonie déjà identifiée de *Klebsiella pneumoniae* BLSE poussée sur gélose au sang cuit



III.2.1 Préparation des milieux de cultures :

- BCP et Muller Hinton :

Après avoir pesé correctement une quantité de poudre lyophilisée correspondant au volume désiré. La préparation, la stérilisation et la distribution des milieux de culture dans les boîtes de pétri a été réalisée automatiquement à l'aide de l'appareil de distribution des milieux.

- Milieu de la galerie classique de LEMINOR :

Les poudres lyophilisées pesées convenablement et dissoutes dans de l'eau distillée sont réparties manuellement dans des tubes à essais qui ensuite sont stérilisés à l'autoclave, et refroidies en fonction de leurs caractéristiques (par exemple le Kligler-Hajna doit être incliné de manière à avoir le culot et la pente alors que le Citrate de Simmons est incliné afin d'avoir uniquement la pente)

NB : La stérilité des milieux de culture avec lesquels nous avons travaillé a été contrôlée quotidiennement par incubation d'une nuit à 37°C.

III.2.2 Repiquage :

Le repiquage est l'action de **prélever** une petite partie d'une colonie, puis de la transplanter sur un milieu neuf où elle continue à croître.

Dans notre travail nous avons réalisé plusieurs repiquages :

- Le premier a été fait à partir d'une colonie déjà identifiée, poussée sur gélose au sang cuit et transplantée sur un milieu neuf de gélose au sang cuit. afin de bien isoler notre bactérie « *Klebsiella pneumoniae* ».
- Le deuxième repiquage a été réalisé à partir d'une colonie sur la gélose au sang cuit et transplantée sur un milieu neuf de bromocrésol pourpre (BCP) qui constitue un milieu ordinaire permettant la croissance de *Kp*.

- Le troisième repiquage a été réalisé à partir d'une colonie sur la gélose BCP et transplantée sur un milieu neuf BCP.
- Les autres repiquages jusqu'au 45^{ème} ont été fait de la même manière c'est-à-dire d'une colonie sur BCP à un autre milieu neuf BCP.

NB : Le milieu BCP utilisé durant les 45 repiquages avait la même composition.

III.2.3 Ensemencement

L'ensemencement consiste en le **dépôt** dans un milieu neuf des germes prélevés à partir d'un milieu de culture mère. Il est en général effectué avec une anse en platine ou une pipette Pasteur. Que ça soit l'anse ou la pipette pasteur le passage préalable dans la flamme est obligatoire pour éviter toute contamination de notre souche « *Kp* ».

La méthode d'ensemencement utilisée est la méthode en quadrant selon la Figure 28

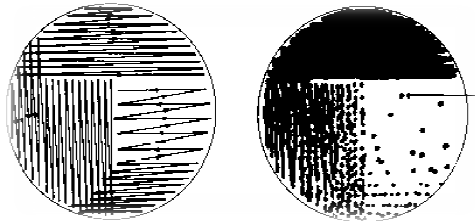


Figure 28: méthode d'ensemencement en quadrant[77]

L'aspect obtenu après incubation est représenté par la Figure 29



Figure 29 : Ensemencement en quadrant d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* sur gélose au sang cuit. Laboratoire de bactériologie de L'HMIMV-Rabat-2012/TORRES Chaimae

III.2.4 Incubation :

En bactériologie l'incubation est le séjour d'une culture bactérienne dans un lieu à température déterminée et pendant un temps donné, afin de conférer aux bactéries les conditions favorables leur permettant de croître.

Durant notre travail, les bactériesensemencées sur gélose au sang cuit ont été incubé dans une étuve alimentée de CO₂ à 37°C pendant 18 heures. Cependant les bactériesensemencées sur milieu BCP ainsi que les galeries API 20 E et la Galeries classique (de LEMINOR) ont été incubées dans un étuve de 37°C pendant 18 à 24 heures et parfois jusqu'à 48 heures.

III.2.5 Identification :

L'identification des bactéries se fait suivant une clé dichotomique qui va des caractères les plus vastes aux plus pointus, pour aboutir à une espèce bactérienne donnée.

III.2.5.1 Aspect macroscopique (colonies)

Après incubation le premier critère d'identification sur lequel on se base est celui de l'aspect macroscopique des colonies vu à l'œil nu, que ça soit la taille, la forme du relief (bombée, semi-bombée, plate), la couleur, l'odeur, la transparence (opaque, translucide), l'allure des contours (réguliers, dentelés), la pigmentation et l'aspect de la surface (lisse ou rugueuse)

III.2.5.2 Aspect microscopique (gram)

Sur une lame porte-objet, on étale une goutte de l'inoculum de *Kp*. La lame est ensuite séchée à l'air puis à la chaleur.

Sur le frottis fixé, on applique la coloration de gram (violet de gentiane, alcool + acétone, et fuchsine), la lecture se fait au microscope optique à l'immersion.

III.2.5.3 Caractères biochimiques (galerie API 20 E, galerie classique)

III.2.5.3 .1 Galerie API 20 E :

○ Réalisation :

L'inoculum : la préparation de l'inoculum a été faite selon la Figure 30

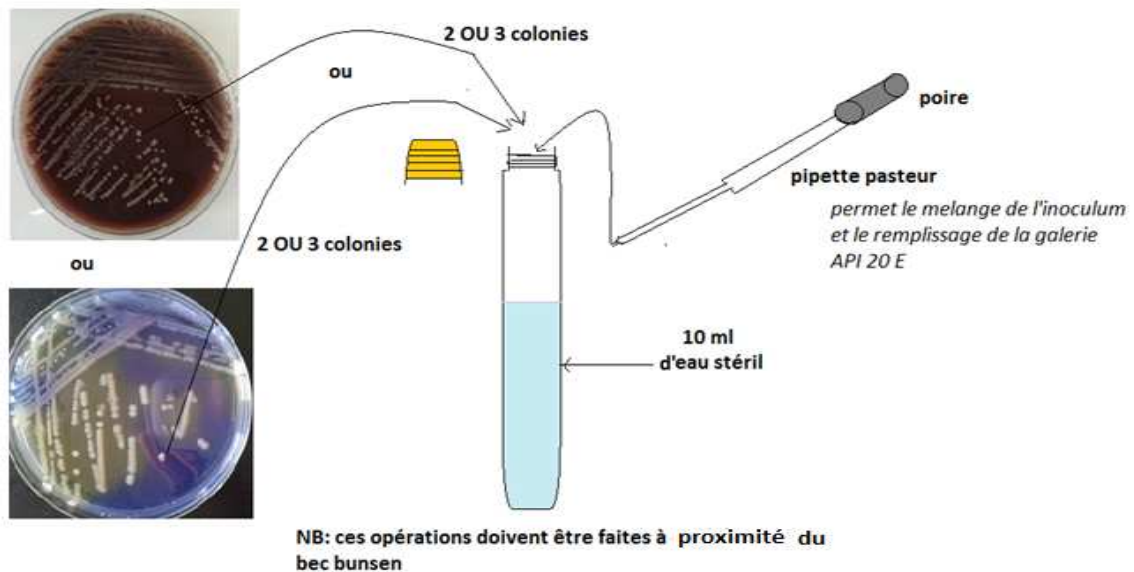


Figure 30: méthode de réalisation de l'inoculum pour le remplissage de la galerie API 20E
- 2012 /TORRES *chaimae*

Deux ou trois colonies ont été prises à partir de la gélose au sang cuit ou la gélose BCP. Puis, elles sont mises dans 10 ml d'eau stérile et mélangées à l'aide de la pipette pasteur menée d'une poire. L'inoculum servira au remplissage des microtubes de la galerie API 20 E.

Le remplissage de la galerie API 20 E :

Les alvéoles du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, dans laquelle notre galerie est déposée, le remplissage des microtubes suit des règles bien précises :

→ Pour les substrats dont le sigle est encadré, la cupule doit être totalement remplie de manière à créer un ménisque.

→ Pour les substrats dont le sigle est souligné, la cupule doit être remplie d'huile de paraffine pour créer l'anaérobiose (absence d'oxygène), et pour maintenir en solution les ions volatils produits par la réaction et ainsi assurer le virage de l'indicateur coloré de pH.























○ **L'incubation :**

La galerie est incubée à une température de 37°C pendant 24 à 48 heures.

○ **La révélation et la lecture :**

Après addition des réactifs nécessaires à la révélation de différents tests, la galerie est lue conformément aux indications du fabricant (Tableau III)

Tableau III : Lecture de la galerie miniaturisée API 20 E

Tableau de lecture de la Galerie miniaturisée API 20 E						
Microtubes	Substrat	caractère recherché	Révéléateur	Lecture	Résultat négatif	Résultat positif
ONPG	ONPG-Ortho Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
<u>ADH</u> <u>LDC</u> <u>ODC</u>	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
<u>CIT I</u>	Citrate	Utilisation du citrate comme seul source de carbone	BBT	Lecture directe		
<u>H₂S</u>	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Fe III	Lecture directe		
<u>URÉ</u>	Urée	Uréase	Rouge de phénol	Lecture directe		
TDA	Tryprophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte		
<u>VP I</u>	Pyruvate de sodium	Production d'acétolène		Lecture indirecte		
GEL	Gélatine	Gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Glucides	Utilisation des substrats carbonés	BBT	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrate (NO ₃ -)	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

III.2.5.3.2 Galerie Classique (de LEMINOR) :

En cas de pénurie en les galeries API 20 E on utilise la galerie de LEMINOR.

Le principe d'ensemencement y diffère en fonction des milieux :

- **Milieu Citrate de Simmons :**

On ensemence ce milieu directement à partir d'une colonie prélevée sur milieu gélosé (BCP), soit en strie longitudinale, soit en spot, soit les deux à la fois.

En aucun cas, on ne doit se servir d'une culture en bouillon ou en eau peptonée, qui apporterait avec les bactéries des éléments nutritifs susceptibles de fausser les résultats.

- **Milieu Mannitol Mobilité Nitrate:**

Ce milieu faiblement gélosé, doit être préalablement régénéré pour chasser l'oxygène. Ce milieu est ensemencé par piqure centrale unique à l'aide d'un fil en platine.

- **Milieu Lactose-Glucose-H₂S (Milieu Kligler-HAJNA) :**

Ce milieu est ensemencé par stries serrées sur la pente suivie d'une piqure centrale au niveau du culot.

- **Milieu CLARK ET LUBS :**

Ce milieu liquide est ensemencé par quelques gouttes de la suspension de *Kp*.

Après incubation, on ajoute 2 à 3 gouttes d'un révélateur VP (solution d'alpha naphthol dans l'alcool à 90° + solution aqueuse de soude 4N), la lecture se fait dans les 15 minutes qui suivent.

- **Milieu LDC (lysine décarboxylase) :**

Ce milieu est préalablement régénéré puis ensemencé au moyen d'un fil de platine par piqure centrale jusqu'au fond du milieu.

○ **Milieu VF (viande foie) :**

Au moment de l'emploi on fait fondre le milieu au bain-marie bouillant et le régénérer pendant 20 minutes. On le laisse refroidir jusqu'à 45°C environ. Puis on plonge l'effilure d'une pipette pasteur fermée et stérilisée par flambage dans une suspension de la bactérie *Kp*, on égoutte l'effilure, puis on transporte l'inoculum dans le fond du tube, en remontant et redescendant en exécutant un mouvement de vrille à plusieurs reprises.

○ **Milieu Urée-Indol :**

On ensemence ce milieu directement à partir des colonies de *Kp* prélevées sur milieu BCP.

Après incubation on révèle par le réactif Kovacs (prêt à l'emploi) pour mettre en évidence la production d'indole, alors que l'Uréase est mise en évidence par changement de coloration du milieu.

III.2.5.4 Antibiogramme

III.2.5.4.1 Définition : Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques connus.

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence des disques d'antibiotiques et à observer leur comportement [78].

III.2.5.4.2 Réalisation :

III.2.5.4.2.1 Inoculum :

Le dôme d'une colonie de *Kp* prélevé sur gélose BCP est dissout dans 5 ml d'eau distillée stérile. À l'aide d'une pipette pasteur surmontée d'une poire, nous avons mélangé notre inoculum pour avoir une suspension homogène.

Ensuite nous avons placé 2 à 3 gouttes de cette suspension à l'aide de la même pipette dans un autre tube contenant 5ml d'eau distillée stérile en formant une deuxième suspension moins chargée en *Kp*.

C'est cette dernière suspension qui nous a servi d'inoculum pour notre antibiogramme.

III.2.5.4.2 Milieu d'ensemencement :

Le milieu utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme est le milieu Muller-Hinton (MH).

III.2.5.4.3 Technique d'ensemencement utilisée:

L'ensemencement du milieu Muller-Hinton a été réalisé par inondation, l'excès de l'inoculum est éliminé. Les boîtes de pétri sont mises en position inclinée pendant 3 à 4 minutes afin d'éliminer tout excès d'inoculum.

III.2.5.4.4 Application des disques :

Les disques d'antibiotiques -contenu dans les cartouches- sont déposés sur les géloses MH préalablement séchées, à l'aide d'une pince flambée et refroidie, tout en respectant la distance de 2 cm entre les disques et 1 cm du bord de la boîte.

III.2.5.4.5 Listes des antibiotiques utilisés :

Les disques d'antibiotiques de la classe des bêta-lactamines :

- **AML 25 µg** :Amoxicilline (aminopenicillines ou penicilline A)
- **TIC 75 µg** :Ticarcilline (carboxypenicillines)
- **AMC 30 µg** :Amoxicilline + Acide clavulanique
- **CAZ 30 µg** :Ceftazidime (Céphalosporine de 3ème génération)
- **CTX 30 µg** :Cefotaxime (Céphalosporine de 3ème génération)
- **FOX 30 µg** :Céfoxitine (Céphalosporine de 2ème génération)

- **FEP 30 µg** :Céfépime (céphalosporine de 4ème génération)
- **KF 30 µg** :Cefalotine
- **ATM 30 µg** :Aztréonam (monobactames)
- **IMP 10 µg** :Imipénème (carbapénèmes)

Autres disques d'antibiotiques :

- **AK 30 µg** :Amikacine (Aminosides)
- **CN 15 µg** :Gentamicine (Aminosides)
- **TOB 10 µg** :Tobramycine(Aminosides)
- **FOS 50 µg** :Fosfomycine (acides phosphoniques)
- **CT 50 µg** :Colistine (polypeptidique)
- **SXT 25 µg** :Sulfaméthoxazole + Triméthoprim (sulfamide + diaminopyrimidine)
- **NOR 5 µg** :Norfloxacin (Fluoroquinolones) ;

III.2.5.4.3Incubation :

L'incubation des antibiogrammes se fait à 37°C pendant 18-24 heures

III.2.5.4.4Lecture d'antibiogramme :

Après incubation, autour de chacun des disques on a soit une pousse bactérienne soit une zone d'inhibition. La mesure du diamètre de ces zones nous permet de déterminer le comportement de *Kp* vis-à-vis de cet antibiotique dont on détermine si elle en est sensible, intermédiaire ou résistante en se référant aux valeurs données par le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

III.2.6 Souchage

A l'issue de chaque repiquage la souche est conservée à -20°C pour une éventuelle reprise.



Figure 31: tubes d'ependorff contenant des souches de *Kp* mises dans le milieu Luria Bertani. Laboratoire de bactériologie de l'HMIMV-Rabat-2012 / *TORRES Chaimae*

Les résultats de chaque repiquage sont saisis au fur et à mesure sur un classeur Excel.

IV. RESULTATS

Sur une période de 3 mois, nous avons réalisé plusieurs repiquages sur une souche bactérienne nommée *Klebsiella pneumoniae* (Kp) de phénotype bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), isolée à partir d'un prélèvement d'hémoculture, chez une patiente hospitalisée dans le service de réanimation médicale pour Hypertension artérielle et diabète ayant développée une pneumonie nosocomiale.

Nous avons donc étudié l'effet de ce repiquage sur les paramètres suivants :

- Les caractéristiques macroscopiques de la souche bactérienne :
 - Pureté : consiste à identifier *Kp* sur chaque catégorie de colonies.
 - Viabilité : c'est la capacité d'une bactérie à croître et former une colonie visible sur gélose nutritif, à l'exception des souches viables non cultivables.
 - Pigmentation : correspond à la teinte que prend la colonie.
 - Aspect des colonies : taille, surface, forme du relief, et allure de leurs contours.
- les caractéristiques microscopiques après coloration de gram.
- Les paramètres biochimiques :
 - Par la galerie API 20 E : ONPG, ADH, LDC, ODC, CIT, H₂S, Urée, TDA, IND, VP, GEL, fermentation des sucres [GLU, MAN, INO, POR, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA].
 - Par la galerie classique : utilisation du citrate comme seule source de carbone, fermentation de lactose, fermentation de glucose, production d'H₂S, production de gaz, fermentation du mannitol, mobilité, LDC, VP, Urée, indole et type respiratoire.

- Le comportement vis-à-vis de certains antibiotiques : AML, TIC, AMC, CAZ, CTX, FOX, KF, IPM, AK, CN, TOB, FOS, CT, SXT, NOR, FEP et ATM.

IV.1 Les caractéristiques macroscopiques de la souche bactérienne (tableau IV)

IV.1.1 Pureté : la souche *Kp* est restée pure durant les 45 repiquages.

IV.1.2 Viabilité : les colonies de *Kp* ont demeurées viables jusqu'au dernier repiquage.

IV.1.3 Pigmentation :

- A 37°C :
 - De 18 heures à 24 heures d'incubation, les colonies prennent la pigmentation jaune témoignant d'une fermentation du lactose.
 - A partir de 48 heures d'incubation, les colonies deviennent mauves.
- A +4°C après incubation à 37°C : A partir de 18 heures, presque la totalité des colonies prennent la pigmentation mauve.
- A température ambiante après incubation à 37°C:
 - De 18 heures à 48 heures, la majorité des colonies gardent leurs pigmentations jaunes. Quelques-unes deviennent mauves.
 - A partir de 72 heures la totalité des colonies prennent la pigmentation mauve.

Ce changement de pigmentation des colonies, nous a conduit à vérifier la fermentation du lactose par cette bactérie en cherchant ce caractère biochimique à partir des colonies mauves.

Les tests réalisés à cet égard sont :

- Sur milieu Kligler-Hajna : la pente devient jaune.
- Par la galerie API 20 E : L'ONPG est positif.
- Après repiquage de la colonie mauve sur milieu neuf BCP : les colonies reprennent la pigmentation jaune.

IV.1.4 Relief des colonies : les colonies gardent leurs reliefs du départ bombé, jusqu'au dernier repiquage.

IV.1.5 Allure des contours des colonies : jusqu'au 45^{ème} repiquage le contour des colonies reste toujours régulier.

IV.1.6 Aspect de la surface des colonies : l'aspect lisse de la surface des colonies est conservé jusqu'au 45^{ème} repiquage.

IV.1.7 La taille des colonies :

- Du premier au 13^{ème} repiquage les colonies gardent leurs tailles de 3 à 4 mm de diamètre (Figure 32-A).
- A partir du 14^{ème} repiquage les colonies ont commencé progressivement à diminuer de taille (1,5-1mm) (Figure 32-B) jusqu'au 30^{ème} repiquage (Figure 32-C) et 42^{ème} repiquage (Figure 32-E) où nous avons noté la réapparition des colonies ayant la taille initiale (3-4mm). alors que le repiquage 41 (Figure 32-D) et le repiquage 43 jusqu'au dernier, les colonies de *Kp* ont pris à nouveau une taille réduite (1,5-1mm) (Figure 32-F).

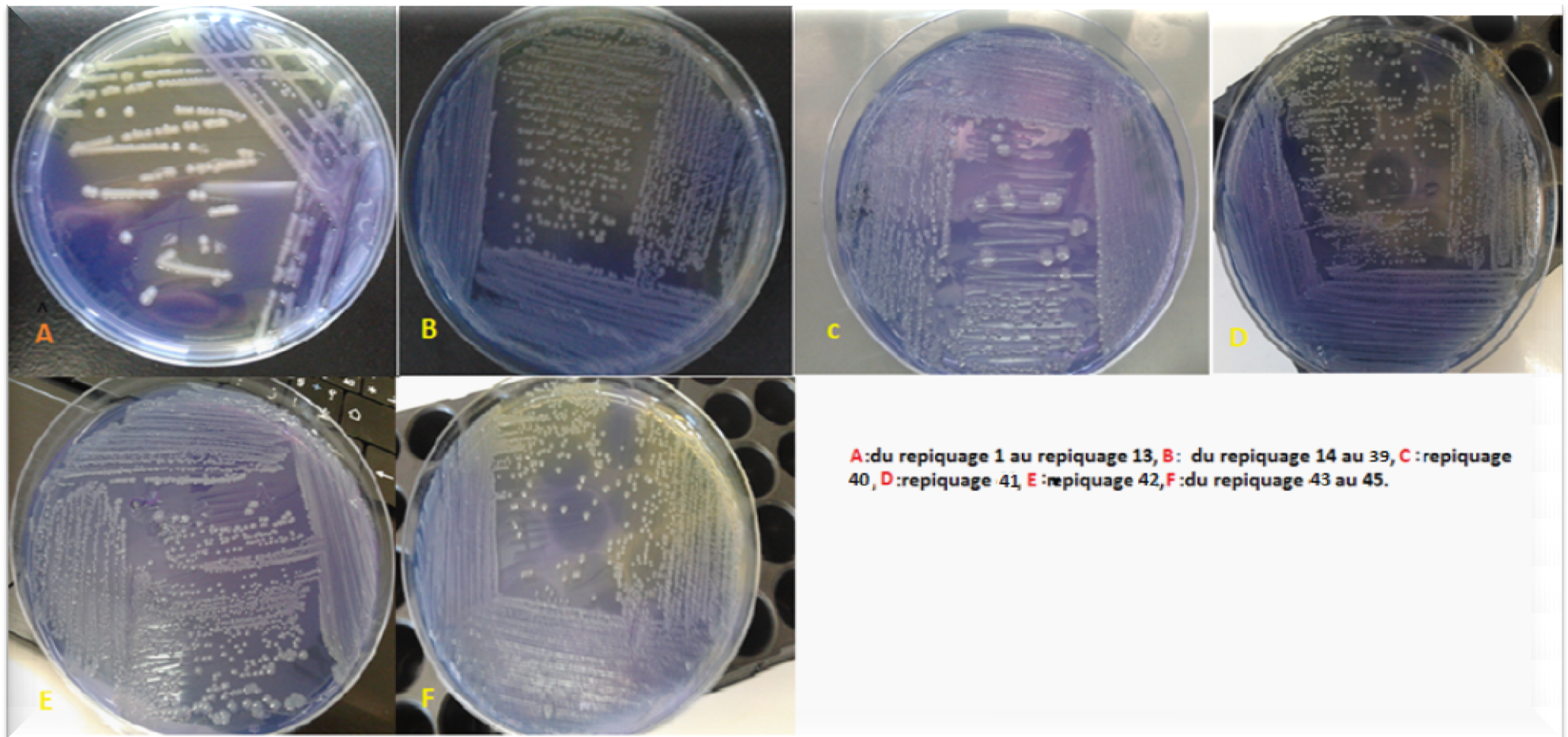


Figure 32: La taille des colonies de *Kp* après repiquages successifs sur milieu BCP réalisé au laboratoire de microbiologie à l'HMIMV Rabat-2012-/TORRES Chaimae.

Tableau IV : Les caractéristiques macroscopiques de *Kp* cultivée sur milieu BCP après incubation à 37°C.

JOURS	Repiquage	viabilité des C	pureté des C	pigmentation des C	forme du relief des C	allure du contour des C	aspect de la surface des C	taille des C
02/01/2012	R 1	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
03/01/2012	R 2	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre
04/01/2012	R 3	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre
05/01/2012	R 4	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre
06/01/2012	R 5	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre
07/01/2012	R 6	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre
08/01/2012	R 7	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre
09/01/2012	R 8	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre
10/01/2012	R 9	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre
11/01/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
12/01/2012	R 10	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre
13/01/2012	R 11	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre
14/01/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
15/01/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
16/01/2012	R 12	viable	pure	mauve	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre
17/01/2012	R 13	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	entre 3-4mm de diamètre

NR: Non réalisé, NL: Non lu, R: Repiquage, mm: millimètre, C : Colonies, *Kp* : *Klebsiella pneumoniae*, BCP : Bromocrésol pourpre

18/01/2012	R 14	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
19/01/2012	R 15	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
20/01/2012	R 16	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
21/01/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
22/01/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
23/01/2012	R 17	viable	pure	mauve	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
24/01/2012	R 18	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
25/01/2012	R 19	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
26/01/2012	R 20	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
27/01/2012	R 21	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
28/01/2012	R 22	viable	pure	jaune	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
29/01/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
30/01/2012	R 23	viable	pure	mauve	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
31/01/2012	R 24	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
01/02/2012	R 25	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
02/02/2012	R 26	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
03/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
04/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
05/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
06/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL

NR: Non réalisé, **NL**: Non lu, **R**: Repiquage, **mm**: millimètre, **C** : Colonies, **Kp** : *Klebsiella pneumoniae*, **BCP** : Bromocrésol pourpre

07/02/2012	R 27	viable	pure	mauve	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
08/02/2012	R 28	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
09/02/2012	R 29	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
10/02/2012	R 30	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
11/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
12/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
13/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
14/02/2012	R 31	viable	pure	mauve	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
15/02/2012	R 32	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
16/02/2012	R 33	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
17/02/2012	R 34	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
18/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
19/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
20/02/2012	R 35	viable	pure	mauve	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
21/02/2012	R 36	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
22/02/2012	R 37	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
23/02/2012	R 38	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
24/02/2012	R 39	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
25/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
26/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
27/02/2012	R 40	viable	pure	mauves	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille initiale + taille réduit des colonies

NR: Non réalisé, NL: Non lu, R: Repiquage, mm: millimètre, C : Colonies, *Kp* : *Klebsiella pneumoniae*, BCP : Bromocrésol pourpre

28/02/2012	R 41	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
29/02/2012	NR	NL	NL	NL	NL	NL	NL	NL
01/03/2012	R 42	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille initiale + taille réduit des colonies
02/03/2012	R 43	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
03/03/2012	NR	NL	NL	NL	bombés	NL	NL	NL
04/03/2012	NR	NL	NL	NL	bombés	NL	NL	NL
05/03/2012	R 44	viable	pure	mauve	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
06/03/2012	NR	NL	NL	NL	bombés	NL	NL	NL
07/03/2012	R 45	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies
08/03/2012	NR	viable	pure	jaunes	bombés	régulier	lisse et muqueuse	taille réduit des colonies

NR: Non réalisé, NL: Non lu, R: Repiquage, mm: millimètre, C : Colonies, *Kp* : *Klebsiella pneumoniae*, BCP : Bromocrésol pourpre.

IV.2 Les caractéristiques microscopiques après coloration de gram :

Kp appartient à la famille des entérobactéries, qui sont des bacilles à gram négatif (BGN).

Après repiquages successifs, l'aspect de gram est comme suit :

- Du repiquage 1 au repiquage 6 : Le Gram est monomorphe (BGN, non sporulés, homogènes et uniformes) (Figure33-A)
- Du repiquage 7 au repiquage 11 : à côté des bâtonnets, *Kp* a pris d'autres formes (coccobacilles à gram négatif et longs BGN prédominants) (Figure33-B)
- Du repiquage 12 jusqu'au repiquage 30 : les trois aspects de *Kp* - précédemment cités- persistent au niveau du gram, avec cette fois ci une diminution du nombre des longs BGN et prédominance des coccobacilles à gram négatif. (Figure33-C)
- Du repiquage 31 au repiquage 41 : Le gram est dominé par les BGN d'allure normale et par les coccobacille à Gram négatifs (Figure33-D)
- Du repiquage 42 au repiquage 45 : En plus de l'aspect précédemment cité (BGN d'allure normale et coccobacille à Gram négatifs) on note l'apparition de Cocci à gram négatif (Figure33-E).

NB : toutes les colonies prises pour la réalisation de gram qu'elles soient grandes ou petites donnent après identification les caractéristiques du *Kp subsp pneumoniae*.

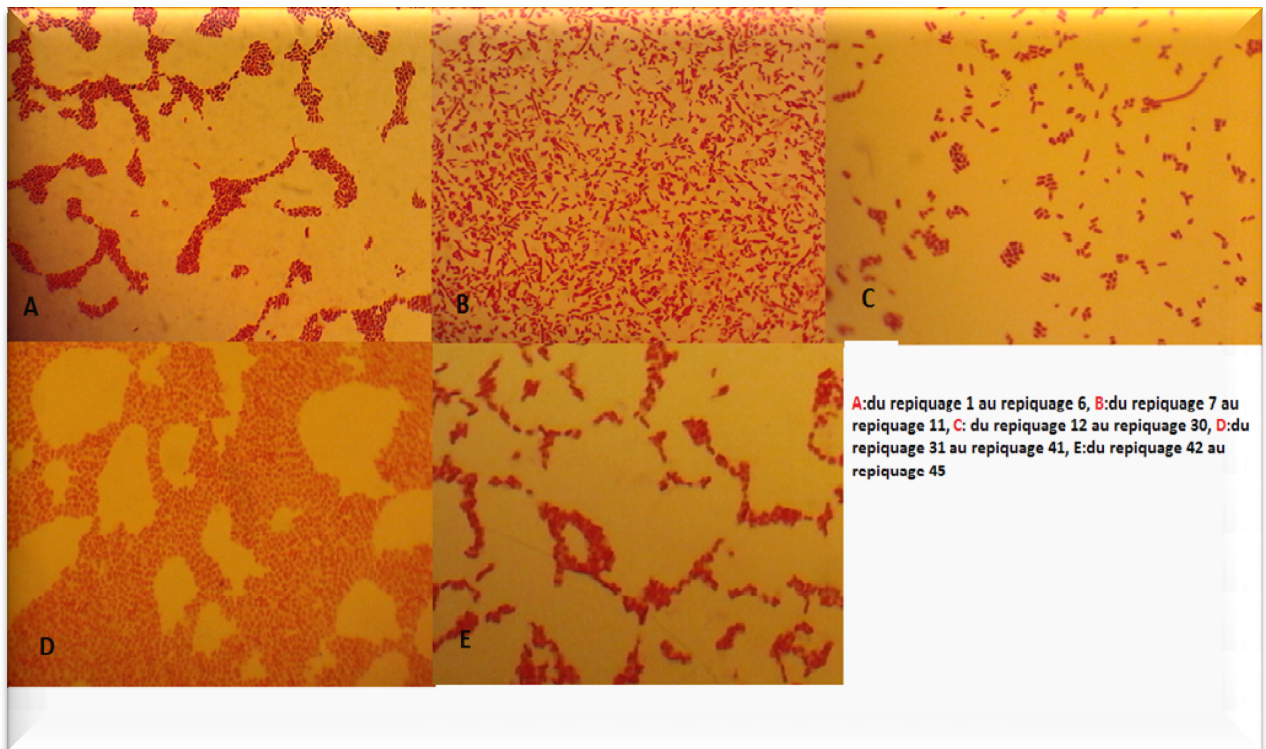


Figure33 : Le gram de *Kp* après repiquages successifs. Laboratoire de microbiologie à l'HMIMV Rabat-2012-/*TORRES Chaimae*.

Un gram réalisé au 17^{ème} repiquage à partir des colonies situées à la périphérie du diamètre d'inhibition de l'Amoxicilline+Acide clavulanique (AMC) nous a montré de très longs BGN entremêlés (Figure 34)

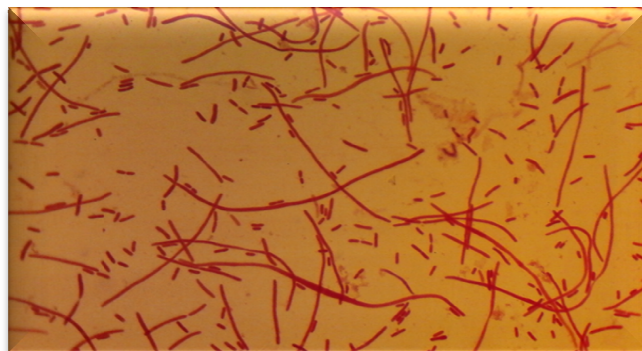


Figure 34 : Le gram de *Kp* BLSE fait à partir d'une colonie blanchâtre située à côté de l'Amoxicilline+Acide clavulanique(AMC). Laboratoire de microbiologie à l'HMIMV – Rabat-2012 / *TORRES Chaimae*

IV.3 Les paramètres biochimiques

IV.3.1 Par la galerie API 20 E (Tableau V)

Du repiquage 1 au repiquage 4 nous avons utilisé la galerie API 20 E où les paramètres biochimiques suivants ce sont avérés en faveur de *Kp* (Figure 35)

- Ortho nitro-phényl- galactoside (ONPG): positive.
- Arginine déshydrolyase (ADH), Lysine décarboxylase (LDC), ornithine décarboxylase (ODC): négatives.
- Citrate (CIT) : positive
- Thiosulfate de sodium (H₂S) : négative.
- Urée: positive.
- Tryptophane désaminase (TDA) : négative.
- Indole (IND) : négatif.
- Réaction de Voges-Proskauer (VP) : positive.
- Gélatinase (GEL): négative.
- Glucose (GLU), Mannitol (MAN), Inositol (INO), Sorbitol (SOR), Rhamnose (RHA), Saccharose (SAC), Melibiose (MEL), amygdaline (AMY), arabinose (ARA) : sont tous fermentés.

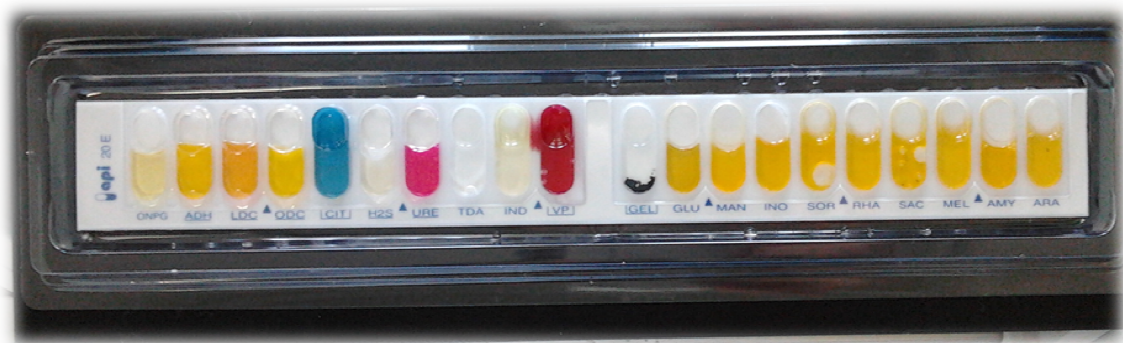


Figure 35: Lecture de la galerie miniaturisée API20 E après incubation à l'étuve 37°C.

Laboratoire de microbiologie à l'HMIMV Rabat-2012- / *TORRES Chaimae*.

Tableau V : Les paramètres biochimiques de *Kp lus* par la galerie micronisée API 20 E après incubation à 37°C

Microtubes	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	UREE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	POR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
R1	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R2	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R3	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R4	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

R : Repiquage, (+) : Réaction positive, (-) : Réaction négative

IV.3.2 Par la galerie classique (de LEMINOR) (Tableau VI)

Du premier jusqu'au dernier repiquage tous les caractères biochimiques de *Kp* n'ont pas changé, que ça soit la fermentation des sucres : glucose, lactose et mannitol. La production de gaz, de la lysine décarboxylase, de l'acétoïne (VP) et de l'Uréase ainsi que la non production d'H₂S et d'indole (Figure 36)

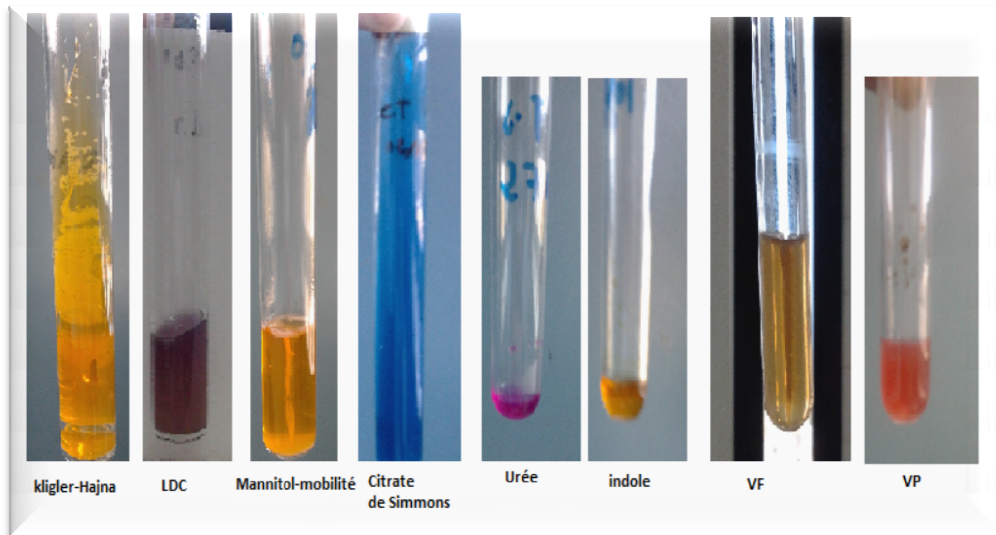


Figure 36 : aspect de la galerie classique de LEMINOR ensemencée par *Kp* après incubation à 37°C, Laboratoire de microbiologie à l'HMIMV Rabat / *TORRES chaimae*

Il en va de même pour le type respiratoire (aéroanaérobiose facultative) et l'immobilité.

En revanche à partir du 35^{ème} repiquage, *Kp* n'utilise plus le citrate de Simmons comme seule source de carbone (Figure37-B)



Figure 37 : milieu citrate de Simmons ensemencé par *Klebsiella pneumoniae*. Laboratoire de microbiologie à l'HMIMV Rabat / *TORRES chaimae*.

Tableau VI : Les paramètres biochimiques de *Kp* lus par la galerie classique après incubation à 37°C

	CIT	KLIGLER HAJNA				MANNITOL MOBILITE		LDC	VP	UREE	Indole	type respiratoire
		Fermentation de L	fermentation de G	production d'H2S	Production de gaz	fermentation du M	MOBILITE					
R 5	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 6	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
R 7	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 8	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
R 9	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 10	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
R 11	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 12	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 13	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 14	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 15	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
R 16	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 17	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 18	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 19	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 20	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 21	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

R : Repiquage, NR : Non Réalisé, L : Lactose, G : Glucose, M : Mannitol, (+) : réaction positive, (-) : réaction négative

R 22	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 23	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 24	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 25	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
R 26	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 27	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 28	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 29	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
R 30	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 31	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 32	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 33	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
R 34	CITRATE POSITIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative

R : Repiquage, **NR** : Non Réalisé, **L** : Lactose, **G** : Glucose, **M** : Mannitol, **(+)** : réaction positive, **(-)** : réaction négative

R 35	CITRATE NEGATIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 36	CITRATE NEGATIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 37	CITRATE NEGATIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 38	CITRATE NEGATIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
R 39	CITRATE NEGATIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 40	CITRATE NEGATIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
R 41	CITRATE NEGATIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 42	CITRATE NEGATIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
R 43	CITRATE NEGATIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
R 44	CITRATE NEGATIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative
R 45	CITRATE NEGATIVE	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	immobile	+	+	+	-	aero-anaerobie facultative

R : Repiquage, **NR** : Non Réalisé, **L** : Lactose, **G** : Glucose, **M** : Mannitol, **(+)** : réaction positive, **(-)** : réaction négative

IV.4 Le comportement vis-à-vis de certains antibiotiques (Tableau VII)

Kp BLSE avec laquelle nous avons travaillé avait le phénotype suivant :

- Une résistance à : AML, TIC, AMC, CAZ, CTX, FEP, ATM, KF, CN, TOB, SXT, NOR.
- Une sensibilité à : IPM, AK, FOS, CT, FOX

Durant les 45 repiquages *Kp* a conservé son comportement vis-à-vis les antibiotiques auxquelles elle a été résistante, ainsi que la sensibilité à la CT, la FOS et le FOX.

En revanche son comportement est devenu instable à partir du 3^{ème} repiquage vis-à-vis l'IPM (entre intermédiaire et sensible) et l'AK (entre intermédiaire, sensible et résistant).

L'aspect de synergie entre AMC, CAZ, CTX, ATM, et FEP a été conservé durant les 45 repiquages.

Tableau VII : Le comportement de *Kp* vis-à-vis certains antibiotiques.

	AML	TIC	AMC	CAZ	CTX	FOX	KF	IPM	AK	CN	TOB	FOS	CT	SXT	NOR	FEP	ATM
Rep1	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep2	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep3	R	R	R	R	R	S	R	I	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep4	R	R	R	R	R	S	R	I	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep5	R	R	R	R	R	S	R	I	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep6	R	R	R	R	R	S	R	S	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep7	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep8	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep9	PR	PR	PR	PR	PR	PR	PR	PR	PR	PR	PR	PR	PR	PR	PR	PR	PR
Rep10	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep11	R	R	R	R	R	S	R	S	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep12	R	R	R	R	R	S	R	S	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep13	R	R	R	R	R	S	R	S	I	R	R	S	S	R	R	R	R

Rep14	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep15	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep16	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep17	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep18	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep19	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep20	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep21	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep22	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep23	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep24	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep25	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep26	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep27	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep28	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep29	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep30	R	R	R	R	R	S	R	S	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep31	R	R	R	R	R	S	R	S	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep32	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep33	R	R	R	R	R	S	R	I	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep34	R	R	R	R	R	S	R	I	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep35	R	R	R	R	R	S	R	I	R	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep36	R	R	R	R	R	S	R	I	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep37	R	R	R	R	R	S	R	I	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep38	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep39	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep40	R	R	R	R	R	S	R	S	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep41	R	R	R	R	R	S	R	I	R	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep42	R	R	R	R	R	S	R	I	R	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep43	R	R	R	R	R	S	R	S	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep44	R	R	R	R	R	S	R	S	I	R	R	S	S	R	R	R	R
Rep45	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R

Rep : Repiquage, R : Résistant, S : Sensible, I : Intermédiaire, PR : Pas de résultat sur l'antibiogramme

V. DISCUSSION

Après des repiquages successifs d'une souche de *Klebsiella Pneumoniae* (*Kp*) *subsp pneumoniae* BLSE, nous avons noté à chaque repiquage : les caractéristiques macroscopiques de la souche bactérienne (pureté, viabilité, pigmentation, aspect des colonies [relief, allure des contours, surface et taille]), les caractéristiques microscopiques après coloration de gram, les paramètres biochimiques ainsi que le comportement de cette bactérie vis-à-vis certains antibiotiques utilisés usuellement.

Cette étude avait comme objectif de déterminer l'effet de ces repiquages successifs sur le comportement de *Kp* vis-à-vis ces différents paramètres.

Presque la totalité des caractéristiques macroscopiques ont été conservés chez *Kp* durant les repiquages successifs.

Parmi eux la pureté de la souche qui a demeuré constante malgré la non utilisation d'un milieu sélectif, ceci est vraisemblablement lié à notre manière de travailler qui a consisté en la décontamination régulière des surfaces des paillasses avec un désinfectant [79], le lavage des mains avant et après chaque manipulation [80], le contrôle préalable de la stérilité de tous les milieux de cultures en les maintenant 18 heures à 37°C , la réalisation de toutes les manipulations à proximité du bec benzène (diamètre du 20 cm) [81] , et en la stérilisation de l'anse et de la pipette pasteur avant chaque repiquage et après chaque ensemencement [82, 83].

La viabilité de *Kp* a été aussi conservée durant les 45 repiquages réalisés successivement et régulièrement, puisque le délai qui séparait les différents repiquages variait de 1 à 4 jours maximum. De plus, les milieux de cultures utilisés étaient frais, correctement préparés et acclimatés préalablement avant chaque utilisation. Egalement, l'anse et la pipette pasteur étaient refroidies après stérilisation par la flamme du bec benzène.

Kp est une entérobactérie qui fermente le lactose, dont l'ensemencement sur milieu pourpre de bromocrésol (BCP) donne une pigmentation jaune aux colonies liée au virage de l'indicateur de pH après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C.

Cette pigmentation a été conservée durant les 45 repiquages. Ce qui explique que ces derniers n'influencent pas ce paramètre. Par contre nous avons constaté que d'autres facteurs interviennent dans la modification de cette teinte du jaune au mauve, tel que la durée de conservation et la température qu'elle soit +37°C, ambiante ou +4°C.

Si la durée d'incubation à 37°C dépasse les 24 heures, les colonies prennent la pigmentation mauve. On remarque le même résultat pour les colonies qui ont été conservées à +4°C à partir du 18 heures et les colonies conservées à température ambiante à partir de 72 heures.

Ce virage de pigmentation des colonies du jaune au mauve ne signifie pas que la bactérie a perdu sa capacité à fermenter le lactose, puisque nous avons réalisé sur ces colonies mauves des tests à l'ONPG et un ensemencement sur la pente du milieu Kligler-Hajna. Nous avons obtenu un résultat positif, c'est-à-dire que la bactérie fermente encore le lactose et le repiquage de ces colonies sur milieu neuf BCP nous a confirmé ce résultat par la réapparition des colonies jaunes après incubation à 37°C durant 18 heures et au maximum 24 heures.

Ceci est fort probablement lié à l'influence de la température et/ou la durée sur le pH du milieu.

Nous savons qu'une température de 37°C est favorable pour que *Kp* puisse croître et se multiplier, la durée d'incubation de 18 à 24 heures permet à la bactérie de donner des colonies jaunes témoignant d'une fermentation de lactose. Si on prolonge cette durée la bactérie épuise le milieu lactose et

commence à consommer les autres composants du milieu (protides) dont les métabolites sont alcalins, produisant ainsi un virage de la pigmentation des colonies en mauve [84].

A température ambiante, la bactérie n'est pas dans les conditions favorables de multiplication, il y a donc un nombre limité de bactéries qui vont utiliser le lactose restant dans le milieu pour survivre jusqu'à épuisement, puis utiliser les autres composants restants du milieu.

A +4°C, *Kp* se trouve dans des conditions de température qui diminue la fluidité de sa membrane cytoplasmique [85]. Shechter (1997) [86], Lee & Chapman (1987) [87] et Beney & Gervais (2001) [88] ont apporté qu'à une température suffisamment basse, dans des conditions où l'agitation thermique est faible, toutes les chaînes des lipides membranaires ont une conformation trans. On parle d'une conformation ordonnée des chaînes ou l'état gel (conformation β). De même TO (2010)[89] a montré que la fluidité membranaire dépend fortement de la conformation des chaînes. Lorsque les chaînes sont ordonnées, les interactions entre elles sont fortes, les mouvements sont limités et la fluidité est donc faible.

Cette relation entre les basses températures et la fluidité membranaire pourrait être à l'origine de la diminution de l'activité de la β -galactoside perméase membranaire qui permet la pénétration du lactose au travers de la membrane plasmique [90]. Par conséquent *Kp* cherche autres nutriments plus faciles à utiliser pour survivre telles que les protides. Ces propositions restent à vérifier par des recherches plus poussées.

La lecture donc sur milieu BCP doit se faire après incubation à 37°C au maximum 24heures. Toute incubation des boites hors cette durée ou toute lecture retardée des boites conservées à +4°C ou à température ambiante ne doit

pas être prise en considération lors de l'identification des bactéries à partir de ce caractère biochimique car plusieurs facteurs l'influencent.

Bien entendu, le repiquage réalisé sur *Kp* n'a eu aucune influence ni sur le relief des colonies, ni sur l'aspect de leur surface ni sur l'allure de leur contours.

A partir du 14^{ème} repiquage nous avons constaté une réduction de la taille des colonies (1 à 1,5 mm de diamètre). Ceci s'explique par le fait que les repiquages successifs induisent l'affaiblissement de la capacité de division par scissiparité, alors que le milieu utilisé BCP n'avait pas d'influence sur ce changement. La réapparition des colonies de taille initiale (3 à 4 mm de diamètre) au 40^{ème} et 42^{ème} repiquage ne peut être expliquée que par la fusion des petites colonies (1 à 1,5 mm de diamètre), mais cela reste à confirmer par l'utilisation d'un microscope à balayage. [91, 92]

Après coloration de Gram l'aspect de *Kp* vu au microscope optique à l'immersion a été différent d'une série de repiquages à l'autre :

Du premier au sixième repiquage la forme de la bactérie n'a pas été influencée, par contre le changement devient évident à partir du 7^{ème} repiquage (apparition des formes coccobacillaires, Coccoides, et la forme allongée de *Kp*).

Cette détérioration mécanique de la forme ne peut être liée qu'à une agression du peptidoglycane [93].

Le même résultat a été constaté pour des colonies ayant poussé à proximité du disque d'antibiotique « AMC » où l'effet est chimique. La compréhension de cet événement ne peut être apportée que par des méthodes de biologie moléculaire et par observation sous microscope électronique.

Les paramètres biochimiques de *Kp* n'ont pas subi de modifications suite à l'action des repiquages successifs.

En revanche à partir du 36ème repiquage *Kp* n'a pas pu utiliser le citrate de Simmons comme seule source de carbone, elle avait donc probablement subi sous l'effet des repiquages successifs une mutation nutritionnelle que peut acquérir certaines bactéries [94]. L'observation au microscope électronique et l'utilisation des méthodes de biologie moléculaire s'avère donc indispensable pour la compréhension du mécanisme qui en est responsable.

Pourtant les repiquages successifs n'avaient pas d'effet sur le comportement de *Kp* vis-à-vis des antibiotiques. L'instabilité des résultats pour l'AK et l'IPM, n'est probablement due qu'à la qualité des disques utilisés, à la non standardisation de l'inoculum et/ou au non respect de la chaîne de froid.

VI. LIMITES

De nombreux facteurs ont constitué une entrave dans la réalisation de notre travail.

Tout d'abord, la rupture du stock en la galerie API 20 E lors du 4^{ème} repiquage. Ceci nous a conduit à utiliser la galerie classique de LEMINOR. Or cette galerie ne permet pas la mise en évidence de tous les paramètres biochimiques de *Kp*.

De plus, l'absence d'un densitomètre qui servirait à la mesure de la densité de l'inoculum pour l'antibiogramme a fait que l'inoculum n'a pas été standardisé et donc le comportement de *Kp* vis-à-vis certains antibiotiques n'a pas pu être jugé.

Les délais plus aux moins longs (vacances, week-end) séparant certains repiquages avaient influencé certains paramètres.

Enfin le manque de documentation concernant les repiquages de bactérie, de certains matériaux (microscope électronique, microscope à balayage, thermocycleur, twincubateur), de réactif de biologie moléculaire et du temps ont constitué un obstacle devant l'explication de certains comportements de *Kp*.

*VII. PERSPECTIVES
D'AVENIR*

A la lumière des résultats obtenus durant notre travail, plusieurs constatations ouvrent une issue pour d'éventuels recherches, par exemple :

- La possibilité de préparer un vaccin vivant atténué à partir d'une souche de *Kp* BLSE : les repiquages successifs sur milieux hostiles peuvent-ils s'avérer bénéfiques pour protéger les patients hospitalisés, essentiellement dans le service de réanimation.
- Les gaz produits par *Kp* durant ces repiquages peuvent être récupérés et exploités dans différents domaines en utilisant des méthodes de biotechnologie.
- En comprenant les mécanismes avec lesquels les repiquages successifs agissent sur *Kp*, on peut déterminer les points faibles de la bactérie afin de trouver un remède autre que les antibiotiques ; Comme par exemple l'action du repiquage sur la structure et donc sur le peptidoglycane de *Kp* correspond également à l'effet des bêta-lactamines. Le fait donc de trouver une similitude d'abord entre le repiquage in vivo et in vitro ou une manière de l'exploiter s'avère intéressant.
- Par ailleurs le repiquage peut également servir à l'amélioration de la conservation de souches.

VIII. CONCLUSION

Le repiquage en bactériologie permet d'avoir un nombre élevé de bactéries à partir d'une seule souche de départ. La détermination du comportement des bactéries repiquées successivement, dans les mêmes conditions (milieu de culture, durée et température d'incubation), s'avère donc important.

Les 45 repiquages successifs réalisés sur une souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêta-lactamase à spectre étendu, dans des conditions de stérilisation et d'hygiène adéquates, n'ont pas d'influence sur certains paramètres étudiés (pureté, viabilité, aspect des colonies, caractères biochimiques sauf le citrate, et antibiogramme). Contrairement à leurs effets sur autres paramètres (la taille des colonies, la forme de la bactérie vue au microscope optique après coloration de gram et l'utilisation de citrate de Simmons comme seul source de carbone). L'explication nécessite des études plus poussés et du matériel plus performant.

Les constatations faites durant notre travail ne représente qu'une issue pour d'éventuelles recherches. Le temps et les moyens nécessaires à l'explication de certains phénomènes notés ont représenté des facteurs limitant pour notre sujet.

Il serait donc impératif d'effectuer d'autres études pour arriver à l'explication des changements notés suite à l'effet des repiquages successifs.

RESUMES

RESUME

Titre : L'effet du repiquage de *Klebsiella pneumoniae* BLSE sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilités aux antibiotiques

Auteur : Torres Chaimae

Mot clé : Repiquage -*Klebsiella pneumoniae* BLSE –Pureté –Viabilité – Lactose.

Le repiquage consiste en l'ensemencement successif d'une même bactérie sur des milieux de culture semblables. *Klebsiella pneumoniae* BLSE est une entérobactérie impliquée dans des infections sévères. Les 45 repiquages successifs n'ont pas influencé certains paramètres étudiés tel que la pureté, la viabilité, l'aspect des colonies, les caractères biochimiques sauf le citrate, et l'antibiogramme à l'exception de l'Amikacine et l'Imipenème dont l'instabilité est expliquée par la qualité des disques utilisés, la non standardisation de l'inoculum et/ou le non-respect de la chaîne de froid. Contrairement aux autres paramètres tel que : la taille des colonies réduite à partir du 14^{ème} repiquage, expliqué par l'influence de ce dernier sur la capacité de division par scissiparité de *Kp*, une réapparition des colonies de taille initiale au 39^{ème} et 41^{ème} repiquage a été expliquée par la fusion des petites colonies, à confirmer par le microscope à balayage. La forme de la bactérie vue au microscope optique après coloration de gram a subi un changement à partir du 7^{ème} repiquage par apparition des formes coccobacillaires, Coccoides, et allongée suite à une agression mécanique du peptidoglycane. La compréhension de cet événement ne peut être apportée que par des méthodes de biologie moléculaire et par observation sous microscope électronique. La non utilisation de citrate de Simmons comme seul source de carbone par *Kp* à partir du 36^{ème} repiquage a pu être expliquée par une mutation nutritionnelle que peut acquérir certaines bactéries. L'explication de ces changements nécessite des études plus poussées et de matériels plus performants. Le temps et les moyennes nécessaires à l'explication de certains phénomènes notés ont représentés des facteurs limitant pour notre sujet. Les constatations ainsi faites durant notre travail représentent une issue pour d'éventuelles recherches

ملخص

العنوان: تأثير عملية إعادة الزرع لكليسيلا الرئوية بيطا لاكتماز واسعة الطيف على مميزاتها المرفولوجية و البيوكيميائية وكذلك على حساسيتها لبعض المضادات الحيوية.

من طرف: الطريس شيماء

الكلمات الأساسية: إعادة زرع, كليسيلا الرئوية بيطا لاكتماز واسعة الطيف, النقاء, قابلية الحياة, لاكتوز.

تكمّن عملية إعادة زرع بكتيرية معينة في نقل هذه الأخيرة من الوسط الذي توجد فيه إلى وسط آخر مشابه له حيث يتم زرعها. البكتيرية المدروسة هي *كليسيلا الرئوية بيطا لاكتماز واسعة الطيف* التي تعدّ مسؤولة عن العديد من الالتهابات الحادة. انجاز 45 عملية إعادة زرع متتالية لنفس البكتيرية لم يحدث تغيرات ببعض المعايير المدروسة مثل: النقاء, قابلية الحياة, مظهر المستعمرات, خاصيات بيوكيميائية باستثناء السترات و تأثير بعض المضادات الحيوية باستثناء: الأميكاسين و الإمينيم حيث أن عدم استقرارها يعود إما إلى سوء جودة الأقراص المستعملة و أو عدم توحيد اللقاح و أو عدم مراعاة مبدأ سلسلة التبريد. على عكس معايير أخرى مثل حجم المستعمرات الذي انخفض ابتداءً من الزرع الرابع عشر ما يفسر تأثير هذا الأخير على قدرة الانقسام بالانشطار لكليسيلا الرئوية, أما إعادة ظهور مستعمرات ذات حجم أولى في الزرع 39 و 41 فراجع إلى انصهار المستعمرات الصغيرة الحجم ما يستوجب تأكيده بالمجهر الإلكتروني الكاسح. تغير شكل البكتيريا على مستوى المجهر الضوئي بعد تلوين "غرام" ابتداءً من إعادة الزرع السابع تمثل بظهور أشكال جديدة من بينها: مكورات عصائية, مكورات و أشكال أخرى طويلة, هذا التغيير يرجع إلى هدم البيبتيدوغليكان, لتأكيد ذلك يستوجب استخدام وسائل البيولوجيا الجزئية و المجهر الإلكتروني. إضافة إلى هذه التغيرات كليسيلا الرئوية توقفت عن استخدام السترات كمصدر وحيد للكربون عند إعادة الزرع 36, ما فسر بطفرة غذائية يكتسبها بعض البكتيريات. شرح و تفسير كل هذه التغيرات يتطلب دراسات واسعة النطاق و كذا أجهزة أكثر تطوراً. إن ضيق الوقت و عدم التوفر على الوسائل الضرورية شكلت لنا عائق يحول دون إعادة شروح للعديد من الظواهر الملاحظة خلال دراستنا. كل الملاحظات المستخلصة في بحثنا تمثل منبعاً لأبحاث قادمة.

SUMMARY

Title: the effect of subculturing *Klebsiella pneumoniae ESBL* on morphological and biochemical characters and sensitivity to antibiotics.

Author: *Torres Chaimae*

Keywords: subculturing, *Klebsiella pneumoniae ESBL*, purity, viability, lactose.

Subculturing consists of successive seeding of a bacteria culture from medium to medium. *Klebsiella pneumoniae ESBL* Enterobacteriaceae is involved in severe infections. 45 subculturing did not influence certain parameters studied such as purity, viability, the appearance of colonies, biochemical characters except citrate, and antibiotic sensitivity exception of Amikacin and Imipenem, whose instability is explained by the quality of the discs used, the non-standardization of the inoculum and / or not-compliance with the cold chain. Unlike other parameters such as the size of the colonies decreased from the 14th subculture, this is explained by the ability of division by fission of *Kp*, a recurrence of initial size colonies in the 39th and 41st transplanting was explained by the fusion of small colonies to be confirmed by the scanning electron microscope. The shape of the bacteria after Gram stain has a change from the seventh transplanting: coccobacillary forms, coccoid, and filamentous, these are consequence of mechanical aggression peptidoglycan; Understanding this event may be made by methods of molecular biology and by observation under an electron microscope. The not use of Simmons citrate as the sole carbon source by *Kp* from the 36th subculture could be explained by a mutation. The explanation of these changes requires more extensive studies and more efficient equipment. Time and equipment's are necessary to explain certain phenomena, developed more searches essentially about vaccination and find opportunities ofusing *Kp* gas.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **Place N, Veziris, A, Aubry, W, Sougakoff, C, Truffot-Pernot, V, Jarlier.** Des outils moléculaires dans le diagnostic, Le traitement et L'épidémiologie des infections à Mycobactéries *Med Trop* **2004**; 64 : 243-250.
- [2] <http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/repiquage/68391>.
- [3] **Penã C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallare´s R, Linares J, et al.** An outbreak of hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia, including strains producing extended-spectrum b-lactamase. *J Hosp Infect* **2001**; 47:53–9.
- [4] **Bingen EH, Desjardins P, Arlet G, Bourgeois F, Mariani-Kurkdjian P, Lambert- Zechovsky NY, et al.** Molecular epidemiology of plasmid spread among extended broad-spectrum b-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in a pediatric hospital. *J Clin Microbiol* **1993**;31:179–84.
- [5] **A. Carre` r *, P. Nordmann,** *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15 : vers une modification de l'épidémiologie des β -lactamases à spectre étendu *Pathologie Biologie* Volume 59, Issue 6, December **2011**, Pages e133–e135.
- [6] **Ramphal R, Ambrose PG.** Extended-spectrum b-lactamases and clinical outcomes: current data. *Clin Infect Dis* **2006**; 42:164–72.
- [7] **Wolff M, Joly-Guillou.** Gene encoding elongation factor to and F-ATPase beta-submit. *Int.J, Syst.Evol.Microbiol.***2005**; 55: 2013-25
- [8] **P.R. Murray, E.J. Baron, M.A.Pfatter, Tenoven F.C. and R.H. Yolken (Eds)** Enterobacteriaceae: Introduction and identification, *Manual of clinical Microbiology* 7th ed. American Society for Microbiology, Washington DC, **1999**: 442-458.
- [9] **F'auchère JL, Avril JL.** Bactériologie générale et médicale. France: Ed Ellimises, **2002**
- [10] **Bagley ST.** Habitat association of *Klebsiella* species, *Infect Control.* **1985** Feb; 6(2):52-8.

- [11] **Hansen D.S., Aucken H.M., Abiola T. and Podschun R.** Recommended test panel for differentiation of *Klebsiella* species on the basis of a trilateral interlaboratory evaluation of 18 biochemical test. *J. Clin. Microbiol.* **2004**; 42, 36665-3669.
- [12] <http://microbitos.wordpress.com/2010/06/14/morfologia-colonial-bacteriana>
- [13] **LE MINOR L., VERON N.** Bactériologie Médicale Flam Med. Science, Paris, **1989**: 333-318; 773-823 41.
- [14] http://4.bp.blogspot.com/_od5PmBTqqUM/TGIMCI3BLzI/AAAAAAAAAGN8/DzJgdHLVP8o/s1600/Klebsiella%252BCapsule.
- [15] **Méric De Bellefon L, Legrand JC, Codden T, Carlier E, Vanhaeverbeek M.** Septicémie et méningite à *Klebsiella pneumoniae* au départ d'un abcès hépatique chez un patient diabétique. *Rev Med Brux* **2007**;28: 460-3.
- [16] **Lawlor MS, Hsu J, Rick PD, Miller VL,** Identification of *Klebsiella pneumoniae* virulence determinants using an intranasal infection model. *Mol Microbiol* **2005**, 58:1054-1073.
- [17] **Bartlett JG, O'Keefe P, Tally FP, Louie TJ, Gorbach SL.** Bacteriology of hospital-acquired pneumonia. *Arch Intern Med* **1986**; 146:868–71.
- [18] **Hoffman NR, Preston Jr. FS.** Friedlander's pneumonia. A report of 11 cases and appraisal of antibiotic therapy. *Dis Chest* **1968**; 53:481–6.
- [19] **Struve C, Krogfelt KA.** Role of capsule in *Klebsiella pneumoniae* virulence: lack of correlation between in vitro and in vivo studies. *FEMS Microbiol Lett* **2003**, 218:149-154.
- [20] **Victoria Cano et al.** *Klebsiella pneumoniae* triggers a cytotoxic effect on airway epithelial cells; *BMC Microbiology* **2009**, 9:156doi:10.1186/1471-2180-9-156.

- [21] **Richard Bonnet.** Bêta-lactamase et entérobactéries : L'antibiogramme 2ème Edition, ESKA, Paris **2006** ; 142-162.
- [22] **Rodriguez-Villalobos H, Struelens MJ.** Résistance bactérienne par bêta-lactamase à spectre étendu : implication pour le réanimateur. *Reanimations* **2006**; 15:205-13.
- [23] **Chaves J, Coira A, Segura C, Reig R.** Identification and location of the SHV-1 gene in *Klebsiella pneumoniae* strains. *Journal of chemotherapy*.**1995** Nov; pages 49-51.
- [24] **Bermudes H. Jude F. Arpin C. Quentin C. MorandA. Labia R.** Characterization of an inhibitor-resistant tem (irt) beta-lactamase in a novel strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agent and chemotherapy*.**1997** Jan; page 222.
- [25] **Arlet G, Rouveau M, CasinI, Bouvet PJ, Lagrang PH, Philippon A.** Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* strains that produce SHV-4 beta-lactamase and which were isolated in 14 french hospitals. *Journal of clinical Microbiolog*.**1994** Oct; pages 2553-8.
- [26] **Tzouvelekis LS, Tzelepi E, Prinarakis E, Gazouli M, Katrahoura A, Giakkoupi P, Paniara O, Legakis NJ.** Sporadic emergence of *Klebsiella pneumoniae* dtarins resistant to cefepime and cefpirome in greek hospitals. *Journal of clinical Microbiology* **1998** Jan; pages 266-268.
- [27] **Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S, shimokata K, Kato K, Ohta M.** Pcr detection of metallo-beta-lactamase gene (blaimp) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum beta lactams. *Journal of Clinica Microbiology* **1996** Dec; pages 2909-13.
- [28] **Martinez-Martinez L.** Extended-spectrum beta-lactamase and the permeability barrier.*clin Microbiol Infect* **2008**;14:82-9.

- [29] **Queenan AM, Bush K.** Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007; 20:440-58.
- [30] **Poirel L, Pitout JD, Nordmann P.** Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol.* 2007; 2:501-12.
- [31] **Walther-Rasmussen J, Hoiby N.** class A carbapénèmases. *Journal of antimicrobial Chemotherapy* Advance Access published June 26, 2007: 1-13.
- [32] **J.B. Patel et al.** Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Activity, Epidemiology and Laboratory Detection. *Clinical Microbiology Newsletter* 2009 Vol.31 N°8.
- [33] **Vhaeggman S, Lofdahl S, Burman LG.** An allelic variant of the chromosomal gene for class a beta-lactamase K2, specific for *Klebsiella pneumoniae*, is the ancestor of SHV-1. *antimicrobial agents and chemotherapy* 1997 Dec ; pages 2705-2709.
- [34] **Canton R, Coque Tm.** The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9:466-75.
- [35] **Larabi K, Masmoudi A, Abouda H and C. Fendri.** Infections urinaires à bacilles Gram négatif. *Essaydali scientifique* 2003 ; 53 : 26-29.
- [36] **Jehl f, Chomar M, Weber M, Gérard A.** De l'antibiogramme à la prescription Ed. Biomérieux 2ème Edition, 2003 ; 22.
- [37] **Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA.** Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998; 351 (9105) : 797-9.
- [38] **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18 :657-86.
- [39] **Bradford PA.** Extended-Spectrum Beta-lactamases in the 21st Century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiology Rev* 2001; 14:933-51.

- [40] **Soussy C.J.** Quinolones et bactéries à gram negative. IN: P. Courvalin, R. Leclercq and E. Bingen, Editors, L'antibiogramme (2ème édition), ESKA, Paris **2006**.
- [41] **Livermore DM.** Defining an extended-spectrum bêta-lactamase. *Clin Microbiol Infect* **2008**;14:3-10.
- [42] **Chaves J, Coira a, Segura C, Reig R.** Identification and location of the SHV-1 gene in Klebsiella pneumoniae strains. *Journal of chemotherapy* **1995**; pages 49-51.
- [43] **Poyart C, Mugnier P, Quesne G, Berche P, Trieucot P.** A novel extended-spectrum tem-type bêta-lactamase (tem-52) associated with decreased susceptibility to moxalatum in klebsiella pneumoniae. *Antimicrobial Agents and chemotherapy* **1998** Jan; pages 108-113.
- [44] **Soilleux MJ, Mrand AM, Arlet GJ, Scavizzi MR, Labia R.** Survey of Klebsiella pneumoniae producing extended-spectrum beta-lactamases: prevalence of tem-3 and first identification of yem-26 in France. *Antimicrobial Agents and chemotherapy* **1996** Apr; pages 1027.
- [45] **Jacoby GA, Munoz-Price LS.** The new beta-lactamases. *N Engl J Med* **2005**; 352:380-91.
- [46] **GÉRALDINE JACOB.** Émergence des entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamase à spectre élargi *Option Bio*, Lundi 7 juin **2010**, n° 438 pages 18.
- [47] **Washington JA, Baron's.** *Medical Microbiology* (Baron S et al., eds.), Galveston, Univ of Texas Medical Branch, **1996**, 4e éd., relié (ISBN 978-0-9631172-1-2) (LCCN95050499) « Principles of Diagnosis ».
- [48] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, *Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur* 3ème édition page 27.

- [49] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page : 124.
- [50] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page : 47.
- [51] **SIMMONS, J.S.** A culture medium for differentiating organisms of typhoid-colon aerogenes groups and for isolation of certain fungi. J. Infect. Dis., 1926, 39 : 209.
- [52] http://mcavalla.free.fr/galerie/picture.php?cat=10&image_id=83&slideshow=4.
- [53] milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page : 77.
- [54] <http://www.microbe-edu.org/glossaire/detail.cfm?cle=281>.
- [55] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page 78.
- [56] <http://www.solabia.fr/solabia/produitsDiagnostic.nsf/0/D5D9F075857C0657C12574B4002A40BF?Opendocument>.
- [57] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page 49.
- [58] http://mcavalla.free.fr/galerie/picture.php?cat=10&image_id=701.
- [59] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page 98.
- [60] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page : 202.
- [61] http://vdmroubaix.com/technobio/index.php?option=com_joomgallery&func=viewcategory&catid=3&Itemid=24.

[62] Milieux et réactifs de Laboratoire Pasteur, Microbiologie Immunologie, Diagnostic Pasteur 3ème édition page : 76.

[63] http://www.pro-analise.com.br/files/uploads/catalogos/20100_20160.pdf.

[64] API 20 E Système d'identification des entérobactéries Bio Merieux S.A., France, 2002.

[65] <http://www.laborantin.fr/bec-bunsen-butane/propane-ref-7031-26ts-fr,4,703126TS.cfm>.

[66] <http://www.fiers.be/fr/materiel-de-laboratoire/pompes-pipettes-prelevement-dechantillons/pipettes-pasteur/pipettes-pasteur-en-verre>.

[67] <http://www.socimed.com/laboratoire/accessoire-de-pipetage/poires-en-caoutchouc.html>.

[68] <http://www.allsciences.com/catalogue/9-autres-catalogues/4605-dutscher/73773-analyse-mesures-microbiologie/73873-boites-de-petri>.

[69] <http://www.microbiology-loop-thumb13607430.jpg>

[70] http://www.dslaboratoires.fr/_assets/AAA/YAD/MGA/00F/08024188_PVI_0001_A456620_PS.jpg

[71] <http://www.google.co.ma/imgres?q=microscope+optique>

[72] <http://www.web-sciences.com/documents/premiere/pedo12/petp1201.php>

[73] www.bolium.com/boutique/images_produits/01p0750dia13r100n8-z.jpg

[74] http://www.afrikpro.com/images/Sarl-PUJOL/SarlPUYOL_etuve.jpg

[75] http://www.afrikpro.com/images/Sarl-PUJOL/SarlPUYOL_etuve.jpg

[76] http://www.labomoderne.com/documents/imggamme/bains_swb1_1.jpg

[77] Elemts Diagnostic/Bactéries Méthodes Isolement ,dernière édition le **2008-09-09 14:50:58** par JeanPierreFlandrois.

[78] <http://www.techno-science.net/?onglet=glossaire&definition=1002>.

[79] Organisation Mondiale de la Santé. Laboratory biosafety manual, 2ème édition. Genève : OMS ; 1993 : ISBN 92 4 154450 3.

[80] **A.Meyer, J.Deiana, A.Bernard.** Biosciences et techniques cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés, 2ème édition, J.Figurella et A. Calas : Doin ; **2004**, page 409.

[81] <http://georges.dolisi.free.fr/Microbio/Sterilisation.htm>.

[82] **Prescott, Harley, Klein, Wiley, Sherwood, Woolverton.** Microbiologie 3ème édition, bruxelle : **2010** ; Boeck, page 118.

[83] **A.Meyer, J.Deiana, A.Bernard.** Biosciences et techniques cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés, 2ème édition, J.Figurella et A. Calas : Doin ; **2004**, page137.

[84] http://fr.wikipedia.org/wiki/Milieu_BCP.

[85] **Shechter, E.** Biochimie et biophysique des membranes. Aspects structuraux et fonctionnels, Masson. Ed **1997**.

[86] **Hazel J.R.** Thermal adaptation in biological membranes: is homeoviscous adaptation the explanation. Annu. Rev. Physiol. **1995**, 57, 19-42.

[87] **Lee, D. C, D.Chapman.** The effects of temperature on biological membranes and their models. Symp Soc Exp Biol **1987**. 41:35-52.

[88] **Beney, L., and P. Gervais.** Influence of the fluidity of the membrane on the response of microorganisms to environmental stresses. Appl Microbiol Biotechnol **2001**. 57:34-42.

[89] **TO Thi Mai Huong.** Modification de la composition lipidique membranaire chez les bactéries lactiques en conditions de stress, Etude du rôle physiologique des Acides Gras Cycliques chez deux modèles : *Oenococcus oeni* ATCC-BAA1163 et *Lactococcus lactis* MG1363. Thèse de Doctorat en sciences des

aliments. Université de Bourgogne Institut Université de la Vigne et du Vin. **2010** ; 1.

[90] <http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/Tests/ONPG.htm>.

[91] **Prescott, Harley, Klein, Wiley, Sherwood, Woolverton**. Microbiologie 3ème édition, de Boeck, page 117-119.

[92] <http://books.google.co.ma/books?id=saCo8tQhrq0C&pg=PA117&lpg=PA117&dq=formation+des+colonies+bacteriennes>.

[93] **A. Meyer, J.Deiana, A. Bernard**. Biosciences et techniques cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés, 2ème édition, J.Figurella et A.Calas : Doin ; **2004** page 28.

[94] **A.Meyer, J.Deiana, A. Bernard**, Biosciences et techniques cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés, 2ème édition, J.Figurella et A. Calas : Doin ; **2004** page 283.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

أَوْسَعُ بِاللَّهِ الْعَظِيمِ

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو احتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

" والله على ما أقول شهيد "

جامعة محمد الخامس - السويسي -
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 80

سنة: 2012

تأثير عملية إعادة الزرع لكليسيلا الرئوية بيطا لاكتماز واسعة الطيف على مميزاتها المرفولوجية و البيوكيميائية وكذلك على حساسيتها لبعض المضادات الحيوية

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم:

من طرف

الآنسة: شيماء الصريس

المزداة في 27 نونبر 1987 بطنجة

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: إعادة زرع -كليسيلا الرئوية بيطا لاكتماز واسعة الطيف -النقاء -قابلية الحياة -
لاكتوز.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

مشرفة

أعضاء

السيد : ميمون الزهدي

أستاذ في علم الأحياء المجهرية

السيدة: سكيئة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء المجهرية

السيدة: سعيدة طلال

أستاذة في الكيمياء الحيوية

السيدة: نوال الشرقاوي

أستاذة في الصيدلة الغالبية