République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'enseignement Supérieure et de La Recherche Scientifique

UNIVERSITE DE MEDEA

Facultés des Sciences

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme de

Master En **sciences biologique**
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

L'évolution d'état d'antibioresistance des bactéries nosocomiales identifiées à l'hôpital de Médéa

Présenté par :

- ZAOUI Ratiba
- RAHMANI Hanane
- HERNOUN Nabil

Devant les membres de jury :

Président : Mr.KHAMES. M	MCA	UNIV de Médéa
Encadreur : Mme. KABACHE. R	Dr. Spécialiste	EPH de Médéa
Co-encadreur 1 : Mr. RAHAL. M	MCA	UNIV de Médéa
Examinatrice 1 : Mme. BALKACEM.I	MCB	UNIV de Médéa

L'année universitaire :

2021-2022

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier bon dieu le tout puissant qui nous a donné la connaissance, le courage, la patience et le pouvoir afin d'élaborer ce travail.

Nous tenons à remercier notre promotrice « **Mm.KABACHE RAZIKA** »avec « **MR.RAHAL-M** », pour sa patience, ses remarques et ses conseils.

Ainsi que les membres de jury pour avoir acceptée d'évaluer ce travail et pour toutes remarques et critiques qui en déduisent.

Nous souhaitons adresser nos remerciement les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et contribué à l'élaboration de ce mémoire particulièrement les personnels de laboratoire centrale EPH de Médéa.

Ces remerciements vont au corps professoral et administratif de la faculté de science de l'université de Médéa pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisé.



Dédicace

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. Vous êtes les meilleurs, vous avez su m'entourer d'attention, m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité. A Mes Très ***Chers Parents****.*

A mes très ***chères sœurs*** *et mon âme* ***Mustapha****.*

Aucun mot ne saurait décrire à quel point je vous suis reconnaissant pour tout ce que vous avez fait pour moi , vous m'avez soutenu et comblé tout au long de mon parcours .L'affection et l'amour fraternel que je vous porte sont sans limite.

A ma chère amie ***Zahra*** *Je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour et je te remercie de m'avoir toujours soutenu.*

Une spéciale dédicace pour un Person qui compte déjà énormément pour moi. Il m'a offert l'énergie positive, la sagesse, et les conseils en or. ***"Mounaim"***

J'adresse mes sincères remerciements à ***Dr.ZAIOUR*** *et tous mes collègues de travail de* ***LAM ZAIOUR****, il est difficile d'exprimer tout ce que je leur dois. Merci à ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.*

A mes compagnons du chemin : ***Hanane, Ratiba***

Ratiba



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A ***Allah****, le tout-puissant, l'omniscient, l'omnipotent qui par sa miséricorde, m'a permis de réaliser cette œuvre et A son prophète* ***MOHAMED****, l'exemple, le guide, le sage.*

À mes chers ***parents****, Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs. J'espère que vous trouverez dans la dédicace de ce travail le témoignage de mes sentiments sincères et de mes vœux de santé et de bonheur.*

Mes frères *et* ***ma suer*** *et toute* ***ma famille***

à mes très chers ami :

Achouak,Ratiba,Nessma,Yasmine,Zahra,Iman,Soumia,Sana,Amel,Rania,Nouha ,Yousra*.... A toute la promotion de microbiologie 2022 Médéa*

A mes binômes : Ratiba et Nabil qui ont partagé avec moi le meilleur et le pire lors de la réalisation de ce projet A tous ceux qui me sont chers A tous ceux qui m'aiment A tous ceux que j'aime

Je dédie ce travail

HANANE





Dédicaces

Je dédie ce travail ;

A ma famille Hernoun, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

Particulièrement à mon père feu Lakhdar, pour le goût à l'effort qu'il a suscité en moi, de par sa rigueur.

A toi ma mère Zohra, ceci et ma profonde gratuide pour ton éternel amour, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir ;

A vous mes frères Mohamed et Aissa, et ma sœur Faiza et Razika, qui m'avez toujours soutenu est encouragé durant ces années d'études … (2021.2022).

HERNOUN. NABIL !

Liste des Tableaux

Tableau I : Antibiotiques agissant sur la paroi.....13
Tableau II: Antibiotiques agissant sur la synthèse protéique. 14
Tableau III: Différentes antibiotiques agissant sur la synthèse des acides nucléiques.....14
Tableau IV: Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique.....15
Tableau V : phénotype de résistance acquise des staphylocoques aux β-lactamines 27
Tableau VI: phénotype de résistance acquise aux staphylocoques aux aminosides.....27
Tableau VII: Répartition des germes responsables des infections nosocomiales.....34
Tableau VIII: Répartition des germes responsables des infections nosocomiales 35
Tableau IX: Distribution des germes responsables d'infections nosocomiales 36
Tableau X: Distribution des germes responsables d'infections nosocomiales 36
Tableau XI: profil de résistance d'*E, coli* 37
Tableau XII: profil de résistance de *Klebsiella spp.*.....37
Tableau XIII: matériels utilisés durant les manipulations.....41

Liste des Figures

Figure 1: mode de transmission de l'infection. 4
Figure 2: les infections d'origine endogène. 5
Figure 3: Transmission d'origine exogènes 6
Figure 4: Mode d'action des antibiotiques. 16
Figure 5: schéma réactionnel d'hydrolyse du noyau β-lactame par une β-lactamase. 19
Figure 6: taux de croissance des infections nosocomiales par région (2019-2024). 33
Figure 7 :L'échelle colorimétrique de référence des bandelettes réactives. 43
Figure 8 : Les différents aspects macroscopiques de l'urine 44
Figure 9 : Examen cytologique d'urine sur cellule Nageotte. 45
Figure 10 : Les différents milieux de culture utilisés pour l'isolement des germes responsables des infections nosocomiale. 46
Figure 11 : Aspect de prélèvement de pus par une seringue à gauche et par un écouvillon à droite 48
Figure 12 : Le prélèvement de sang 49
Figure 13 : Préparation de l'état frais sur une lame. 51
Figure 14 : coloration de gram. 52
Figure 15: Test de catalase 53
Figure 16: Test de oxydase. 54
Figure 17 : la galerie API 20 E "avant incubation". 55
Figure 18: Préparation de l'inoculum à partir d'une colonie isolée pour la réalisation de l'antibiogramme 56
Figure 19 : Ensemencement et application du disque d'antibiotique sur milieu Muller Hinton. 57
Figure 20 : Répartition des patients par sexe au cours des premiers quatre mois des dernières quatre années (2019-2022) au niveau de l'EPH de Médéa. 58
Figure 21: Répartition des infections nosocomiales selon les prélèvements cliniques. 59
Figure 22: Répartition des patients dans les différents services de l'EPH de Médéa durant les premiers 4 mois de 2022. 59
Figure 23: Répartition des patients dans les différents services de l'EPH de Médéa. 60
Figure 24: répartition des germes isolés au niveau de l'EPH de Médéa. 61
Figure 25: profil de la résistance de *E .coli* aux différents antibiotiques (2019-2022). 62

Figure 26: le profil de résistance de *Klebsiella spp* aux différents antibiotiques durant la période (2019-2022). 63
Figure 27: Profil de la résistance de *Proteus spp* aux différents antibiotiques durant la période (2019-2022). 64
Figure 28: Profil de la résist ance de *Pseudomonas aeruginosa* aux différents antibiotiques durant la période (2019-2022). 65
Figure 29: profil de la résistance de *Staphylococcus aureus* aux différents antibiotiques durant la période (2019-2022). 66

LISTE DES ABREVIATIONS :

% : Pourcentage

API20E : Analytique profile index 20E (E= *Entérobactéries*).

ADH : Arginine dihydrolase

BLSE : Bêta-lactamase à spectre élargi

BORSA : Borderline Oxacilline Résistant *Staphylococcus aureus*

C3G : Céphalosporines de 3eme génération

CCI : centre de chirurgie infantile.

Céphalo : Céphalosporinase

CH-F : Chirurgie femme

CH-H : Chirurgie homme

CMI : Concentration minimales inhibitrices

***E.coli* :** *Escherichia coli*

ECBU : Examen cytobactériologique des urines

EMB : Eosine bleu de méthylène

ERM : Erythromycine ribosome méthylation

GN : Gélose nutritive

GS : Gélose au sang

GYN : Gynécologie

H2S : Hydrogène Sulfureux

HD : Hémodialyse

KP : *Klebsiella*

LDC : Lysine décarboxylase

LPS : Lipopolysacharide

MAT : Maternité

MF : Médecine femme

MH : Médecine homme

MLS : Macrolides lincosamide et streptogramine

MODSA : Modified Penicillin-Binding Protein *Staphylococcus aureus*

MR : Manque de réactif

NNT : Néonatalogie

ODC : Ornithine décarpoxylase

ONPG : Ortho-nitro-phényle-β-D- Galactopyranosi

ORL : Oto-rhino –laryngologiste

***P.aeruginosa* :** *Pseudomonas aeruginosa*

PBNV : Pénicilinase bas niveau

Péd : Pédiatrie

PH : Potentiel d'hydrogène

PHNV : Pénicillinase à haut niveau

PLP : Protéines de liaison à la pénicilline

POP : Préopératoire

PP : Phospholipides

R : Résistance

S : Sensible

***S.aureus* :** *Staphylococcus aureus*

SARM : *Staphylocoque aureus* résistent à la méticilline

SPP : Espèce

TDA : Tryptophane désaminase

TR-H : Traumatologie homme

UFC/ml : Unité Formant colonie / millilitre

UMC : Urgence Médico Chirurgicales

URE : Urée

URG : Urgence

VP : Voges proskuer

Résume

Les infections nosocomiales (IN) constituent un problème majeur de santé publique par leur coût ainsi que par la mortalité qu'elles engendrent. L'objectif de cette étude est d'estimer la prévalence des IN et d'identifier les microorganismes responsables et l'évolution de Résistance aux antibiotiques. Notre étude est menée au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Mohammed Boudiaf Médéa, sur une période de 4 mois (Janvier à avril 2022).d'après les résultats de l'évolution de l'antibiorésistance obtenus, la majorité des bactéries isolées représente une résistance acquise à un ou plusieurs antibiotiques testés. Ces résultats mettent en évidence que le milieu hospitalier est un réservoir des microorganismes potentiellement pathogènes pour l'homme et responsables des infections nosocomiales qui représente un risque pour la santé publique.

Les mots clés : infection nosocomiale, prévalence, bactérie, antibiorésistance, le milieu hospitalier.

Summary

Nosocomial infections are a major public health problem due to their cost and the mortality they cause. The objective of this study is to estimate the prevalence of nosocomial infections and to identify the microorganisms responsible and the evolution of resistance to antibiotics. Our study is conducted in the bacteriology laboratory of the Mohammed Boudiaf Médéa hospital, over a period of 4 months (January to April 2022). According to the results of the evolution of antibiotic resistance obtained, the majority of the bacteria isolated represents acquired resistance to one or more tested antibiotics. These results show that the hospital environment is a reservoir of potentially pathogenic microorganisms for humans and responsible for nosocomial infections which represents a risk for public health.

Key words: nosocomial infection, prevalence, bacteria, antibiotic resistance, the hospital environment.

ملخص

تعد عدوى المستشفيات مشكلة صحية عامة كبيرة بسبب تكلفتها والوفيات التي تسببها. الهدف من هذه الدراسة هو تقدير انتشار عدوى المستشفيات والتعرف على الكائنات الحية الدقيقة المسؤولة وتطور مقاومة المضادات الحيوية. أجريت دراستنا في مختبر علم الجراثيم في مستشفى محمد بوضياف المدية، على مدى 4 أشهر (من يناير إلى أبريل 2022). وفقًا لنتائج تطور مقاومة المضادات الحيوية التي تم الحصول عليها، فإن غالبية البكتيريا المعزولة تمثل مقاومة مكتسبة لواحد أو أكثر من المضادات الحيوية المختبرة. تظهر هذه النتائج أن بيئة المستشفى هي مستودع للكائنات الحية الدقيقة التي يحتمل أن تكون مُمرضة للإنسان ومسؤولة عن التهابات المستشفيات التي تمثل خطرًا على الصحة العامة.

الكلمات المفتاحية: عدوى المستشفيات، انتشار، البكتيريا، مقاومة المضادات الحيوية، بيئة المستشفى.

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des Abréviations

Résume

Sommaire

Introduction :.....1

Chapitre I : Les infections nosocomiales et caractères de certaines bactéries d'importance clinique

1. Présentation d'infection nosocomiale.....3

1.1. Définition :.....3

1.2. Classification :.....3

1.3. Transmission :.....4

1.3.1. Voie endogène :.....4

1.3.2. Voie exogène :.....5

1.4. Les facteurs favorisant l'infection nosocomiale :.....6

1.4.1. Facteurs liés à l'état du patient.....6

1.4.2. Facteurs liés à un processus aigu.....6

1.4.3. Facteurs liés à une intervention invasive.....7

1.4.4. Facteurs liés au traitement.....7

2. Caractères de Certaines bactéries d'importance clinique:.....7

2.1. Les bacilles Gram négatifs :.....7

2.1.1. Les Entérobactéries :.....7

2.1.2. Pseudomonas aeruginosa:.....10

2.2. Les Cocci Gram positifs :.....10

2.2.1. Les Staphylococcus aureus :.....10

2.2.2. Enterococcus spp :.....11

Chapitre II : La résistance des bactéries aux antibiotiques

1. Généralité sur les antibiotiques :.....12

1.1. Définition :.....12

1.2. Classification des Antibiotiques :.....12

1.2.1. Selon leur origine : 12
1.2.2. Selon leur spectre d'activité : 12
1.2.3. Selon leur mode d'action : 13
1.2.4. Selon leur structure chimique : 13
1.3. Mode d'action : 13
2. La résistance aux antibiotiques 16
2.1. Définition : 16
2.2. Modes de résistance des antibiotiques 17
2.2.1. Résistance naturelle : 17
2.2.2. La résistance acquise 17
2.3. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques 17
2.3.1. Mécanisme de résistance aux ß-lactamine 17
2.3.2. Mécanismes de résistance des entérobactéries aux aminosides 19
2.3.3. Mécanismes de résistance des entérobactéries aux fluoroquinolones 19
2.3.4. Mécanisme de résistance aux macrolides et apparentés 20
2.4. Résistance des *Acinetobacter Baumannii* aux antibiotiques 21
2.4.1. Mécanisme de résistance aux ß- lactamines 21
2.5. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques 23
2.5.1. Mécanisme de résistance aux ß- lactamines 23
2.5.2. Résistance aux fluroquinolones 25
2.5.3. Mécanisme de résistance aux macrolides et apparentes 25
2.6. La résistance d e Staphylocoque aux antibiotiques 25
2.6.1. Mécanisme de résistance aux ß- lactamines 25
2.6.2. Mécanisme de résistance aux aminosides 27
2.6.3. Résistance aux Macrolides, Lincosamide et Streptogramine (MLS) : 28
2.6.4. Résistance aux quinolones 28
2.6.5. Résistance aux glycopeptides : 29
2.7. Résistance des *Enterococcus* aux antibiotiques : 29
2.7.1. Résistance naturelle aux β-lactamines : 30
2.7.2. Résistance aux macrolides et apparentés : 31

Chapitre III : Epidémiologie

1.Epidémiologie: 33
1.1.Dans le monde : 33
1.2. En Europe : 33

1.2.1.En United Kingdom(UK) : 33
1.2.2.En France : 34
1.3.En Afrique : 35
1.3.1En Mali : 35
1.3.2 En Maroc : 36

Chapitre IV:MATERIEL ET METHODES

1. OBJECTIFS : 39
1.1. Objectif principale : 39
1.2. Objectifs spécifiques : 39
2.Modalités pratiques de l'étude d'incidence : 40
2.1.Type d'étude et lieu de l'étude : 40
2.2.Description du lieu de l'étude: 40
2.3. Critères d'inclusion et critères d'exclusion : 40
2.4. Collecte de données : 40
2.5. Technique de collecte des données : 40
2.6. Les variables recueillies sont : 40
3. Matériels et méthodes : 41
3.1.matériel: 41
3.2. Méthodes : 41
3.2.1. Examen cytobacteriologique de urine "ECBU": 41
3.2.2.Examen bactériologique de pus : 47
3.2.3. Examen bacteriologie de hémoculture 48
3.3. Examen bactériologique : 50
3.3.1. Examen direct à l'état frais : 50
3.3.2. Coloration de Gram : 51
3.3.3. Identification biochimique de tous les germes isolent : 52
3.3.4. Identification par galerie biochimique API 20E 54
3.3.5.L'antibiogramme : 55
1.Résultats : 58
1.1.Répartition des patients selon le sexe : 58
1.2. Répartition selon les prélèvements cliniques : 59
1.3. Répartition selon le service : 59
1.4.Répartition des germes isolés : 60
1.5.Résultats de l'antibiogramme : 61

2. Discussion :.....66
Conclusion :.....70
Références Bibliographique
Annexes

Introduction

Introduction

Les infections nosocomiales constituent un fléau mondial et un sérieux problème de santé publique et donc un sujet de préoccupation croissante dans le domaine de la santé publique pour lequel l'impact en matière de morbidité et des dépenses de santé est aussi important que celui en matière de mortalité **(CHERAFA et al, 2017).** Dans les hôpitaux de traitement aigu (traitement ampélatoire sans antibiotiques), sur 100 patients, 7 dans les pays à revenu élevé et 15 dans les pays à revenu faible ou intermédiaire contractent au moins une infection nosocomiale pendant leur hospitalisation. En moyenne, un patient touché sur 10 succombe à cette infection **[01].** Ce chiffre varie en fonction du service dans lequel la personne hospitalisée se trouve **(KADI Z et al, 1995).**

L'efficacité de l'antibiothérapie dans le contrôle et la limitation de la dissémination des agents pathogènes a ainsi fait naître l'espoir de pouvoir éradiquer l'ensemble des maladies infectieuses. Sans ces médicaments, il y aurait beaucoup plus de morts et de nombreuses chirurgies seraient impossibles à effectuer, à cause du risque d'infection postopératoire **[02].** Malheureusement**,** l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques a mis un terme à cette vague d'optimisme **(Guinoiseau, 2010).** La cause principale de l'évolution et de l'extension des résistances aux antibiotiques est leur prescription à grande échelle en thérapeutique humaine **(Goossens et al, 2006).** Ces prescriptions sont souvent mal ciblées, comme dans les cas d'infections virales, ou incorrectement dosées **(Yagupsky, 2006).** La transmission d'éléments génétiques mobiles, comme les plasmides et les transposons, favorise également l'acquisition des résistances par les bactéries **(Yagupsky, 2006).**

En Algérie comme dans le monde entier, l'infection nosocomiale estimée une fréquence entre 20 et 30% et possèdent un pronostic sévère ces bactéries causent des problèmes préoccupent dans les hôpitaux **(sante.gouv.fr, 2016).**

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

Introduction

La résistance des bactéries aux antibiotiques est un sujet émergeant depuis le découvert de nouveaux antibiotiques, et que les bactéries pathogène résistance aux antibiotiques ne cessent de croitre. L'objectif de notre étude est l'évolution d'état de ces microorganismes présentant au sein de l'hôpital de Mohamed BOUDIAF au Médéa.

Chapitre I :

Les infections nosocomiales et caractères de certaines bactéries d'importance clinique

1. Présentation d'infection nosocomiale

1.1. Définition

Le terme nosocomial tire son étymologie de 2 racines :

- en latin le terme *nosocomiun* signifie l'hôpital
- en grec : *nosos* renvoie à la maladie et *komein* au verbe soigner **(Brucker, 1998).**

Une infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation et si elle était absente (ni symptomatique ni en incubation) à l'admission. Lorsque la situation à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après l'admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire **(Brucker, 1998).**

Pour les infections du site opératoire on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les 30 jours suivant l'intervention, ou celles survenues dans les 90 jours en cas d'infection virale et celles survenues dans les 365 jours s'il y a eu mise en place d'une prothèse ou d'un implant **(Brucker, 1998).**

Les principaux germes des infections nosocomiales sont les entérobactéries, les *Staphylocoques* (*S, aureus. S, epidermidis*…) et les *Pseudomonas aeruginosa*. Mais aussi des champignons (*Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*) et des virus (Rotavirus : RSV, VIH, HBV, HCV, CMV) **(Brucker, 1998).**

1.2. Classification

Les infections nosocomiales sont nombreuses et variées.

Dont la répartition est la suivante :

- Infections urinaires 40%
- Infections des plaies 25%
- Infections respiratoires 15%
- Infections sur cathéters intraveineux 5%
- Infections bactériennes et septicémies 5%
- Autres Infections 10% **(Giot et al, 2002).**

1.3. Transmission

Elle se fait soit de manière directe d'un individu à un autre individu, les mains étant le plus souvent les premières responsable (c'est le manuportage) : soit de manière indirecte autrement dit par un intermédiaire : un objet, un matériel souillé. Le manu portagé est un facteur déterminant dans la transmission de l'infection. On peut donc dire que 60 à 80 % des infections intra hospitalières sont manu portées. D'où l'importance primordiale, lavage des mains effectué selon une technique correcte. Le reste des infections est essentiellement transmis par l'aérobio-contamination, autrement dit par l'air **(Giot et al, 2002)**

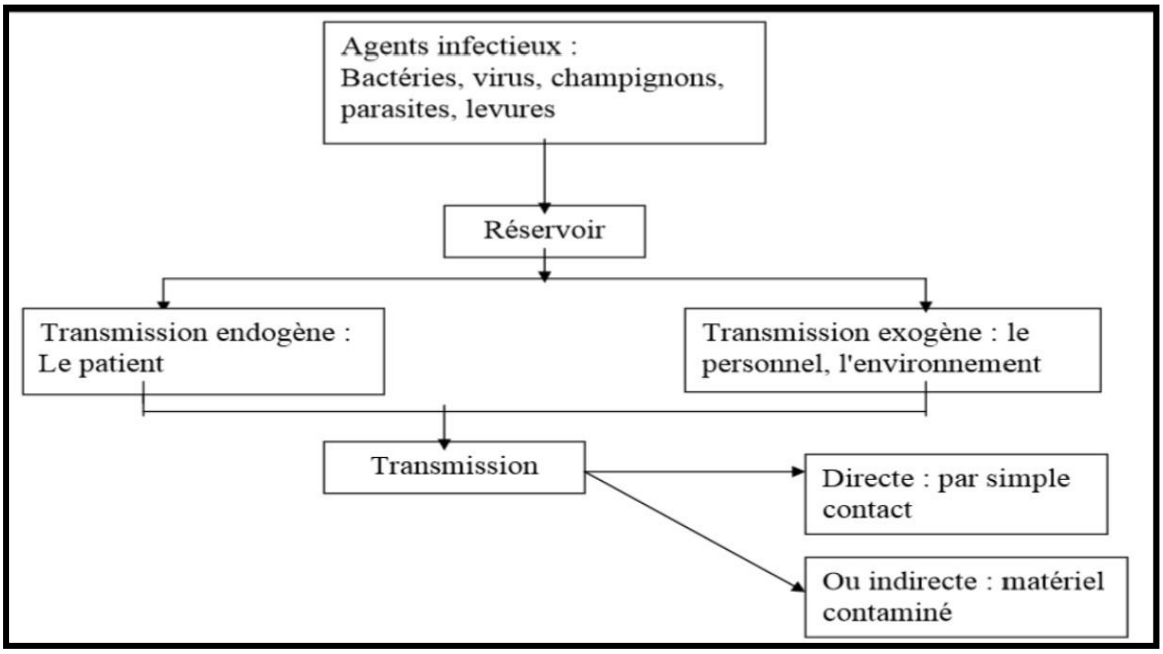


Figure 1: mode de transmission de l'infection **(Giot et al, 2002)**

1.3.1. Voie endogène

- Auto-infection

C'est lorsque le malade s'infecte soit par ses propres germes in situ soit à partir de l'environnement immédiat (surface de la peau, vêtement, lit). Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur **(Domart Y, 1995).**

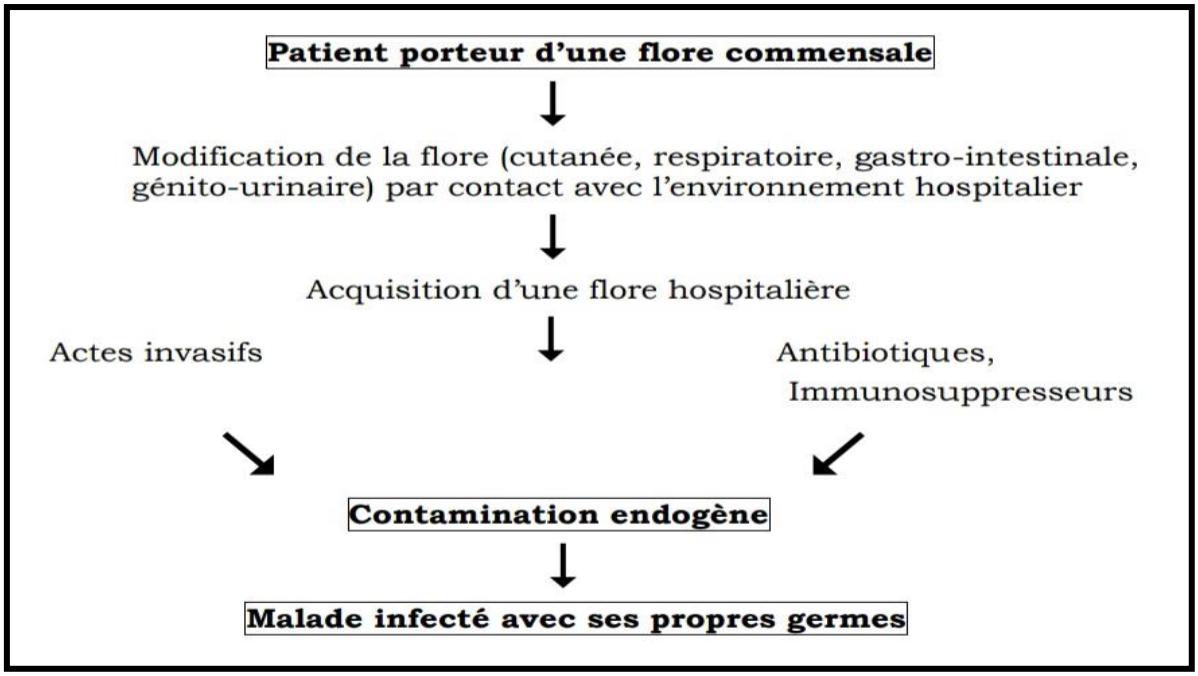


Figure 2: les infections d'origine endogène **(DOMART Y, 1995)**

1.3.2. Voie exogène

- Hétéro-infection : lorsqu'un agent infectieux est transmis d'un malade à l'autre par les mains ou les instruments de travail du personnel médical ou paramédical. C'est le mode de transmission le plus fréquent parmi les infections exogènes. L'agent infectieux est rarement transmis par voie aérienne **(HORAUD T et al, 1989).**

C'est à ce mode de contamination que s'appliquent les mesures prophylactiques traditionnelles (hygiène des mains, procédures de désinfection et de stérilisation, sécurité de l'environnement) **(HORAUD T et al, 1989).**

- Xéno-infection : Ce mode de transmission est un peu à part, dans ce cas les agents pathogènes sont transmis par des personnes venant de l'extérieur, et présentant eux- même une pathologie infectieuse déclarée ou en incubation **(Actusoins, 2001).**

Ce mode de transmission n'est cependant pas à négliger, car il peut être dévastateur pour les patients particulièrement fragiles. Ainsi, les professionnels de santé sont de plus encouragés à se faire vacciner contre la grippe **(Actusoins, 2001).**

- Exo-infection

Ce mode de transmission est dû soit à un dysfonctionnement technique d'un matériel (filtre à air , étuve ...) destiné à la protection des patients qui ne remplissent plus son office, les laisser en contact des germes qui ne devraient , en principe pas faire l'objet d'une infection , en vue des mesures prises pour les prévenir (aspergillose , Légionnelle ...); soit à une erreur commise dans des procédures de traitement du matériel médicochirurgical **(Banque de données en santés en santé publique,1999)**

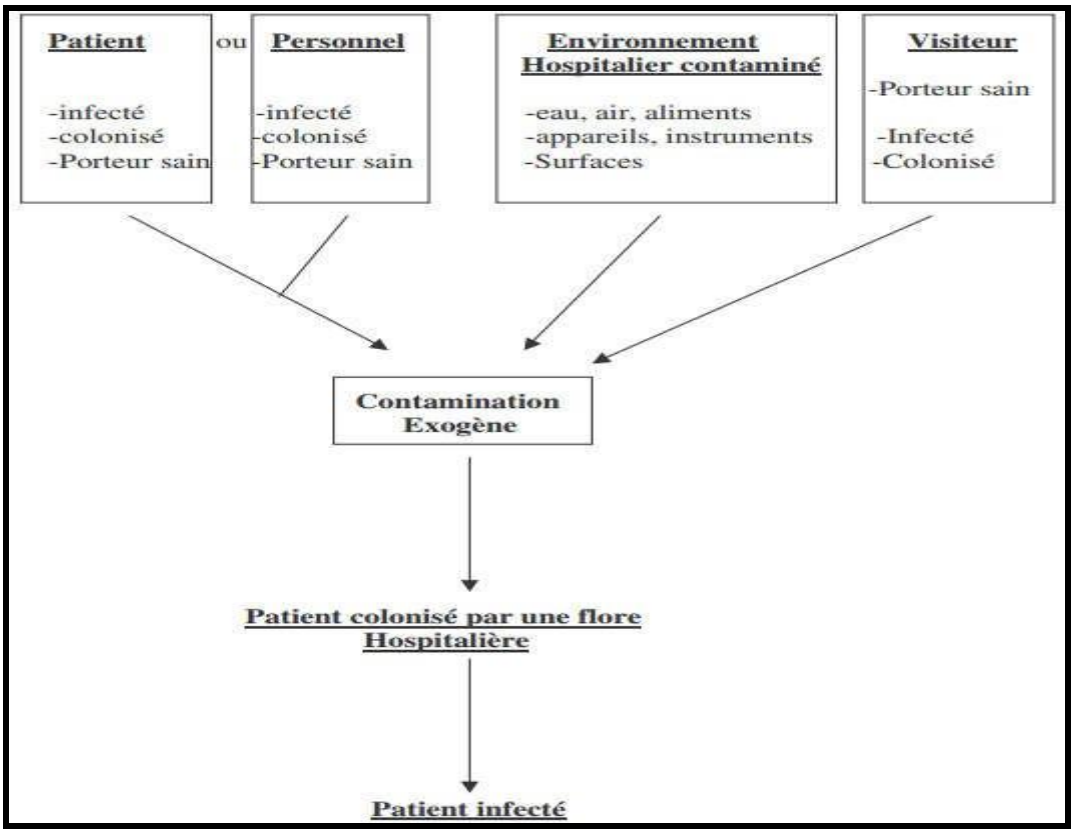


Figure 3: Transmission d'origine exogène **(HORAUD et al, 1989)**

1.4. Les facteurs favorisant l'infection nosocomiale

Plus précisément, il est possible de lister les facteurs qui prédisposent aux infections, en les rangeant dans quatre catégories :

1.4.1. Facteurs liés à l'état du patient : Âge avancé et nouveau-nés, malnutrition, éthylisme, tabagisme, maladie chronique pulmonaire, diabète, immunodépression (VIH, hémopathie, néoplasie...) **(Nancy, 2005).**

1.4.2. Facteurs liés à un processus aigu : Traumatismes, brûlures **(Nancy, 2005).**

1.4.3. Facteurs liés à une intervention invasive : Intervention chirurgicale, intubation endotrachéale ou nasale, cathétérisation veineuse centrale, dialyse, cathéter urinaire **(Nancy, 2005).**

1.4.4. Facteurs liés au traitement : Transfusions, traitement récent antibactérien, traitement immunosuppresseurs (comme les corticostéroïdes), prophylaxie de l'ulcère de stress, position du patient, nutrition parentérale **(Nancy, 2005).**

2. Caractères de Certaines bactéries d'importance clinique

2.1. Les bacilles Gram négatifs

2.1.1. Les Entérobactéries

Les bactéries sont les responsables les plus fréquents des infections nosocomiales. Elles peuvent être des bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus* mais on trouve plus souvent les bactéries opportunistes : des entérobactéries, *Pseudomonas*, *Streptococcus*…etc. **(Nauciel, 2000).**

La famille d*'Entérobactériaceae* regroupe différentes bactéries :

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella spp*
- *Proteus spp*
- *Entérobacter spp* … **(Mac larent, 1969).**

2.1.1.1. Escherichia coli

- C'est un bacille à bout arrondi, Gram négative, ne possédant ni capsule ni spores, elle se présente isolée ou en courtes chaînettes sous forme de très longs filaments de 2 à 4 μm de longueur sur 0.6 μm de larguer généralement polymorphes **(Hanes, 2003).**
- La plupart des souches d'*E.coli* se multiplie rapidement entre 18 et 24 h sur les milieux de culture ordinaire et sélective. Les colonies sont rondes, plates et à bords réguliers. Ce sont des bactéries mésophiles car la température optimale de croissance est de 37°C et le pH optimal est compris entre 7,2-7,4 **(Hanes, 2003).**
- *E. coli* possède des antigènes associés à quatre types de structures. Les antigènes de paroi (somatiques) ou antigènes O correspondent aux polyosides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS). Les antigènes de flagelles ou antigènes H de nature protéique qui

sont constitués de flagellines. les anti-gènes de surface de type F présents chez les souches ayant des propriétés d'adhésion et les antigènes d'enveloppe K qui sont de nature polysaccharidique **(Kaper et al, 2004).**

- *E. coli* est un hôte normal du tube digestif de l'Homme.
- Ces caractères biochimiques : ONPG (+), VP (-), Citra (-), TDA (-), H2S(-), glucose (+), Mob(+), Indole (+), Lactose (+) **(Decoster et Lahieu, 2006).**

2.1.1.2. Klebsiella spp

- Les *Klebsiella spp* sont des bacilles à coloration de Gram négative, immobiles, de dimensions comparables à celles *d'E.coli* **(Sougakoff et Trystram, 2003).**
- Ils ont une culture très facile sur tous les milieux usuels. Sur les milieux classiques d'isolement pour entérobactéries (Drigalski, Hektoen, Mac Conkey), les colonies de *Klebsiella* sont bombées, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine, d'un diamètre de 3 à 4 mm **(Sougakoff et Trystram, 2003).**
- Possède des caractères biochimiques telle que :

- la fermentation des sucres : glucose (+), lactose (+)
- Réduction des nitrates en nitrites : NO3+
- Métabolisme du tryptophane en indole : **indole (-/+)**, ONPG (+), LDC (+), H2S (-), Urease (+), TDA (-), VP (+) **(Sekhri, 2011).**

- Elle est responsable des infections opportunistes chez les malades hospitalisés *Klebsiella pneumoniae* responsables des :

- Infections broncho-pulmonaires en réanimation.
- Infections urinaires.
- Infections généralisées : septicémies ou bactériémies.
- Infections méningées post-traumatiques ou post -chirurgicales.
- Des épidémies hospitalières dues à des souches multi résistantes peuvent être observées **(Jean et al, 2002).**

2.1.1.3. Proteus spp

- Les *Proteus spp* sont des bacilles à coloration de Gram négative, très généralement mobiles, polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 10 à 80 µm de longueur. **(Avril et al., 2000)**

➢ En milieu gélosé. *P. mirabilis* et *P. vulgaris* peuvent envahir la surface de milieu en formant des ondes concentriques. Cet essaimage ou swarming, est dû à la grande mobilité de la bactérie **(Avril et al. 2000).**

➢ L'envahissement des cultures par les *Proteus* peut être réduit par la présence dans le milieu des sels biliaires ou des détergents, par accroissement de teneur en gélose ou par une diminution de la teneur en NaCl **(Avril et al, 2000).**

➢ Les *Proteus* sont caractérisés par leur uréase très active, la production d'H2S, d'une gélatinase et leur pouvoir glucidolytique faible, glucose (+), Réduction des nitrates en nitrites : NO3+, **indole (-/+)**, ONPG (-), ODC (+), TDA (+) (**Avril et al, 2000).**

2.1.1.4. Acinetobacter baumannii

➢ Sont des bacilles ou coccobacilles Gram négatifs associée par deux polymorphes ayant des formes filamenteuses de langueur variable dans les cultures âgées **(Baumann et al, 1968).**

➢ Immobiles aérobies stricts catalases + oxydase- et ne réduisent pas le nitrite **(Baumann P et al, 1968).**

➢ les bactéries du genre *Acinetobacter baumannii* sont non exigeantes, elle se développe facilement sur milieux classiques : gélose au sang et Mueller Hinton, sur milieux différentiels tel qu'EMB (Eosine bleu de méthylène) Drygalski, Hektoen et Mac Conkey. Récemment un nouveau milieu sélectif et différentiel : Leeds Acinétobacter Medium (LAM) **(Jawad et al ,1994).**

➢ Cette bactérie cultive bien sûr les milieux usuels à une température optimale de 30 à 32 °C. Les colonies ont un diamètre de 2 à 3 mm sur gélose ordinaire, convexes, à bords réguliers, souvent translucides **(Fomba, 2006).**

➢ *Acinetobacter* s'est imposé comme un pathogène hospitalier, responsable de nombreuses infections nosocomiales sévères, causant de réelles difficultés thérapeutiques du fait de sa capacité à développer plusieurs mécanismes de résistance à de nombreux antibiotiques **(Baron et al, 1995).**

2.1.1.5. **Citrobacter *spp***

➢ Bacilles ou des coccobacilles Gram négatif de 0,3 à 1 µm de diamètre et de 0,6 à 6 µm de long **(Abbott, 2007).**

➢ Facultativement anaérobiques **(Abbott, 2007).**

➢ La mobilité est assurée par des flagelles péritriches **(Holmes et al ,1998).**

➢ Les bactéries du genre *Citrobacter* fermentent le mannitol et produisent du H2S gazeux ; elles sont aussi capables d'utiliser le citrate de sodium comme unique source de carbone **(Knirel et al, 2002).**

➢ Les bactéries du genre *Citrobacter* peuvent se propager par contact direct avec les membres du personnel hospitalier, par transmission verticale de la mère à l'enfant ou par ingestion de matériel contaminé (voie fécale-orale), mais la transmission directe entre humains demeure le mode de transmission le plus fréquent **(Doran, 1999).**

2.1.2. Pseudomonas aeruginosa:

➢ C'est est un bacille à gram négatif ubiquitaire, non sporulant mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire **(Eyquen et al, 2000).**

➢ Il mesure de 1 à 5 µm de long et de 0,5 à 1 µm de large la paroi est formée de deux membranes séparées par le périplasme **(Eyquen et al, 2000).**

➢ Saprophytes dans le sol et dans les milieux aquatiques **(Eyquen et al 2000).**

➢ De nombreuses espèces de *Pseudomonas* sont chimio-organotrophes capable de croitre sur des milieux minéraux synthétiques leur température optimale est de 20 à 40°C **(Eyquen et al, 2000).**

➢ *Pseudomonas aeruginosa* n'est pas capable de fermenter les sucres mais peut les attaquer (le glucose en particulier) par voie oxydative, entraînant une acidification du milieu. Comme la plupart des *Pseudomonas*, elle possède une oxydase **(Liazid, 2012).**

➢ D'autres caractères sont utiles pour le diagnostic d'espèce : Indole (-), urée (-), TDA (-), H2S (-), gélatine (+), ONPG (-), nitrate-réductase (+), LDC (-), ODC (-), ADH (+), oxydase (+) **(Liazid, 2012).**

➢ Les infections à *P. aeruginosa* sont connues pour être difficiles à traiter, en raison de sa capacité à bien résister à beaucoup d'antibiotiques, et sa capacité d'acquérir de nouveaux mécanismes de résistance très rapidement **(Nauciel C, 2005).** Ce qui le qualifie de pathogène opportuniste impliqué, par excellence, dans les infections nosocomiales les plus redoutables **(Fauchère, 2002).**

2.2. Les Cocci Gram positifs

2.2.1. Les Staphylococcus aureus

➢ Ce sont des coques Gram positive, réunis en amas de 0,8 à 1µm de diamètre **(Boisivon et al ,1976).**

- Immobiles et non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs **(Boisivon et al ,1976).**
- Les *Staphylococcus aureus* possèdent un enzyme de catalase, le glucose est utilisé en aéro-anaérobiose ainsi que le mannitol qui caractérise l'espèce aureus. De nombreux autres sucres sont utilisés. Les *Staphylococcus aureus* sont : de indole (-), acétoine (+) **(Boisivon et al, 1976).**
- Les *Staphylococcus aureus* cultivés facilement sur milieu ordinaire, certains facteurs de croissance sont indispensables (vitamine B1, acide niconique). Ils sont cultivés en milieu synthétique contenant des sels, du glucose et 14 aminoacides. Ce sont des aérobies, anaérobies facultatifs, à une température de croissance optimale de 37°C, et un pH optimal de 7,5 en bouillant ordinaire **(Audebert et al, 1973).**
- Les colonies sur gélose ordinaire sont lisses, rondes bombées et leurs diamètres sont de 1 mm **(Audebert et al, 1973).**
- *S. aureus* exprime de nombreux facteurs de virulence : protéines de surface qui initialisent la colonisation des tissus de l'hôte, facteurs inhibant la phagocytose, toxines qui lèsent les cellules et provoquent les syndromes pathologiques **(Stark, 2013, Aloisa, 2015).**

2.2.2. *Enterococcus spp*

- Les entérocoques sont des cocci à coloration de Gram positive, disposés en diplocoques, commensaux du tube digestif **(Sougakoff et al, 2003).**
- Les plus fréquemment isolés sont *Enterococcus faecalis* et à un moindre degré *Enterococcus faecium* **(Sougakoff et al, 2003).**
- Les entérocoques se développent sur le milieu ordinaire, sur milieu hostile (NaCl 6,5 %, bile) et appartiennent au groupe D de Lancefield **(Sougakoff et al, 2003)** .La taille de chaque élément est inférieure à 2µm ; elle varie avec les espèces **(Avril et al, 1992)**.
- Ne possèdent ni catalase (à la différence des *Staphylocoques*), ni oxydase **(Avril et al, 1992).**
- Le pouvoir pathogène des *Entérococcus* reste controversé. En effet, à côté de situations pathologiques indéniables (pyélonéphrites, endocardites, méningites), l'isolement d'un entérocoque dans les urines ou dans un prélèvement pluri bactérien pose souvent un problème d'interprétation **(Kebe, 2001).**

Chapitre II :

La résistance des bactéries aux antibiotiques

1. Généralités sur les antibiotiques

1.1. Définition

Un antibiotique (du grec anti : contre, et bios : la vie) est une substance d'origine naturelle ou synthétique, ayant la capacité d'arrêter la multiplication des bactéries, mais également d'autres agents infectieux **(Plesiat, 2012).**

Les antibiotiques, contrairement aux antiseptiques, agissent sur les bactéries en inhibant des fonctions physiologiques précises telles que la synthèse de la paroi (β-lactamine, glycopeptides, fosfomycine), la réplication/transcription de l'ADN (fluoroquinolones, rifampicine, sulfamides, triméthoprime), la synthèse protéique (aminosides, tétracyclines, macrolides et apparentés, chloramphénicol) ou encore la respiration cellulaire (polymixines). Pour exercer leur action, ils doivent se lier à des cibles moléculaires spécifiques le plus souvent intracellulaires **(Plesiat, 2012).**

1.2. Classification des Antibiotiques

Pour pouvoir mieux connaître les antibiotiques afin qu'ils soient utilisés à bon escient, on a procédé à leur classification selon plusieurs critères :

1.2.1. Selon leur origine

- **Les antibiotiques naturels ou produits par les micro-organismes :** Champignons (Pénicilline, Céphalosporine) ou bactéries (Streptomycine, Chloramphénicol, Polypeptides).
- **Les antibiotiques synthétiques ou produits obtenus entièrement par voie chimique :** Sulfamides, Acide nalidixique.
- **Les antibiotiques semi-synthétiques :** ces antibiotiques sont obtenus à partir d'une fraction moléculaire naturelle sur laquelle a été greffé un radical chimique **(Figarella, 2007).**

1.2.2. Selon leur spectre d'activité

- **Large spectre :** Actifs sur la majorité des bactéries Gram positif ou négatif.
- **Spectre limité :** Actifs sur les bactéries Gram positif et quelques Gram négatif **(Figarella, 2007).**
- **Spectre étroit :** Actifs uniquement sur certains germes Gram positif ou sur certains Gram négatif **(Figarella, 2007).**

1.2.3. Selon leur mode d'action

En fonction des cibles bactériennes : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse d'acides nucléiques **(Figarella, 2007).**

1.2.4. Selon leur structure chimique

Les nombreux antibiotiques peuvent être groupés en familles. Une famille d'antibiotiques comprend des composés ayant des analogies de structure, au sein d'une même famille, les antibiotiques peuvent se différencier par leur spectre d'activité et sont réunis alors dans des groupes ; au sein d'un même groupe, l'activité antimicrobienne est identique mais les antibiotiques peuvent se différencier par leurs propriétés pharmacologiques ou leurs tolérances **(Figarella, 2007).**

1.3. Mode d'action

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le spectre d'activité et le mécanisme d'action **(Yala et al, 2001).** Selon leur mode d'action, les antibiotiques sont classés en 5 groupes dans des tableaux :

Tableau I : Antibiotiques agissant sur la paroi **(Nauciel et al, 2005)**

Famille	Groupe	Exemple d'antibiotiques	Modes d'action
β –lactamine	**Pénames**	Ampicilline Amoxicilline Carbénicilline	Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP ont une activité transpeptidasique, carboxypeptidasique et transglycolasique. L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes rondes ou filamenteuses qui aboutissent à la lyse bactérienne.
	Pénèmes	Imipenème Méropénème Ertapénème	
	Oxapénames ou clavams (acide clavulanique)	Amoxicilline +Acide clavulanique Ticarcilline + Acide clavulanique	
	Céphèmes	Céfazoline Céfoxitine Céftriaxone	
	Monobactames	Aztréonam	

Glycopeptides		Vancomycine Teicoplanine	Ils bloquent la polymérisation du peptidoglycane en se fixant sur la partie D-Ala-D-Ala terminale des peptides impliqués dans la phase de polymérisation du peptidoglycane.
Non classé		Fosfomycine	Elle se fixe sur une enzyme impliquée dans la formation de l'acide N-acétyl muramique qui est l'un des précurseurs du peptidoglycane.

Tableau II: Antibiotiques agissant sur la synthèse protéique.

Famille	Antibiotique	Mode d'action
Aminosides	Streptomycine Kanamycine Gentamicine	Ils se fixent sur la sous-unité 30S du ribosome ou ils s'interférent avec la synthèse des protéines **(Singleton, 2008).**
Macrolides-Lincosamides-Streptogramines (MLS)	Spiramycine Lincomycine Pristinamycine	Ils agissent au niveau de la S/unité 50S du ribosome. Ils inhibent la croissance de la chaine polypeptidique en formation **(Yala et al. ,2001).**
Tétracyclines	Oxytetracycline Doxycycline Glycylcyclines	Ils agissent au niveau de la sous-unité 30S du ribosome en inhibant la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, en empêchant la fixation de l'aminoacyl-ARNt **(Bryskier, 1999).**
Phénicolés	Chloramphénicol Thiamphénicol	Inhibition de la peptidyl-transférase, en se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien **(Wareham et Wilson, 2002)**
Oxazolidinones	Linézolide	Ils se fixent sur la sous-unité ribosomale 50S et empêchent sa liaison à la sous-unité 30S **(Nauciel et Vildé, 2005).**

Tableau III: Différentes antibiotiques agissant sur la synthèse des acides nucléiques.

Famille	Antibiotique	Mode d'action

Quinolones et Fluoroquinolones	Acide nalidixique, Acide pipémidique, Acide oxolinique Fluméquine	Ils agissent sur deux enzymes impliquées dans cette synthèse : **- ADN gyrase** (cible principale des BGN) il forme un complexe ADN-gyrase-Quinolones qui va bloquer la progression de l'ADN polymérase bactérienne au cours de la réplication **- ADN topo- isomérase IV** L'interaction entre l'ADN, quinolone et topoisomerase stimule la coupure de l'ADN et inhibe la relégation **(Hooper, 2002).**
	Péfloxacine Ofloxacine Norfloxacine Ciprofloxacine	
Rifamycines	Rifamycine Rifamycine SV	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARNm par inhibition de l'ARN polymérase **(Nauciel et Vildé.2005).**
Nitrofuranes	Nitrofurantoine Furazolidone Nifuroxazide	Elles agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases) **(Nauciel et Vildé, 2005).**

Tableau IV: Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique

Famille	Antibiotique	Mode d'action
Polymixine	Polymixine B Colistine	Elles se fixent sur les phospholipides, et perturbent ainsi les transferts transmembranaires de nutriments et inhibent les phosphorylations oxydatives du métabolisme énergétique **(Fauchèr JL Jean-Loup, 2002)**.

Tableau V : Antibiotiques agissant sur la synthèse de l'acide folique

Famille	Antibiotique	Mode d'action
Sulfamides	Sulfaméthoxazole Sulfaméthizole Sulfaguanidine	Inhibe la synthèse des folates, agit en compétition avec le PABA pour le site actif, la dihydroptéroate synthétase (DHPS) qui catalyse une réaction essentielle à la synthèse de l'acide tétrahydrofolique (DHF) nécessaire à la production

		des purines et pyrimidines pour la synthèse de l'acide nucléique **(Lambert, 1995).**
2-4 diaminoptéridine	Trimethoprime	Inhibe la synthèse des folates, en se fixant sur le dihydrofolate réductase **(Veyssier, 1999).**
Sulfamides+ Trimethoprime	Sulfaméthoxazole+ Trimethoprime (Cotrimoxazole)	Agis sur les deux enzymes précédentes **(Veyssier, 1999).**

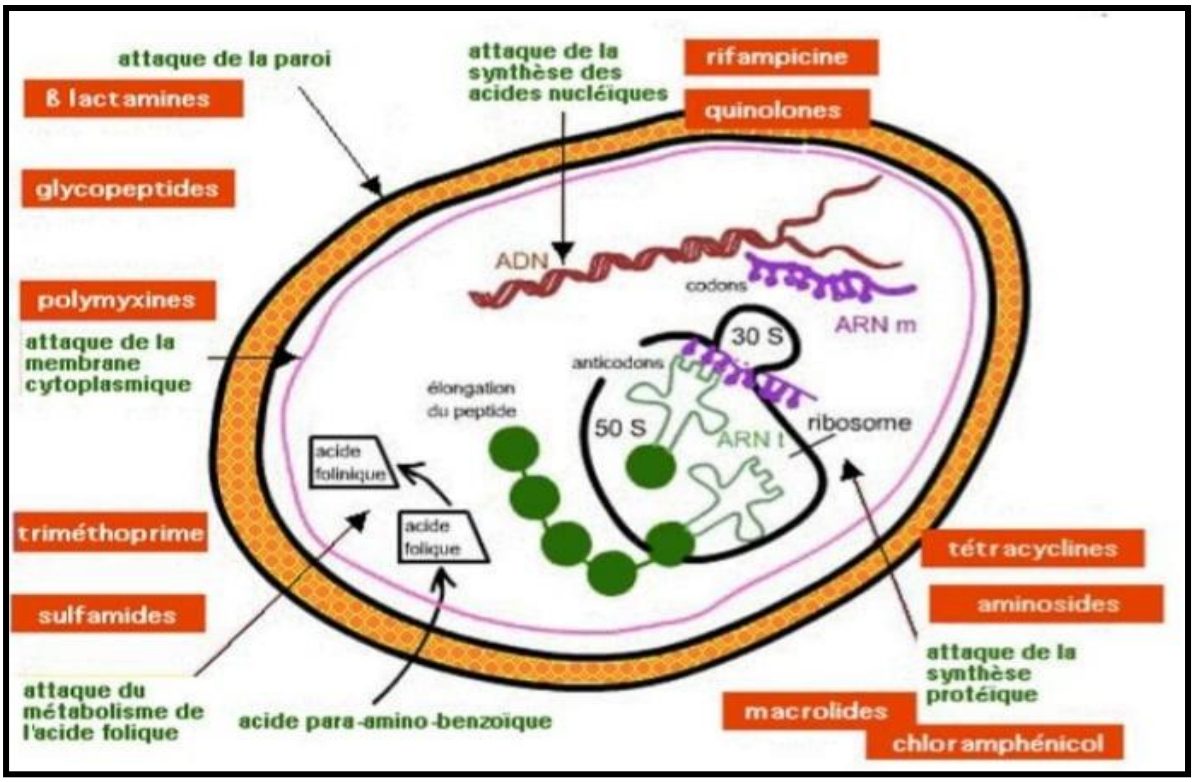


Figure 4: Mode d'action des antibiotiques **(in Meziani, 2012 ; Mammeri, 2013).**

2. La résistance aux antibiotiques

2.1. Définition

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné, quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce **(Leclerc et al, 1995)**.

2.2. Modes de résistance des antibiotiques

2.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou résistance intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne et partagée par toutes les souches de cette espèce. Elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce. Pour chaque classe d'antibiotique, il existe des espèces bactériennes pour lesquelles l'antibiotique est inactif par défaut de cible ou d'accès à la cible. Ainsi, l'absence de paroi chez les mycoplasmes rend les β-lactamines inactives vis-à-vis de ces bactéries (**Mehdi ,2008**).

2.2.2. La résistance acquise

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme (**Mehdi ,2008**).

2.3. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques

2.3.1. Mécanisme de résistance aux ß-lactamine

Il existe quatre principaux mécanismes de résistance aux β-Lactamines :

- La diminution de la perméabilité membranaire
- L'excrétion de l'antibiotique par des systèmes d'efflux
- La modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP)
- L'inactivation de l'antibiotique par production de β-lactamases

(Courvalin et al, 2006).

- **Diminution de la perméabilité membranaire**

Les entérobactéries possèdent une membrane externe composée de lipopolysaccharide **(LPS)** estimés chez *E. coli* à 3,5 millions et couvrant 75 % de la surface cellulaire et de phospholipides (PP) qui forment une barrière empêchant la pénétration des antibiotiques hydrophobes entrainant ainsi une résistance naturelle aux antibiotiques **(Paolozzi et al, 2015).**

Les substances hydrophiles comme les β-lactamines peuvent traverser cette barrière en passant par les porines qui permettent des échanges par diffusion passive de nutriments et d'autres substances entre le périplasme et le milieu extérieur **(Benz, 2004).**

L'altération des porines par mutation est à l'origine des résistances acquises aux β-lactamines, soit par une modification structurale d'une porine essentielle (ce qui a été décrit chez *E. coli*), soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente **(Kumar et al, 2005).** Bien que plus rare, la suppression des porines provoque l'augmentation des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de certaines β-lactamines comme cela a été mis en évidence chez certaines entérobactéries telles que *E.aerogenes, K.pneumoniae, E.cloacae, E. coli* et chez *Pseudomonas aeruginosa* **(Nikaido, 2000).**

- **Excrétion de l'antibiotique par des systèmes d'efflux**

Les entérobactéries possèdent différents canaux protéiques impliqués dans le transport d'une grande variété de composés. Parallèlement aux porines qui permettent aux nutriments de pénétrer dans la cellule, les bactéries utilisent des pompes à efflux pour réduire la concentration intracellulaire de composés toxiques comme les médicaments, les détergents et sont donc impliquées dans le contrôle de la sensibilité aux antibiotiques. La résistance par efflux est souvent couplée à une diminution de la perméabilité membranaire. L'association de ces deux mécanismes peut entraîner une résistance de haut niveau constituant ainsi de véritables systèmes de multi résistance **(Nishino et al, 2001).**

- **Modification des protéines de liaison à la pénicilline**

Plusieurs facteurs interviennent dans la résistance par modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Ce sont : les mutations dans les gènes chromosomiques codants pour les PLP entraînant la perte d'affinité des protéines de liaison à la pénicilline pour les β-lactamines, l'acquisition de gènes ou fragments de gènes codants pour des PLP d'affinité diminuée ou l'hyperproduction de PLP normales **(Nikaido, 1994).**

- **Inactivation de l'antibiotique par production de β-lactamases**

La production de β-lactamases est le mécanisme majeur de résistance aux β-lactamines. Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries gram négatif **(Livermore, 2003).** Elles catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse du pont amide de l'anneau β-lactame des pénicillines, des céphalosporines, des monobactames et

des carbapénèmes pour donner un acylenzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif **(Barrial et al, 2006).**

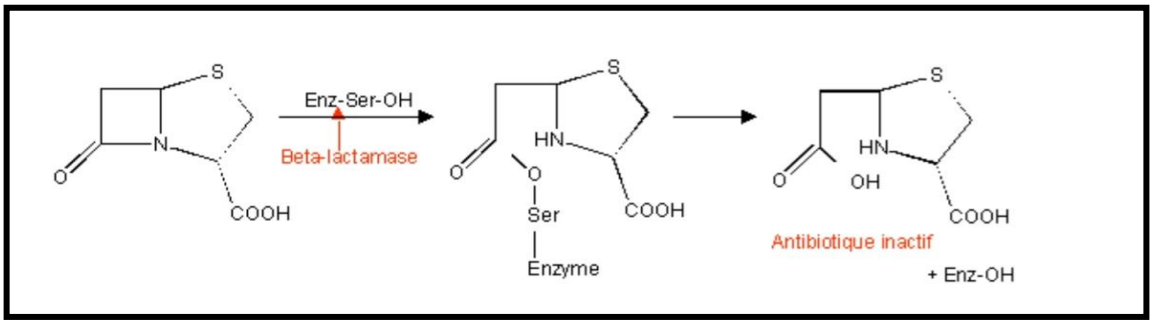


Figure 5: schéma réactionnel d'hydrolyse du noyau β-lactame par une β-lactamase. **(Barrial et al, 2006)**

2.3.2. Mécanismes de résistance des entérobactéries aux aminosides

Les différents genres composant la famille des entérobactéries sont naturellement sensibles aux aminosides à l'exception de providence et un grand nombre de *Serratia marcescens*. L'inactivation enzymatique des aminosides est le mécanisme de la résistance acquise le plus fréquent. Les enzymes sont codées par des germes plasmidiques qui peuvent atteindre tout ou partie des aminosides. Le second mécanisme de la résistance acquit aux aminosides par imperméabilité cellulaire est moins souvent observé chez les entérobactéries. L'imperméabilité cellulaire entraine le plus souvent une résistance croisée aux différents aminosides. Le troisième aspect de la résistance acquise est l'altération de cible ribosomale par mutation chromosomique qui est encore plus rare chez les entérobactéries **(BONNET, 2012).**

2.3.3. Mécanismes de résistance des entérobactéries aux fluoroquinolones

2.3.3.1. Résistance chromosomique

- **Modification de la cible enzymatique**

Chez les entérobactéries, l'ADN gyrase est plus sensible à l'inhibition médiée par les fluoroquinolones et les mutations responsables de résistance surviendront d'abord au niveau de la sous-unité *gyr A*. Ces mutations impliquent des substitutions en acides aminés qui apparaissent dans une région particulière nommée QRDR (Quinolone Résistance Determining Région) **(Muylaert et al, 2013).**

Ainsi, le domaine QRDR de la sous unité *gyrA* d'*E. Coli* se situe entre les acides aminés 67 et 106, avec des mutations au niveau des acides aminés en positions 83 et 87. Cette région QRDR est proche de la tyrosine 122 impliquée dans la liaison covalente de l'enzyme aux groupements phosphate de l'ADN **(Hooper, 2003 ; Rodriguez- Martinez et al, 2010).**

- **Perméabilité membranaire réduite**

La plupart des fluoroquinolones traversent de manière passive la membrane externe des bactéries gram négatif par les porines bien que certaines molécules soient capables de diffuser directement à travers la bicouche phospholipidique **(Jacoby, 2005).**

Les mutations intervenant dans les gènes codants pour ces porines sont responsables de résistance de bas niveau et permettent d'expliquer les différences d'efficacité observées parfois entre certains composés de la famille des quinolones **(Okusu et al, 1996).** Par exemple, chez *E. coli*, la dé-répression du loco de régulation *marA* pour «multiple antibiotic resistance» conduit à une diminution de la sensibilité aux fluoroquinolones via une sur-expression de la pompe à efflux *AcrAB-TolC* **(Okusu et al, 1996)** et une sous-expression des porines *OmpF* **(Muylaert et al, 2013).**

2.3.4. Mécanisme de résistance aux macrolides et apparentés

- **Résistance intrinsèque ou naturelle**

Une des caractéristiques des bacilles à Gram négatif est d'être résistant spontanément aux macrolides et aux substances apparentées. Les entérobactéries, en particulier, sont intrinsèquement résistantes aux macrolides **(Seck, 2005).**

En effet, leur membrane cellulaire externe est imperméable aux composés hydrophobes tels que le macrolide en plus elles ont un phénomène d'efflux physiologique. Toutefois, les ribosomes des germes à Gram négatif demeurent sensibles à haute concentration, les macrolides pénètrent les parois bactériennes et exercent leur effet inhibiteur **(Seck, 2005).**

- **Résistance acquise**

Il existe trois mécanismes de résistance acquit aux macrolides : la modification de la cible, par l'inactivation de l'antibiotique et par l'inactivation de l'efflux **(Pharmaétudes, 2016).**

- **Résistance par modification de la cible (gènes ERM)**

Le mécanisme le plus fréquent à ce niveau est méthylation de l'adénine au niveau de l'ARN 23 Se la sous-unité ribosomale 50S. La production de l'enzyme responsable de cette méthylation (méthylase) se fait se le contrôle des gènes *ERM* (érythromycine ribosome

méthylation). Cette méthylation confère une résistance croisée vis-à-vis non seulement de tous les macrolides mais aussi de deux autres classes d'antibiotiques qui agissent en se liant en partie à ce même site, à savoir les lincomasides (clindamycine et lincomycine) et la Streptogramine de type B d'où le nom de résistance MLSB **(Pharmaétudes, 2016).**

- **Résistance par l'inactivation de l'antibiotique**

Ce mécanisme, assez rare (décrit chez les entérobactéries, *P. aeruginosa* et exceptionnellement chez *S.aureus*), implique la production d'enzymes (estérases et phosphotransférases) modifiant les macrolides au point de réduire fortement leur affinité pour le ribosome. Ce type de résistance est également transmis par des plasmides **(Pharmaétudes, 2016).**

- **Résistance par efflux de l'antibiotique**

Ce mécanisme confère la résistance aux macrolides à 14 et 15 atomes et repose sur l'acquisition d'un gène *MEF (A)* porté par un transposon. Les macrolides à 16 atomes et les lincosamides restent donc actifs sur la souche possédant un mécanisme d'efflux actif **(Pharmaétudes, 2016).**

2.4. Résistance des *Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques

2.4.1. Mécanisme de résistance aux ß- lactamines

- **Résistance naturelle**

Les souches d *Acinetobacter baumannii* produisent une bêta-lactamase chromosomique de classe C, qui n'est pas inhibée par le clavulanate, qui hydrolyse préférentiellement les céphalosporines de première génération mais n'a pas d'activité pour les pénicillines et la pipéracilline **(Sougakoff et al, 2003).**

- **Résistance acquise**

Résistance enzymatiques

- Céphalosporinase de classe C :

Différents mécanismes de résistance aux β-lactamines ont été signalés et identifiés chez *Acinetobacter Baumannii* **(Corvec et al, 2003)** liés principalement à la production de β-lactamases. *Acinetobacter* produit naturellement une céphalosporinase du type *AMP C* qui est normalement exprimé à bas niveau, et ne diminue pas l'efficacité des céphalosporines à large spectre (Céphalotine) ou des carbapenems. L'insertion d'une séquence spécifique *ISA*ba1 en amont du gène bla *AMPC* favorise l'expression de cette β-lactamase du type *AmpC* en

fournissant des séquences promoteur ce qui entraîne la résistance à la Ceftazidime **(Nordmann et al, 2009).**

- Oxacillinase de classe D :

Les oxacillinases en général hydrolysent l'oxacilline, la méthicilline, cloxacilline et la benzylpénicilline, et leur activité est inhibée par NaCl **(Héritier et al, 2008).** De plus, elles sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique. La plupart des β-lactamases du type *OXA* n'hydrolysent pas de façon significative les *C3G/C4G* mais l'évolution par mutation(s) ponctuel(s) vers un élargissement du spectre a dû avoir lieu comme pour les dérivés de *TEM/SHV* **(Cattoir, 2008).**

Acinetobacter Baumannii produit une bêta-lactamase de classe D qui est l'oxacillinase représentée par le cluster d'enzymes *OXA-51/OXA-69***(Gerischer, 2008)**, les β-lactamases du type *OXA-51/69* pourraient contribuer à la résistance aux carbapenems par l'insertion d'IS Aba1 dans la région promotrice du gène bla *OXA-51*/69**(Poirel et al, 2009).** Des oxacillinases aux propriétés de carbapénémases sont identifiés chez *Acinetobacter Baumannii*, ces oxacillinases sont de trois grands types : *OXA-23, OXA-24/OXA-40* et *OXA-58*. Elles confèrent des degrés variables d'hydrolyse des carbapénèmes dépendant de leur niveau d'expression **(Héritier et al, 2009).**

- Métallo-β-lactamases de classe B :

Les β-lactamases de classe B ont besoin d'un atome de zinc pour détruire les β-lactamines **(Clavilier et al, 2001)** elles sont inhibées par l'EDTA **(Ruppé, 2010).** Trois groupes ont été identifiés chez *Acinetobacter* (*IMP-like*, *VIM-like* et *SIM-1*) **(L.Poirel et al, 2006)**, cette classe d'enzymes hydrolyse tous les β-lactamines à l'exception des monobactames **(Conly et al, 2011).**

- β-lactamases à spectre élargi :

Chez *Acinetobacter Baumannii* les BLSE sont soit chromosomique ou plasmidiques **(Sinha et al, 2007)** Les enzymes du type *GES* et *PER, VEB* et *IBC-2,* ont été largement retrouvées chez *Acinetobacter Baumannii*, les enzymes du type VEB hydrolysent de préférence la ceftazidime et l'aztréonam **(Rodriguez-Villalobos et al, 2006).**

Les gènes correspondant à ces BLSE sont le plus souvent retrouvés dans des structures de type intégron comme gènes cassettes (*VEB-1, IBC-1, GES-1, GES-3*) et donc sous la

dépendance de promoteurs situés à l'extrémité 3′ du gène de l'intégrase **(Philippon et al, 2006).**

- **Résistance non enzymatiques**

  - Sur expression du système d'efflux :

Les pompes à efflux illustrent un phénomène unique dans la résistance aux médicaments : un seul mécanisme provoquant la résistance contre les différentes classes d'antibiotiques. *Acinetobacter Baumannii* possède une pompe à efflux Ade ABC dont les substrats sont : Aminoglicosides, les tétracyclines, l'érythromycine, au chloramphénicol, triméthoprime, fluoroquinolones, des bêta-lactamines, et encore récemment, la tigécycline **(Wieczorek et al, 2008).**

  - Modification de l'expression des PLP :

L'efficacité des bêta-lactamines est liée à leur capacité de se fixer aux PLP. La liaison antibiotique / cible est liée à la structure de la cible. Diverses mutations peuvent entraîner des modifications diminuant l'efficacité de l'antibiotique **(Toure, 2004).**

2.5. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

2.5.1. Mécanisme de résistance aux ß- lactamines

Le développement de la résistance aux β- lactamines des *P. aeruginosa* été associé à la production de ß-lactamase acquises, la surproduction constitutive de la céphalosporinase *AmpC* ou mécanisme non enzymatique telle que l'efflux ou l'imperméabilité de la membrane externe **(Cavallo et al, 2002).**

- **Résistance naturelle**

P. aeruginosa possède une membrane externe faiblement perméable, ce qui lui confère une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques, dont la plupart des 26 bétalactamines hydrophiles, les bactéries produites d'une ß-lactamase chromosomique inductible de classe C qui n'est pas inhibée par le clavulanate et qui hydrolyse préférentiellement les céphalosporines de première génération et enfin l'existence des systèmes d'efflux sont souvent des complexes protéiques ternaires avec une pompe transmembranaire, une protéine périplasmique de jonction et une porine de la membrane externe **(Cattoir, 2004).**

- **Résistance acquise**

Les bactéries peuvent également acquérir la résistance à un antibiotique. Dans ce cas, la résistance acquise est présente seulement dans certaines souches de l'espèce. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou d'une acquisition de matériel génétique étranger **(Liazid, 2012).**

- **Résistance enzymatique**

La résistance acquit aux carbapénèmes (imipenème), initialement rapportée comme liée à un déficit de la porine *OprD2*, peut-être maintenant en relation avec la synthèse de β-lactamase du type carbapénémase (classe B) **(Philippon et al, 2006).** Ces carbapénèmases acquises constituent quatre groupes (*IMP, VIM, SPM, GIM*) **(Walsh et al, 2005).**

Les β-lactamases à large spectre (BLSE) sont responsables de la résistance à la plupart des β-lactamines chez *P. aeruginosa*, sauf pour carbapénèmes dont l'hydrolyse est assurée par les métallo-β-lactamases **(Weldhagen et al., 2003).**

Concernant les céphalosporines de classe C, des mutations dans le système de régulation de la production de cette β-lactamase, elles entrainent une production stable à haut niveau d'*AmpC* affectant l'activité de l'ensemble des β-lactamines à l'exception de celle des carbapénèmes **(Poirel, 2006).**

- **Résistance non enzymatique**

La résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques peut aussi résulter non pas d'une hydrolyse, mais d'une augmentation de l'efflux actif **(Yoneyama et al, 1997).** De nombreuses pompes à efflux ont été décrites chez *P. aeruginosa*. Ces systèmes ne sont pas exprimés de la même façon, seul le *MexAB-OprM* est produit constitutivement **(Poole, 2004).** La surexpression de la pompe *MexAB-OprM* résulte souvent d'une mutation dans le gène du répresseur adjacent MexR **(Saito et al, 1999 ; Higgins et al, 2003).**

En plus la surproduction de la pompe *MexAB-OprM* la résistance peut résulter par la perte de la porine *OprD2*, cette protéine canalaire de la membrane externe possède un site spécifique de la liaison pour les carbapénèmes et permet la pénétration sélective de l'imipénème. Toute perte d'*OprD2* entrainera donc une résistance à ct agent anti microbien **(Lahlou et al, 2008).**

2.5.2. Résistance aux fluroquinolones

Chez *P. aeruginosa* la résistance de haut niveau principalement liée à des mutations au niveau de *gyrA.* Cependant, chez cette espèce, les systèmes d'efflux actif *MexAB-OprM*, *MexXY-OprJ* et *MexEF-OprN* jouent un rôle important dans la résistance intrinsèque aux fluoroquinolones **(Mérens et al, 2010).**

2.5.3. Mécanisme de résistance aux macrolides et apparentes

Les macrolides ont été proposés pour leur effet sur le quorum sensing, le système de communication intracellulaire dépendant des acylhomosérines lactone et modulant l'expression de certains gènes impliqués dans la physiopathologie des pneumonies à pyocyanique en fonction de de la densité bactérienne **(Sadikot et al, 2005).** Un essai contrôlé au cours des PAVM à bacille à Gram négatif n'a cependant pas montré d'effet favorable **(Giamalleros-Bourboulis et al, 2008).**

Les macrolides sont des classes d'antibiotiques dont l'activité anti-P. aeruginosa à dose subinhibitrice est prouvée in vitro. L'atténuation des facteurs de virulence de *P. aeruginosa*, l'inhibition de la synthèse du biofilm bactérien, la régulation de l'expression du p. glycoprotéines, les effets généraux anti-inflammatoires et immunomodulateurs sont les effets observés (**Em-consulte, 2000).**

2.6. La résistance de Staphylocoque aux antibiotiques

2.6.1. Mécanisme de résistance aux ß- lactamines

Les mécanismes de résistance décrivent sont de plusieurs types :

- La production de pénicillinase plasmidique, inductible, inactive les pénicillines A et G, les carboxy-pénicilline et les uréidopénicillines. Cette pénicilline est en revanche inactivée par les inhibiteurs de pénicillinase (acide clavulanique, sulbactum, tazobactam). Les pénicillines M et les céphalosporines ne sont pas inactivées.
- La résistance à la méticilline peut être due à plusieurs mécanismes **(François JEHL et al, 2003).**

2.6.1.1. Modification de la cible

La résistance est due à la présence de protéines de la liaison à la pénicilline additionnelle la *PLP 2a* ou *PLP2*, qui a une très faible affinité pour l'ensemble des β-lactamines. Cette résistance peut-être soit homogène (haut niveau), soit hétérogène (bas

niveau). La recherche e la résistance hétérogène se fait soit à 30°C, soit 37°C en milieu hypersalé à 2-4% de NaCl avec un inoculum 10^7 UFC/ml. Après 24h d'incubation, la croissance peut être faible, ce qui nécessite une incubation supplémentaire de 24h **(François JEHL et al, 2003).**

La production de ces *PLP* anormale est codée par un gène chromosomique *mecA* qui appartient à un fragment additionnel d'ADN intégré à ADN des SAMR (*s, aureus* résistant à la méticilline). Les gènes de régulation *mecR1* (co-inducteur) et mecI (répresseur) inhibent la transcription du gène mecA. La production de ces *PLP* anormale est codée par un gène chromosomique *mecA* qui appartient à un fragment additionnel d'ADN intégré à ADN des SAMR (*s, aureus* résistant à la méticilline). Les gènes de régulation *mecR*1 (co-inducteur) et *mecI* (répresseur) inhibent la transcription du gène *mecA.* En effet, ce dernier code pour une protéine membranaire qui, en présence de β-lactamine, lève la répression du produit de *blaI sur blaZ.* Ainsi, le gène *mecA* peut être corégule par le système d'induction de la pénicillinase **(François JEHL et al, 2003).**

Quatre gènes accessoires (*femA, femB, femC, femD* facteur essentiel à la méticillino-résistance) nécessaire à l'expression à haut niveau de la résistance à la méticilline sont situés à distance du gène *mecA* et sont tous impliqués dans l'une des étapes de la synthèse de peptidoglycane **(François JEHL et al, 2003).**

2.6.1.2. Autres mécanismes

Trois autres mécanismes de résistance à l'oxacilline non liée au gène *mecA* ont été décrits :

- Certaines souches sont hyperproductrices de β-lactamase, ce sont les souches BORSA (= *borderline s, aureus*) qui secrètent une quantité importante de β-lactamase, qui n'ont pas de résistance intrinsèque, c'est-à-dire ni *PLP2*a, ni gène de *mecA.* Il y a restauration de la sensibilité in vitro si l'oxacilline est associée à un inhibiteur de β-lactamase .il n'y a pas de multirésistance associée en général **(François JEHL et al, 2003).**
- Quelques souches semblent produire une méticilline capable d'hydrolyser la méticilline, en absence du gène *mecA* et dont le rôle et le gène ne sont pas clairement établis **(François JEHL et al, 2003).**
- Modification des *PLP* autres que la *PLP 2a* = souche MODSA (modifated s, aureus) souche résistante à bas niveau à l'oxacilline et non producteur de β-lactamine. Ces souches présentent une modification d'affinité de leurs PLP normales vis-à-vis des β-lactamine **(François JEHL et al, 2003).**

Tableau V : phénotype de résistance acquise des staphylocoques aux β-lactamines **(François JEHL, 2003).**

Mécanisme	Pénicilline G, Pénicilline A, carboxylpénicilline, uréidopénicilline	ATB+inibiteur de β-lactamase	Oxacilline (OXA)	Céfoxitine (FOX)
Sauvage	S	S	S	S
Pénicillinase	R	S	S	S
Modification des PLP, gène *mecA*	R	R	R	R
BORSA (rare)	R	S /R	R	S
MODSA (rare)	S	S	R	S

BORSA : bording, aureus ; **MODSA** : modified *s,aureus* **S** : sensible ; **R :** résistant.

2.6.2. Mécanisme de résistance aux aminosides

La résistance aux aminosides est essentiellement liée à l'acquisition d'enzyme inactivant ces antibiotiques **(François JEHL et al, 2003).**

Les phénotypes de résistance sont indiqués dans le tableau :

Tableau VI: phénotype de résistance acquise aux staphylocoques aux aminosides **(François JEHL et al, 2003).**

Phénotype	Enzyme	Amikacine	Tobramicine	Gentamicine
Sauvage	-	S	S	S
K	APH 3'-III	R	S	S
KT	ANT-4'-4'	R	R	S
KTG	APH2''-	R	R	R

	AAC6’			

APH : aminoside phosphotransférase ; **ANT :** aminoside nucléotidyltransférase ; **ACC :** aminoside acétyltransférase ; **S** : sensible ; **R :** résistant.

2.6.3. Résistance aux Macrolides, Lincosamide et Streptogramine (MLS)

Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse protéique en stimulant la dissociation entre ribosome et ARN de transfert. Les macrolides (érythromycine, josamycine, sipramycine,) et les lincosamides (clindamycine) exercent une activité bactériostatique vis-à-vis des staphylocoques et ont de ce fait un usage thérapeutique limité aux les infections peu sévères, dues à ces germes. La résistance aux MLS est due à trois mécanismes **(François JEHL et al, 2003).**

- **La modification de la cible des antibiotiques**

Qui est le mécanisme le plus répandu et confère un spectre de résistance croisé entre macrolides, lincosamides et streptogramines B. d’où son nom de MLSB, car ces antibiotiques ont des sites de fixation communs **(François JEHL et al, 2003).**

- **Les mécanismes d’efflux actif**

Ne touchent que les antibiotiques de structure apparentée. Des macrolides à noyau de 14 et 15 atomes (érythromycine, roxithromycine, clarithromycine, diritromycine, azithromycine) codés par le msr et les streptogramines A codés par le gène *vga*, peuvent subir un efflux actif par mécanismes ATP dépendant alors que les macrolides à noyau de 16 atomes (josamycine et spiramycine), les lincosamides (clindamycine et lincomycine) et les streptogramines B (pristinamycine I et quinupristine) restent actifs car sont non inducteurs **(Rebiahi, 2012).**

- **L’inactivation enzymatique**

Est due à diverses enzymatiques spécifiques. Les lincosamides peuvent être inactivée par une acétylasse codé par une gêne plasmidique *linA*. Les streptogramines sont touchées par une hydrolase codée par le gène *VGB,* le gène *VAT* est responsable d’acétylation des streptogramines A. Ce gène est très souvent associé au gène *VGB* sur le même plasmide **(Rebiahi, 2012).**

2.6.4. Résistance aux quinolones

Les staphylocoques sont naturellement résistants aux quinolones de 1ère génération, mais sont en revanche sensible aux fluoroquinolones **(François JEHL et al, 2003).**

Trois mécanismes de résistance ont été décrits :

- Mauvaise affinité par modification de la cible, l'ADN gyrase. L'acquisition de la résistance est liée à la survenue de mutation chromosomique dans les gènes gyrA et par C qui provoque une provoque une diminution de la liaison des quinolones sur leurs cibles intracellulaires, les complexes ADN-gyrase et ADN-topoisomérase IV. La résistance à cette famille d'antibiotiques est liée essentiellement à la sélection de mutants. La résistance est croisée à toutes les fluoroquinolones.
- Défaut de la pénétration de la paroi bactérienne.
- Efflux **(François JEHL et al, 2003).**

Ces deux derniers mécanismes sont peu fréquents par rapport au premier **(François JEHL et al, 2003).**

2.6.5. Résistance aux glycopeptides

Des résistances sporidiques aux glycopeptides chez les *Staphylocoque*s à coagulase négative sont décrites depuis 1981. Les premières souches décrites avaient un bas niveau de résistance à la vancomycine et à la teicoplanine (CMI 8-16 mg/L). Les souches ultérieurement rapportées, avaient des CMI de l'ordre de 16-64 mg/L à la teicoplanine avec une sensibilité maintenue à la vancomycine. Le phénotype de résistance a été associe à la présence d'une protéine membranaire de 35 22 000-39000 daltons de poids moléculaire chez *s, epidermidis* et *s, haemolyticus* **(François JEHL et al, 2003).**

Quelques souches de *s, aureus* sont intermédiaires à la vancomycine (souche VISA) et ont une résistance croisée à la teicoplanine. Elles ont été isolées de patients ayant reçu de multiples traitements à la vancomycine. Des souches de VISA n'ont pas les génotypes *vanA, vanB, vanC* et le mécanisme de résistance sont encore inconnus. De récents articles ont rapporté des souches de *S, aureus* de sensibilité réduite à la teicoplanine (augmentation de CMI de 8 fois) et la vancomycine (CMI doublée) qui synthèse une nouvelle protéine de 39 000 daltons **(François JEHL et al, 2003).**

2.7. Résistance des *Enterococcus spp* aux antibiotiques

Les *Entérocoque*s se caractérisent par une résistance naturelle aux pénicillines et une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides **(Leclercq , 1997).**

2.7.1. Résistance naturelle aux β-lactamines

L'isolement d'*Entérocoques* responsables des infections nosocomiales et, parmi ceux-ci, la part des souches multirésistantes aux antibiotiques, est en constante augmentation, notamment au cours de phénomènes épidémiques **(Schouten et al, 1999).**

Parmi les souches fréquemment isolées en clinique en France, *E. faecium* possède des CMI50 égales à 8 µg/mL pour la pénicilline G, tandis que pour *E. faecalis*, 100 % des souches ont une CMI < 4 µg/mL **(Mainardi et al ,1996).**

La résistance aux pénicillines chez les *Entérocoques* peut être intrinsèque ou extrinsèque due à des mécanismes acquis.

- **Résistance intrinsèque**

Tous les *Entérocoques* possèdent une *PLP* particulière (*PLP5),* de faible affinité pour les β-lactamines et responsable de CMI des pénicillines dix à 100 fois supérieures à celles retrouvées pour les autres *Streptocoques.* De même, les céphalosporines sont naturellement inactives sur les *Entérocoques* **(Patterson et al ,1988).**

- **Résistance acquise**

- **Production de β-lactamases**

Ce mécanisme a été rapporté en Argentine, au Liban et aux États-Unis et ne concerne à ce jour presque exclusivement qu'*E. faecalis*. Le support de cette résistance est un gène proche du gène *blaZ* codant pour la pénicillinase du SA, exprimé de manière constitutive. Les enzymes sont produites à bas niveau, conduisant à des CMI à la pénicilline comprise entre 4 et 8 µg/mL et des CMI de l'ampicilline entre 2 et 4 µg/ mL. Il est à noter que l'activité des pénicillines sur ces souches est restaurée en présence d'un inhibiteur de β-lactamases. Lorsqu'il existe, ce gène se trouve fréquemment associé à un haut niveau de résistance à la gentamicine **(Patterson et al ,1988).**

- Hyperproduction de la PLP5

Ce mécanisme de résistance est associé à des CMI de la pénicilline G de 8 à 32 µg/mL **(Rybkine et al, 1998).**

- Mutation de la *PLP5*

Ce mécanisme, dû à des mutations survenant près du site actif de la *PLP5* chez *E. faecium*, conduit à des CMI de la pénicilline supérieure à 32 µg/mL chez *E. faecium* par diminution d'affinité de cette *PLP* pour les β-lactamines **(Rybkine et al, 1998).**

2.7.2. Résistance aux macrolides et apparentés

Deux mécanismes sont impliqués dans la résistance de type MLS.

- **Résistance par modification de la cible**

Elle est le fait d'une méthylase codée par les gènes ermA ou ermB. Ces gènes présentent 100 % d'homologie avec les déterminants erm impliqués chez SA et entraînent des phénotypes de résistance MLSB constitutive ou inductible **(Portillo A et al, 2000).**

- **Existence d'un mécanisme d'efflux**

Deux déterminants sont impliqués chez les entérocoques :

– le gène *msrC* : il est retrouvé de manière ubiquitaire chez les *E. faecium*. Ce gène, chromosomique, code pour une protéine impliquée dans l'efflux de l'érythromycine, de la pristinamycine et de la virginiamycine (composé A) **(Portillo et al, 2000).**

– le gène *mef* : ce gène est retrouvé de façon irrégulière selon l'origine géographique des isolats d'entérocoques. Il est analogue au déterminant présent chez les staphylocoques et détermine le phénotype M (**Leclercq, 1997).**

Chapitre III :

Epidémiologie

1. Epidémiologie

1.1. Dans le monde

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a identifié les infections nosocomiales comme une cause majeure d'invalidité et de décès chez les patients. Le taux réel d'infections nosocomiales varie de 5 à 10 % dans les centres de santé moderne des pays développés et jusqu'à 25 % dans les pays en développement, ce qui est environ 2 à 20 fois plus élevé dans les pays en développement que dans les pays développés. Ce taux est principalement dû aux infections du site opératoire (58,2 %), aux pneumonies (26,4 %) et aux infections des voies urinaires (8,8 %) (10), respectivement **(Mohammad Darvishi et al, 2020).**

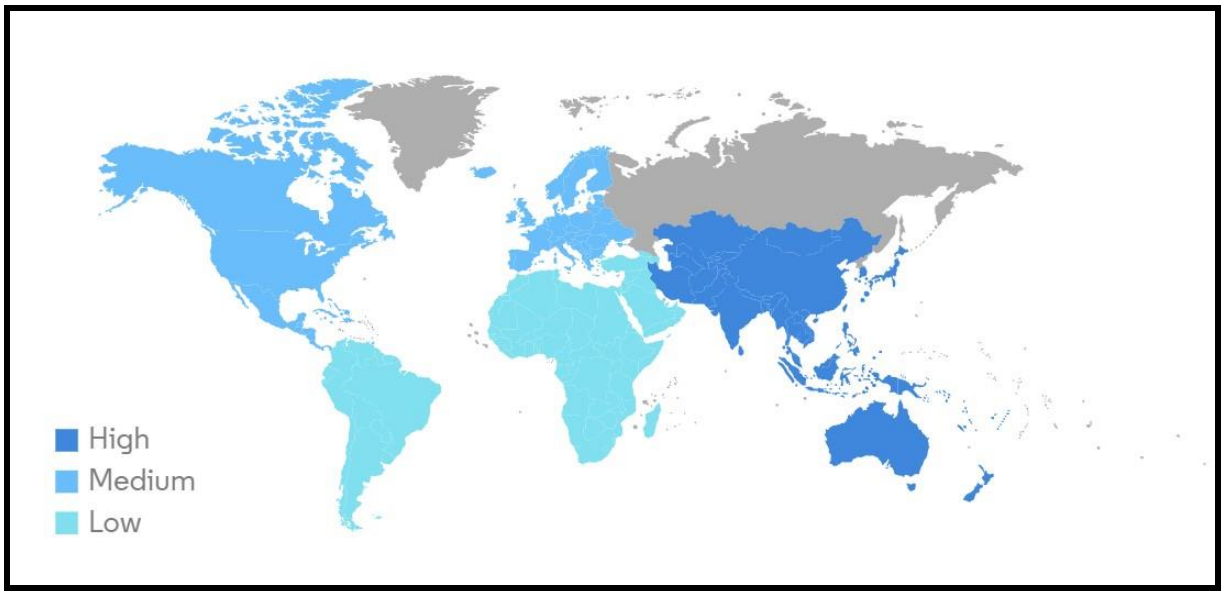


Figure 6: taux de croissance des infections nosocomiales par région (2019-2024) **(mordorintelligence,2021).**

1.2. En Europe

1.2.1. En United Kingdom(UK)

Au cours de la période d'étude, 99 018 adultes ont passé la nuit admissions : 31 655 à l'hôpital général et 67 363 à l'hôpital universitaire. Différents schémas d'incidence des infections nosocomiales ont été observés dans les deux milieux hospitaliers. Au CHU, 87 cas d'infection nosocomiale ont été recensés (0,28 % des admissions) et 996 au CHU (1,48 % des admissions**) (Stewart et al, 2021).**

Les types d'infections nosocomiales les plus fréquemment identifiés dans les deux hôpitaux étaient les infections des voies urinaires, suivies des infections du sang. Les

infections des voies respiratoires (pneumonie), d'infection du site opératoire **(Stewart et al, 2021).**

Micro-organismes isolés chez des patients atteints d'infection nosocomiale :

Parmi les infections nosocomiales signalées, 96,6 % avaient un organisme isolé, avec 118 espèces différentes identifiées. Au total, 1 314 organismes ont été isolés à partir de 1 083 infections nosocomiales. Dans l'ensemble, l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée était :

Les bactéries	Pourcentage
E. coli	18.42 %
Klebsiella spp	6.93 %
Proteus spp	3.12%
Psodomonase spp	2.05 %
Acinetobacter spp	0.38 %
S. aureus	10.81 %
Enterococcus spp	11.08 %

Tableau VII: Répartition des germes responsables des infections nosocomiales **(Stewart et al, 2021).**

Des *S. aureus* résistants à la méthicilline (selon la résistance à l'oxacilline) ont été observés dans 7,1 % des *S. aureus* isolés de infection nosocomiale et Pour les *Enterococcus faecalis* e sont résistantes à la Amoxicilline 14 % et 18% pour Vancomycine.

Pour les entérobactéries sont résistantes pour les β-lactamine et pour la souche de *Pseudomonas spp* sont sensible à la Ciprofloxacine **(Stewart et al, 2021).**

1.2.2. En France

Les infections urinaires, les infections du site opératoire, les pneumonies et les bactériémies représentaient 71,5% des sites infectieux documentés, soit une prévalence des infections égale à 3,72% **(Côme Daniau et al, 2020).**

Le tableau suivant représente Pourcentage d'organismes identifiés par type d'infection nosocomiale :

Tableau VIII: Répartition des germes responsables des infections nosocomiales **(Côme Daniau et al, 2020).**

Les bactéries	Pourcentage
E. coli	23.6 %
Klebsiella spp	6.8 %
Enterobacter spp	4.8 %
Proteus spp	2.9 %
P. aeruginosa	6.3 %
S. aureus	13.8 %
Enterococcus spp	11.8%

Parmi les souches de *S. aureus* testées, 27,2% étaient résistantes à la méticilline.

Pour les entérobactéries, 22,5% des souches testées étaient résistantes aux céphalosporines de 3e génération (C3G) Cette PPI à entérobactéries résistantes aux C3G est restée stable entre 2017 et 2012 et Sur l'ensemble des souches d'entérobactéries testées, 15,3% étaient productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE). Cette prévalence a augmenté en 2017 par rapport à 2012**(Côme Daniau et al, 2020).**

1.3. En Afrique

1.3.1En Mali

La prévalence des infections nosocomiales a été plus élevée dans médecine interne (32%), réanimation (25%) et les spécialités médicales (13,3%) que dans les spécialités chirurgicales (11,4%) **(Thaïs Andréna, 2020).**

Les principaux microorganismes isolés ont été les entérobactéries. *E. coli* et *Klebsiella spp* ont été les principales bactéries isolées sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau IX: Distribution des germes responsables d'infections nosocomiales **(Thaïs Andréna, 2020).**

Les bactéries	Pourcentage
E. coli	29.6 %
Klebsiella spp	20.3 %
Enterobacter spp	7.49 %
P. aeruginosa	9.3 %
S. aureus	3.7 %
Enterococcus spp	3.6 %

Pour les entérobactéries sont plus actifs pour la colistine et l'amikacine et résistantes pour les β-lactamine et les restes antibiotiques **(Thaïs Andréna, 2020).**

La colistine, l'amikacine et le chloramphénicol ont été les antibiotiques les plus actifs sur *Acinetobacter baumannii* et les autres sont résistants **(Thaïs Andréna, 2020).**

Toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été sensibles à la ceftazidime, à la gentamicine, à l'amikacine et à la ciprofloxacine et résistante pour les restes antibiotiques.

Pour les *Enterococcus spp* sont résistantes pour tous les antibiotiques et sensible uniquement à la gentamicine **(Thaïs Andréna, 2020).**

1.3.2 En Maroc

Prévalence des infections nosocomiales :

Selon les sites anatomiques, les bactériémies/ septicémies étaient les plus fréquentes (28,6%), suivies par les infections du site opératoire (23,8%), les infections pulmonaires 22,2%, puis les infections urinaires avec 17,4%**(MOHAMED SIBOUB, 2018).**

Les principaux micro-organismes isolés étaient : *E.coli* dans 30% des cas, suivi du Staphylococcus aureus dans17%**(MOHAMED SIBOUB, 2018).**

Tableau X: Distribution des germes responsables d'infections nosocomiales **(MOHAMED SIBOUB, 2018).**

L'année / **Les bactéries**	**2018**

E. coli	30.43 %
Proteus spp	2.18 %
Klebsiella spp	10.86 %
Enterobacter spp	2.18 %
P. aeruginosa	15.22 %
S. aureus	17.39 %
Enterococcus spp	6.52 %

Pour *Escherichia coli*, le tableau suivant représente la résistance aux différents antibiotiques :

Tableau XI: profil de résistance d'*E, coli* **(MOHAMED SIBOUB, 2018).**

Antibiotique	**Résistance (%)**
Amoxicilline	90
C3G	36,3
Fluoroquinolones	50
Imipénèmes	0
Triméthoprime-sulfamétoxazole	50
Gentamicine	20

Pour *Klebsiella spp*, le tableau suivant représente la résistance aux différents antibiotiques :

Tableau XII: profil de résistance de *Klebsiella spp* **(MOHAMED SIBOUB, 2018).**

Antibiotique	**Résistance (%)**
Amoxicilline	100
C3G	25
Fluoroquinolones	0
Imipenèmes	0
Triméthoprime-sulfamétoxazole	0
Gentamicine	33,3

Pour *Pseudomonas aeruginosa* : la résistant à la Ceftazidime était de 28,5%.Toutes les souches étaient sensibles à l'Amikacine.

Pour *Staphylococcus aureus* : la résistance à la Méticilline était de 12%(1/8). Toutes les souches étaient sensibles aux Glycopeptides **(MOHAMED SIBOUB, 2018).**

Pour *Enterococcus sp*: la résistance à l'Amoxicilline était de 33% **(MOHAMED SIBOUB, 2018).**

Chapitre IV :

MATERIEL ET METHODES

1. OBJECTIFS

1.1. Objectif principale

Le but de notre travail est l'isolement et l'identification des bactéries responsables d'une infection nosocomiale et l'étude de la biorésistance à partir des patients hospitaliers.

1.2. Objectifs spécifiques

-La détermination de l'incidence des infections nosocomiales à l'hôpital de Médéa.

- l'identification des bactéries responsables d'infection nosocomiale dans les différents types de prélèvements au laboratoire.

-La détermination de profil de résistance des germes responsables de l'infection nosocomiale.

- la comparaison aux résultats antérieure.

2. Modalités pratiques de l'étude d'incidence

2.1. Type d'étude et lieu de l'étude

Il s'agit d'une étude exhaustive s'étalant sur (1er janvier 2022-30 avril 2022) a été realisee au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Mohamed Boudiaf de Médéa.

2.2. Description du lieu de l'étude

L'unité de bactériologie comprend une seule salle et exerce un effectif composé de personnel médical : un médecin (assistante en microbiologie), et paramédicale : deux laborantines de santé publique et une biologiste principale et trois personnes travaillent à tour de rôle.

2.3. Critères d'inclusion et critères d'exclusion

Nous avons inclus dans l'étude, tous les patients qui ont une infection nosocomiale a partir de l'ensemble des patients hospitalisée au niveau des services de l'hôpital ont visé diagnostique nous avons exclu tous les prélévements des patientes externes et hospitalisee hors le delai de notre étude.

2.4. Collecte de données

Au total (441) échantillons qui ont été collectes à partir des deux sexes,de différents âges et de différents services.

2.5. Technique de collecte des données

Deux techniques de collecte des données ont été utilisées:

1-L'exploitation les registres des services et les dossiers des malades.

2-L'entretien avec le personnel de l'hôpital.

2.6. Les variables recueillies sont

- Le sexe des patients, date d'hospitalisation.
- durée de séjour**,** facteurs de risque liés au malade.
- La nature des prélèvements.
- Les espèces identifiées.
- Les résultats des tests de résistance aux antibiotiques.

3. Matériel et méthodes

3.1. Matériel

Tableau XIII: matériels utilisés durant les manipulations

Matérielle de travail	Milieux de culture	Les réactifs et les colorons
Deux étuves l'une de grande taille et l'autre de taille moyenne Réfrigérateur Deux microscopes Les lames et lamelles Portoir Pipette Pasteur Deux becs de bunsen avec des conduits de gaz Anse calibrée L'eau distillée et l'eau physiologique Boîtes pétries Becher Lavabo Les antibiotiques Bandelettes urinaires Api 20 E Agitateur "vortex" Densitométre	**solide** Gelose nutritive Gelose au sang Gelose hektoen Gelose chapman Gelose chromagar **liquide** Flacon d'hémoculture (aero-anaérobie)	-L'alcool -Violet de Gentiane - Lugol - Fuchsine - Huile de cèdre - Réactifs de Kovacs Vosges Proskauer (VPI, VPII) - Réactif de TDA

3.2. Méthodes

3.2.1. EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUES DES URINES "ECBU"

3.2.1.1. Prélèvements

Le prélèvement est le premier point critique susceptible d'influer sur le résultat de l'ECBU du fait de la présence d'une colonisation de l'urètre et des voies génitales externes par une flore commensale **(Ouakhzan, B ,2011).**

- **cas général habituel :"milieu de jet"**

• On prélève les urines du matin ou des urines ayant séjourné au moins 3 heures dans la vessie. L'échantillon d'urine à analyser est celui du milieu du jet du fait de sa représentativité de l'urine vésicale normalement stérile.

• Le mode de recueil de l'échantillon d'urine doit se faire après lavage hygiénique des mains et toilettes soigneuses du méat et de la région vulvaire (chez la femme).

• Les premiers jets (20 ml) d'urines sont éliminés et ne sont recueillis que les 20 à 30 ml suivants dans un flacon stérile, en évitant de toucher le bord supérieur du flacon.

• Fermer le flacon hermétiquement et porte immédiatement au laboratoire accompagné de la prescription **(STPI, 2016).**

- **Prélèvement par sondage**

Chez les malades sondés l'urine ne sera prélevée par ponction directe dans la sonde, après désinfection du site spécifique du dispositif de sonde mais jamais à partir du sac collecteur.

- **Chez le nourrisson**

Chez le nourrisson sans miction volontaire (aussi le jeune enfant jusqu'à 2 ans) après un nettoyage soigneux de la région périnéale, un poche plastique collecteur stérile sera fixé au moyen d'un adhésif et doit être enlevé dès l'émission des urines sinon il faut le changer à chaque 30 minutes **(Bonacorsi, 2016).**

3.2.1.2. Conservation et transport

Les urines recueillies doivent être acheminées rapidement au laboratoire. Néanmoins, elles peuvent être conservées à +4°C pour une durée maximale de 2 heures le flacon doit être placé dans une glacière ou réfrigérateur.

Utilisation des tubes boratés (contient l'acide borique) qui permet la conservation de l'échantillon jusqu'à 48 h à température ambiante.

3.2.1.3. Diagnostic bactériologique

3.2.1.3.1. Examen biochimique

- **But**

La chimie des urines est un test d'orientation permet la détection rapide des changements de multiples paramètres biologiques facilitant diagnostic.

- **Principe de la méthode**

Dans notre étude les bandelettes réactives d'analyse urinaire ont été utilisées **"SARL king diagnostics "** ce sont des bandelettes en plastique portant des plages (zones de réactifs) dont la variation de la couleur indique la présence ou non,, en se référant à une échelle colorimétrique fournie par le fabricant (le plus souvent collée sur la boîte portant les bandelettes) .

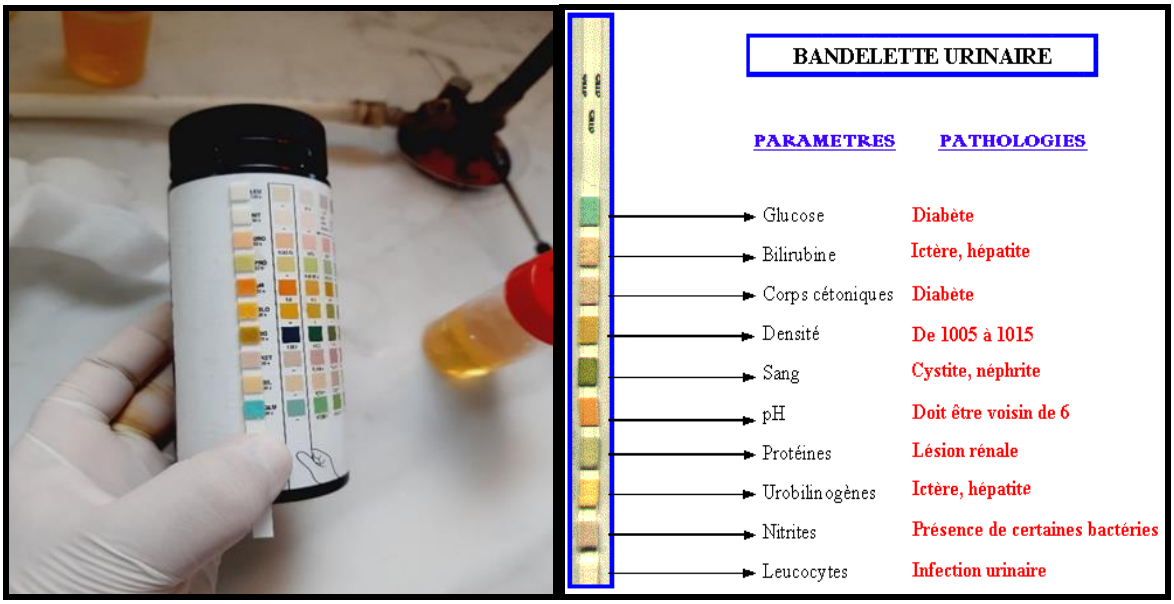


Figure 7 :L'échelle colorimétrique de référence des bandelettes réactives **(photo originale).**

- **Mode d'utilisation**

  - Tremper la bandelette réactive complètement dans l'urine.
  - Laisser régir quelques secondes.
  - -Lire en comparant les plages avec l'échelle colorimétrique.

- **Lecture**

La lecture peut se faire visuellement en comparant la bandelette avec la gamme colorimétrique indiquée sur l'emballage ou à l'aide d'un instrument spécifique.

- Après 1 minute, lire les résultats pour les nitrites, le PH, les protéines, le glucose, les corps cétoniques, l'urobilinogène, la bilirubine et le sang.
- Après 2 minutes, lire le résultat pour les leucocytes.

3.2.1.3.2. Examen macroscopique

Après avoir homogénéisé l'urine par retournement du tube, on note:

- **Aspect :** à l'état pathogène habituellement trouble, légèrement trouble ou hémorragique, en conditions normales l'urine présente un aspect clair.
- **L'odeur :** à l'état normal l'odeur est due à des composées volatiles existant à doses très faibles. Certains aliments peuvent ajouter leurs odeurs à celle de l'urine. À l'état pathologique, il y a apparition de substances volatiles, d'odeur anormale dans les urines **(Seddiki ,2007).**

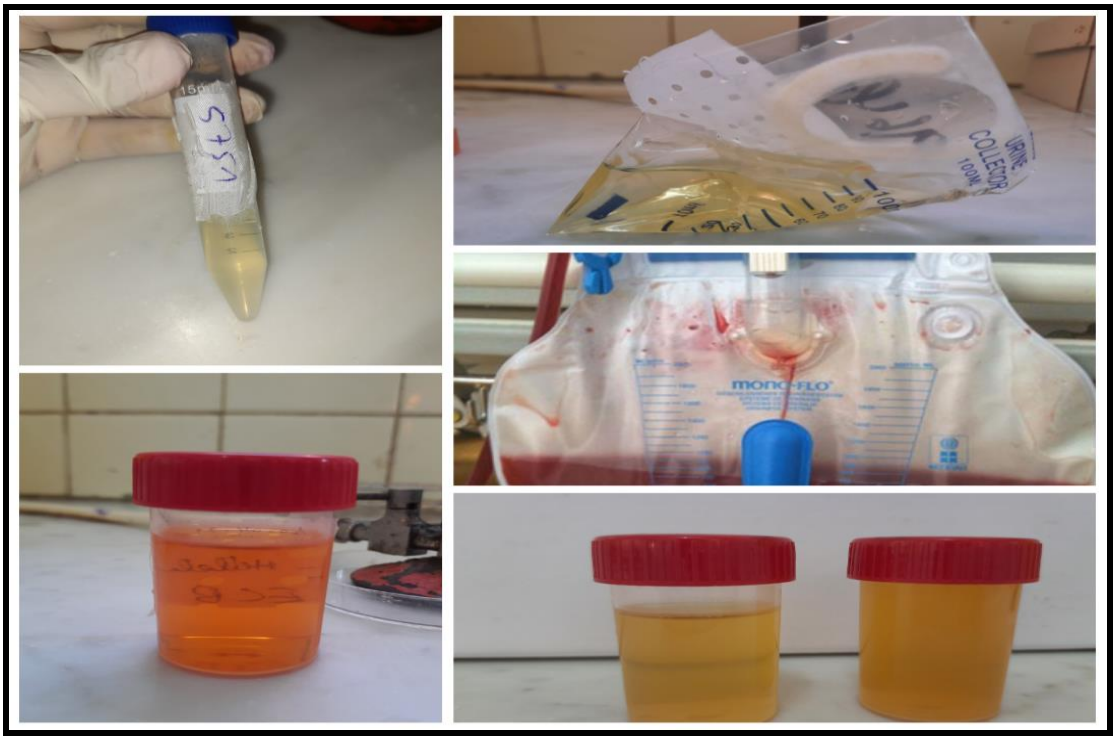


Figure 8 : Les différents aspects macroscopiques de l'urine **(photo originale).**

3.2.1.3.3. Examen microscopique

3.2.1.3.3.1'examen cytologie

Cette analyse est pour but d'apprécier de façon quantitative et qualitative la présence d'éléments figurés (leucocytes, hématies, cellules épithéliales, cristaux et levures) et de bactéries dans les urines. Cet examen est réalisé après avoir bien homogénéisé l'échantillon

de l'urine, en déposant à l'aide d'une micropipette (10 µl) une goutte d'urine étendue entre une lame de Malassez ou Nageotte et la lamelle, puis examiner sous microscope à l'objectif X 40.




Figure 9 :Examen cytologique d'urine sur cellule Nageotte **(photo originale).**

- **Examen quantitatif (dénombrement)**

L'examen quantitatif permet de dénombrer les cellules présentes dans l'urine d'une façon précise, en particulier les leucocytes et les hématies. Dans cet examen on va effectuer une numération cytologique sur une cellule soit de Mallassez soit de Nageotte.

Le seuil significatif pour les leucocytes est : $\geq 10^3$ cellules / ml parfois en amas.

- **Examen qualitatif :** il peut montrer la présence ou l'absence de divers types des cellules :
  - **Les cellules épithéliales :** elles proviennent des tubules rénaux ou des vois excrétrices. Elles sont 0.5 à 3 fois plus grandes qu'un leucocyte et ont noyau de grande taille et arrondi. Leur présence est le résultat du renouvellement normal de l'épithélium. Les cellules d'origine vaginale signent une contamination.
  - **Les hématies** : ont un aspect biconcave.
  - **Les leucocytes :** se divisent, selon l'aspect du noyau. Ils sont souvent isolés ou groupés en amas ou altérés.
  - **les cylindres :** Ils représentent des agglomérats de protéines et de cellules rénales (tubules rénaux) il s'agit des cylindres hyalins.
  - **les cristaux :** sont des constituants ne sont pas pathologiques présentes dans l'urine (acide oxalique, acide urique ou urate, sels de calcium). seuls les cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien ont un intérêt dans le diagnostic d'une infection urinaire.

Et Les levures et les bactéries ….ect.

Cet examen est réalisé après avoir bien homogénéisé l'échantillon de l'urine, en déposant à l'aide d'une micropipette (10 µl) une goutte d'urine étendue entre une lame de Malassez ou Nageotte et la lamelle, puis examiner sous microscope à l'objectif X 40.

3.2.1.3.3.2. Mise en culture

La culture bactérienne pour objectif d'isoler les différentes bactéries, C'est méthode qui permet une identification exacte des microorganismes présents dans les prélèvements.

Durant notre stage, nous avons utilisé le milieu : Chromagar Orientation, gélose nutritive, Chapman, hektoen et la gélose au sang pour l'isolement.



Figure 10 : Les différents milieux de culture utilisés pour l'isolement des germes responsables des infections nosocomiale **(photo originale).**

- **Les méthodes d'ensemencement et dénombrement des microorganismes** : - L'analyse quantitative de la bactériurie peut être réalisée soit par :

- **Méthode originale de Kass " technique standard"**: "méthode de référence " on fait des dilutions en série de 10 en 10. Un volume connu de chaque dilution est étale sur une boîte de Pétri.
- **Méthode de la lame immergée** : on plonge dans l'urine fraichement émise une lame portant des milieux nutritifs généralement MacConkey **(BELADZAR, CHERKI ,2021).**
- **Méthode de l'anse calibrée** : cette méthode est actuellement la plus utilisée. L'urine est prélevée a l'aide d'une anse de 10 µl et est ensemencée selon une méthode standardisée qui permet (annexe 05), grâce à un abaque, de convertir l'aspect de la culture en UFC par

millilitre, et ce sans dénombrement. Cette méthode simple, sans dilution préalable, permet une numération de 103 a 106 UFC/ml tout en permettant l'obtention de colonies isolées.

Dans notre étude, on a utilisé la technique de l'anse calibrée pour dénombrer les colonies.

- **Avantage**
  - Simplifie la technique de Kass en évitant les dilutions de l'urine.
  - Cette technique permet de bien séparer les colonies pour ensuite bien les compter. Diminution du coût **(Djennane et al, 2009)**

3.2.2. EXAMEN BACTERIOLOGIQUE DE PUS

3.2.2.1. Prélèvement de pus : Les échantillons ont été recueillis sur deux écouvillons stériles dont l'un sert à faire le frottis pour la coloration de Gram + bleu méthylén et l'autre pour l'ensemencement sur des milieux de culture appropriés.

3.2.2.2. Transport : Les échantillons sont envoyés au laboratoire accompagne de la feuille de demandé d'examen dans un délai très bref (moins de 30 minutes).

3.2.2.3. Examen macroscopique : On notait la consistance, la couleur, l'aspect, ainsi que la viscosité du pus.

- **Le pus pouvait être :** épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non, fluide ou séreux.
- **La couleur** : varie de la teinte chocolat au blanc, certains pus sont verdâtres ou bleutés.



Figure 11 : Aspect de prélèvement de pus par une seringue à gauche et par un écouvillon à droite **(photo originale).**

3.2.2.4. Mise en culture

Isolements sur différents milieux : Chromagare Orientation, milieu gelose nutritive, Chapman, hektoen et la gélose au sang.

Une goutte de pus en déposé sur la surface de la gélose à ensemencer ou bien on frotte le bout de l'écouvillon sur une partie de la surface de cette gélose, avec une pipette fermée et stérile.

3.2.3. EXAMEN BACTERIOLOGIQUE D'HEMOCULTURE

3.2.3.1. Prélèvement

Il est impératif de limiter la contamination microbienne du prélèvement de sang.
Les principales étapes sont les suivants :

- Désinfection de l'opercule des flacons d'hémocultures et du point de ponction avec un antiseptique.
- Lavage ou désinfection des mains du préleveur. -Port des gants. -Ne plus palper la veine après cette étape.
- Prélever le sang.
- introduire le sang prélevé dans les flacons d'hémoculture de 10 à 100 ml du milieu nutritif citraté l'un aérobie et l'autre anaérobie.

➢ **Quantité de sang prélevé**

Adulte : 100ml /flacon.
Enfant : 10 ml /flacon.

3.2.3.2. Transport

Les flacons d'hémoculture doivent être envoyés au laboratoire le plus rapidement possible, les flacons doivent être incubés dès leur arrivé pour permettre la continuation de la croissance bactérienne à 37°c. Les flacons d'hémoculture doivent être accompagnés d'une fiche de renseignement : Nom et Prénom,Age, Signes cliniques, Service .

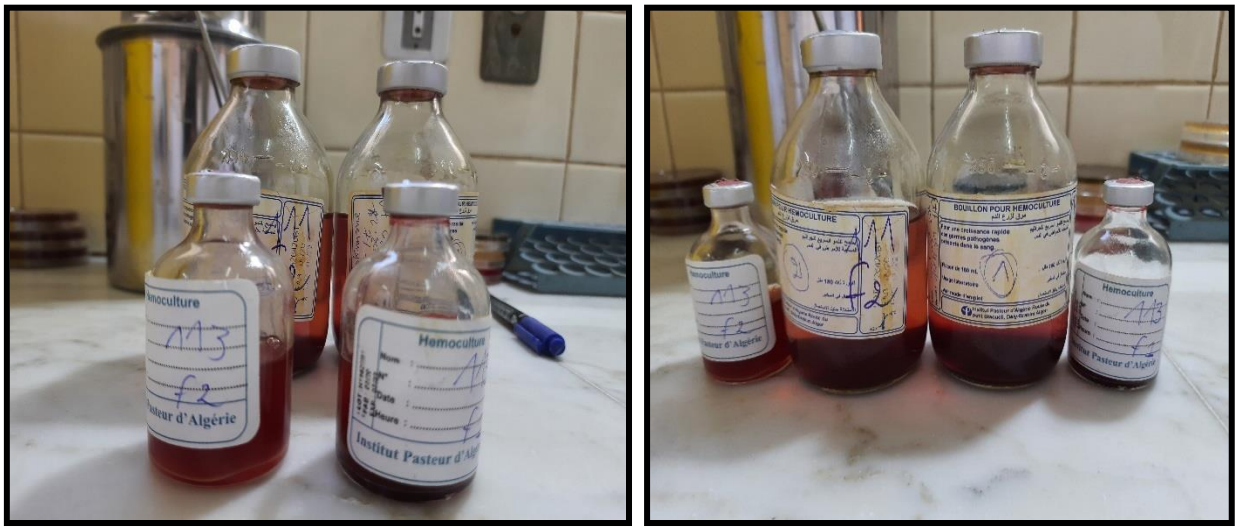


Figure 12 : Le prélèvement de sang **(photo originale).**

Les hémocultures sont incubées immédiatement à 37°C. (Une fiche de renseignements cliniques doit impérativement accompagner les flacons vers le laboratoire). Elles sont incubées 7 à 10 jours.

3.2.3.3 La subculture des hémocultures (isolement)

Il est classique pour une même hémoculture d'ensemencer deux flacons, l'un incubé en aérobiose et l'autre en anaérobiose. Les flacons d'hémoculture l'isolement et l'identification des agents infectieux sont réalisés à partir d'un échantillon prélevé par ponction à la seringue, de chaque flacon.

- **Milieu d'isolement**

Il convient de choisir un milieu spécifique qui permet la croissance de microorganismes à culture délicate.

- **La Gélose au sang (GS)**

Est un milieu riche car il contient des facteurs de croissance variés par la présence

D'un mélange de peptones. Il est constitué de là Gélose Mueller Hinton additionnée de 10 % de sang frais.

- **Autres milieux**

Pour confirmer l'orientation de l'identification et pour un meilleur isolement, on utilise des milieux sélectifs tels que le milieu Chapman, milieu Hektoen ...etc.

3.2.3.4. Mise en culture

On pose, aseptiquement, une goutte de sang dans le milieu spécifique (**GS).** Puis, on ensemence par la pipette pasteur boutonnée en faisant des stries fines et très serrées puis des stries larges et éloignées.

Enfin, on introduit la boite ensemencée dans une jarre à bougie sous 3 à 5 % de CO2 et saturée d'humidité **(**favoriser la croissance des bactéries exigeantes en CO2 et les bactéries aéroanaérobies facultatives). Une jarre spécifique fermée hermétiquement créant l'anaérobiose est utilisée en cas de suspicion de bactéries anaérobies strictes, l'incubation dure 24h.

Et de la même manière d'encensement avec les autres milieux de culture. Le laboratoire utilise du sang humain pour préparer les géloses au sang.

3.3. Examen bactériologique

3.3.1. Examen direct à l'état frais

Permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de regroupement, et de leur mobilité

- **Protocole**
  - Déposer aseptiquement sur une lame porte objet propre une goutte d'eau physiologique.
  - Prélever à l'aide d'une pipete pasteur stérile une colonie à partir du milieu gélosé, la dissocies dans la goutte d'eau, puis recouvrir d'une lamelle en évitant la formation des bulles d'air.
  - Observer à l'objectif x 10 puis x 40



Figure 13 : Préparation de l'état frais sur une lame **(photo originale).**

3.3.2. Coloration de Gram

- **Réaliser un frottis**
  - On prélève une colonie bien isolée à partir de la culture à étudier et on la pose sur une lame propre.
  - Placer une goutte d'eau distillée stérile sur la lame, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile on l'étale par un mouvement circulatoire.
  - Le frottis doit être mince homogène, ensuite sécher et fixer le frottis à la chaleur par le passage 3 fois sur la flamme du bec Bunsen.
- **Mode opératoire**
  - Recouvrir le frottis avec du violet de gentiane et laisser agir 1min Rincer avec l'eau de robinet.
  - Recouvrir la lame avec du lugol et laisser agir 30 secondes Rincer avec l'eau de robinet .
  - Recouvrir la lame d'alcool pendant 5 à 10 secondes Rincer avec l'eau de robinet .
  - Recouvrir la lame par la fuchsine pendant 30 secondes à1 min Rincer avec l'eau de robinet une dernière fois.
  - La sèche entre deux feuilles de papier filtre et Examiner au microscope optique à l'immersion (objectif x 100).



Figure 14 : coloration de gram **(photo originale).**

- **Lecture**
  - Les bactéries colorées en violet sont des bactéries à Gram positif.
  - En revanche, les bactéries colorées en rose sont des bactéries à Gram négatif.

3.3.3. Identification biochimique de tous les germes isolent

3.3.3.1. Recherche de la catalase

- **Principe**

La catalase est une enzyme qui décompose le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) en molécule d'eau et oxygène selon la réaction de catalase suivante :

$$2\ H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

- **Mode opératoire**

Déposer sur une lame propre une goutte d'eau oxygénée puis ajouter une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur bien étalée

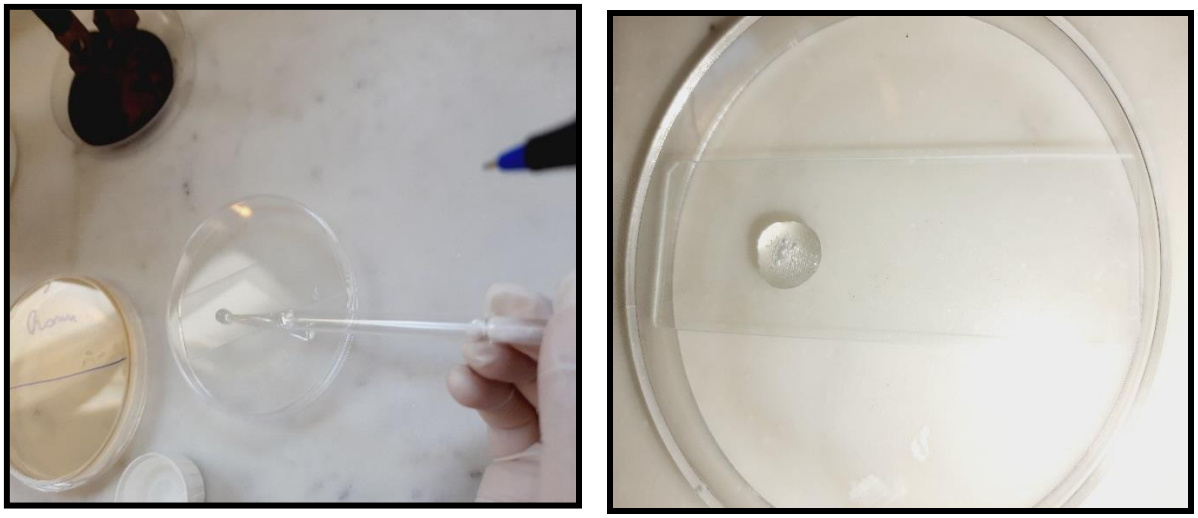


Figure 15: Test de catalase **(photo originale).**

- **Lecture**
  - L'apparition de dégagement des bulles de gaz traduit par la présence de l'enzyme catalase. Elle est dite : catalase (+).
  - Par contre l'absence du dégagement gazeux signifie l'absence de l'enzyme. Elle est dite : catalase (-)

3.3.3.2. Recherche de l'oxydase

C'est un test fondamental pour l'identification des bacilles à Gram négatif. Il permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl paraphénylène diamine pour former un composé coloré en violet « l'indophénol ».

- **Mode opératoire**

- Déposer un disque pré-imprégné par le Réactif N diméthyl paraphénylène diamine sur une lame propre.
- Déposer une colonie bien isolée à l'aide d'une pipette Pasteur sur ce disque.
- Ecraser une colonie de germes à étudier sur ce disque à l'aide une effilure de pipette Pasteur pendant 10 secondes.

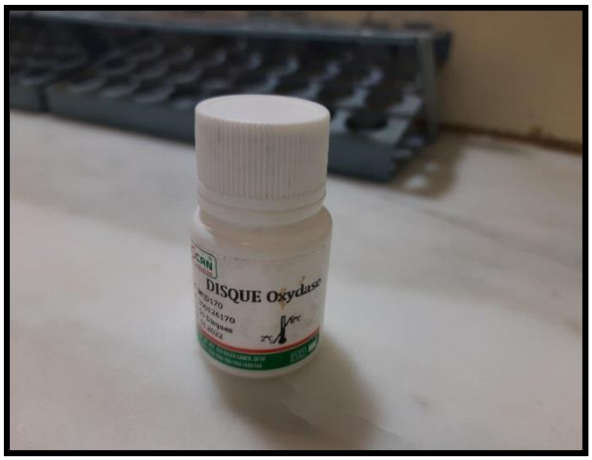




Figure 16: Test d'oxydase **(photo originale).**

- **Lecture**
  - L'apparition une tache violette Le germe possède une oxydase : le test est positif.
  - Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase : le test est négatif

3.3.3.3. Test coagulase

La coagulase est une enzyme capable de coaguler le plasma sanguin. Il permet la mise en évidence de la staphylo-coagulase. Ce test est utilisé pour l'identification des staphylocoques.

- **Mode opératoire**
  - Dans un tube à hémolyse stérile, déposer 1 ml de plasma sanguin puis additionner 1ml d'une suspension bactérienne de la souche à étudier.
  - Bien homogénéiser le tube puis incuber à 37°C pendant 2 à 3 heures.
- **Lecture**

La réaction est considérée comme positive lorsque le plasma est coagulé, donc le fibrinogène a été transformé en fibrine, cela permet de confirmer que le germe est un *S. aureus.* Dans le cas contraire, la bactérie est une espèce autre que *S. aureus*.

3.3.4. Identification par galerie biochimique API 20E

API20E c'est un système miniaturisé et standardisé des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries à Gram négatif, dont les entérobactéries**.**

Il est composé de 20 microtubes contenant un substrat déshydraté pour réaliser 20 tests biochimiques miniaturisés. On inocule chaque tube avec la suspension bactérienne à identifier **(AZIZI et al, 2019).**

- **Mode opératoire**

- **Préparation de la suspension bactérienne**

L'inoculum est réalisé à partir d'une culture pure : on a été prélevé une colonie bien isolée (2 à 3 colonies identiques) sur milieu gélosé à l'aide d'une pipette Pasteur, la déposer sur les parois d'un tube contenant de l'eau physiologique (3 ml) pour dissocier la colonie, puis agitée manuellement (ou bien à l'aide d'un vortex).

- **Inoculation de la galerie**

- Mettre 3 ml de l'eau physiologique dans le fond de la boite afin de créer une atmosphère humide.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL, avec la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur (ou bien une seringue).
- Remplir uniquement les tubes des autres tests (et non les cupules).
- Pour les tests nécessitant l'anaérobiose : ADH, LDC, ODC, URE, H2S en ajoutant une goutte d'huile de paraffine.
- Refermer la boite, puis écrire le numéro de patient. Incubation à 37C° pendant 18à 24h.



Figure 17 : la galerie API 20 E "avant incubation" **(photo originale).**

Après incubation, on note sur la fiche de résultat, toutes les réactions spontanées. La révélation des trois TDA, VP et indole est faite par l'ajout des réactifs nécessaires (TDA, VP1, VP2 et KOVACS).

3.3.5. L'antibiogramme

Lorsqu'une bactérie est isolée à partir d'un prélèvement, sa sensibilité aux antibiotiques doit être recherchée. Ce test est capital, il permet de choisir un antibiotique adéquat pour le

traitement. La détermination de l'activité des antibiotiques est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose (Mueller Hinton).

- **Milieu pour antibiogramme**

Il doit être coulé en boites de Pétri sur une épaisseur de 4 mm.

Les géloses doivent être séchées avant l'emploi **(RAHAL, K ,2020).**

- **Méthode de diffusion des disques**

Les méthodes de diffusion en gélose sont des méthodes qualitatives, elles consistent à déposer un ou plusieurs antibiotiques sur une gélose préalablement inoculée avec une souche bactérienne. L'antibiotique diffuse dans la gélose. Après incubation on observe autour des antibiotiques une zone d'inhibition de la croissance bactérienne. En mesurant le diamètre de cette zone d'inhibition, on peut déterminer la sensibilité de la souche à l'antibiotique **(RAHAL, K ,2020).**

- **Préparation de l'inoculum**

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement approprié, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été raclé à l'aide d'une pipette pasteur, la pipette ou l'écouvillon a été bien déchargé dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile à 0.9%.Puis la suspension bactérienne a été bien homogénéisée. Son opacité doit être équivalente à 0.5Mac-Farland **(RAHAL, 2020)**

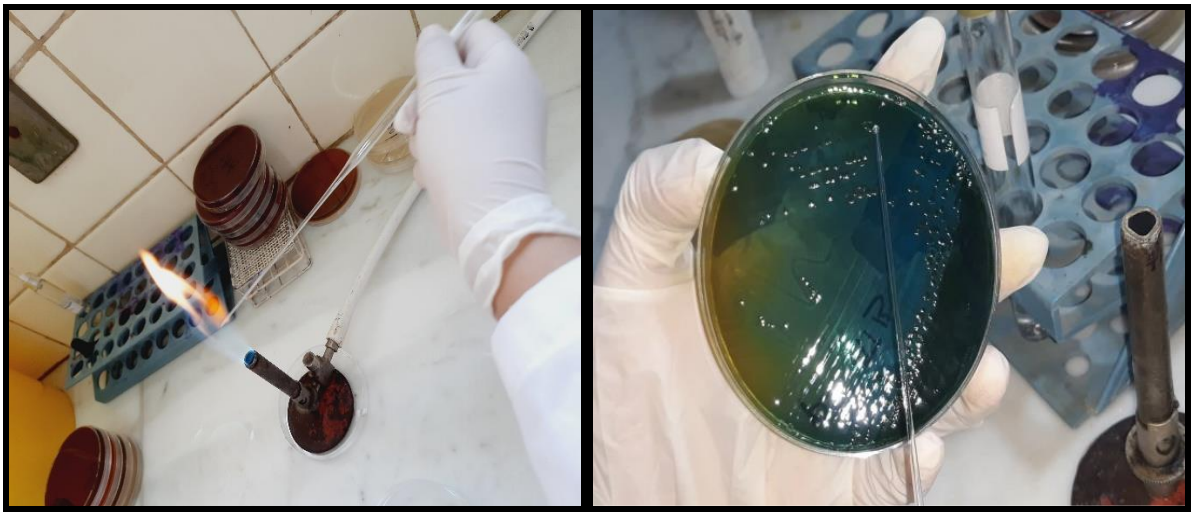


Figure 18: Préparation de l'inoculum à partir d'une colonie isolée pour la réalisation de l'antibiogramme **(photo originale).**

- tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- l'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- répéter l'opération deux fois, en tournant la boite de 60° a chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boites de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois **(RAHAL, 2020)**

➢ **Application des disques d'antibiotiques:** Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boite de 90 mm :

- Pour les bactéries exigeantes (*Streptococcus spp. Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Hémophiles spp*…..), ne pas mettre plus de 4 disques par boite de 90 mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application (**RAHAL,2020)**

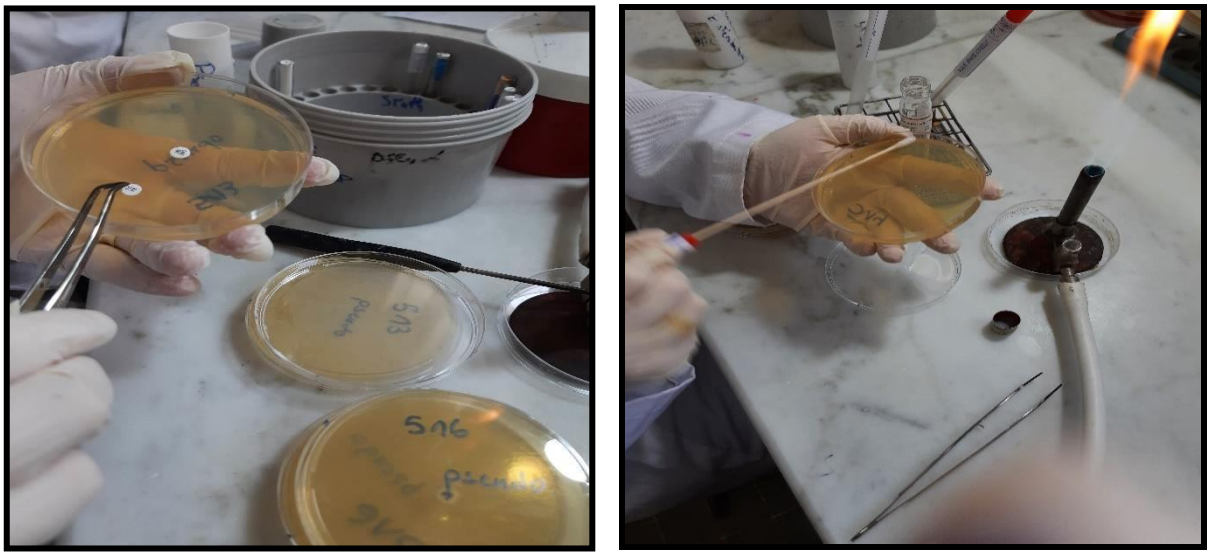


Figure 19 : Ensemencement et application du disque d'antibiotique sur milieu Muller Hinton **(photo originale).**

➢ **Conditions d'incubation**

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie **(RAHAL, 2020).**

Chapitre V :

Résultats et discussions

1. Résultats

Sur 441 malades admis pendant la période d'étude (du 1er janvier au 30 avril 2022), ont séjourné pendant au moins 48 heures. Sur malades 62 (14.05%) ont eu au moins une infection nosocomiale.

1.1. Répartition des patients selon le sexe

Représentation graphique présente de la répartition des patients par sexe au cours des quatre premiers mois des quatre dernières années (2019-2022) au niveau de l'EPH de Médéa



Figure 20 : Répartition des patients par sexe au cours des premiers quatre mois des dernières quatre années (2019-2022) au niveau de l'EPH de Médéa.

La population étudiée était composée de 441 ayant une infection nosocomiale répartie sur les services de l'EPH de Médéa, au cours des premiers quatre mois des dernières quatre années (2019-2022).

La prédominance féminine est évidente sur les hommes durant cette période (2019-2020) avec un pourcentage de (61%) pour les femmes et (39%)pour les hommes, puis le nombre des infections chez la femme a été augmenté en 2021 (70%) et Il est resté presque le même pour les hommes (30%).

À l'exception de 2022, nous avons constaté une augmentation du nombre d'hommes (46%) et une diminution du pourcentage de femmes (53%) par rapport aux années précédentes.

1.2. Répartition selon les prélèvements cliniques

Représentation graphique présente la répartition des infections nosocomiales selon les prélèvements cliniques réalisées au sien des différents services de l'EPH de Médéa.

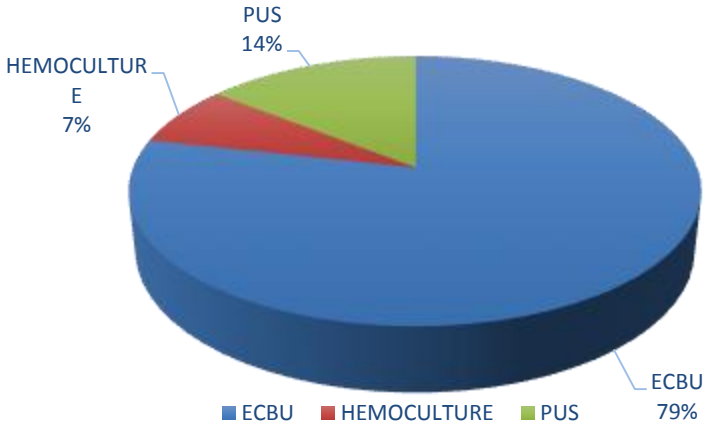


Figure 21: Répartition des infections nosocomiales selon les prélèvements cliniques.

D'après cette représentation graphique on obtient que : les infections urinaires aient occupé la première place avec une prévalence (79%) suivie par le pus de fréquence (14%) et finalement hémoculture (7%).

1.3. Répartition selon le service

La répartition des patients ayant une infection nosocomiale distribuée dans les différents services de l'hôpital de Médéa les différents services de l'EPH de Médéa durant les premiers 4 mois de 2022.

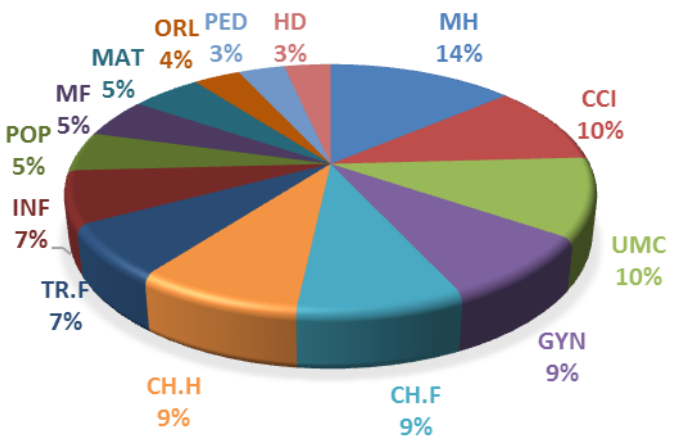


Figure 22: Répartition des patients dans les différents services de l'EPH de Médéa durant les premiers 4 mois de 2022.

La prévalence des patients a été plus élevée chez la spécialité médecine homme, le centre de chirurgie infantile, Urgences Médico- Chirurgicales avec un taux varie entre (14-10%) viennent ensuite les services de gynécologie et chirurgie femme et homme avec un taux (9%),Tandis que les infections ont été faibles dans les services Hémodialyse et pédiatrie en fréquence de (3%).

La répartition des patients ayant une infection nosocomiale distribuée dans les différents services de l'hôpital de Médéa au cours des premiers quatre mois des années (2019-2021).

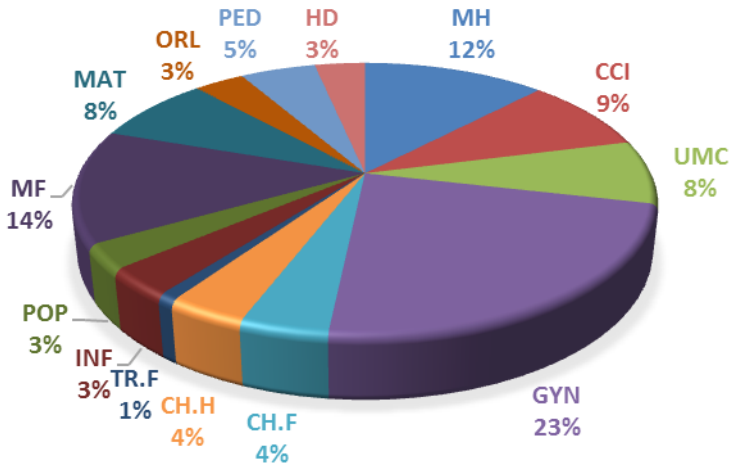


Figure 23: Répartition des patients dans les différents services de l'EPH de Médéa.

La prévalence des patients a été plus élevée dans la spécialité gynécologie (23%), suivie par le service médecine femme et homme où le pourcentage varie entre (12-14%).

Tandis que la prévalence des infections a été faible dans les services Hémodialyse, infectieux et oto-rhino-laryngologiste (3%) et (1%) pour traumatologie *femme.*

1.4. Répartition des germes isolés

Représentation graphique présente les principaux germes ont été isolés au cours des premiers quatre mois des dernières quatre années (2019-2022).

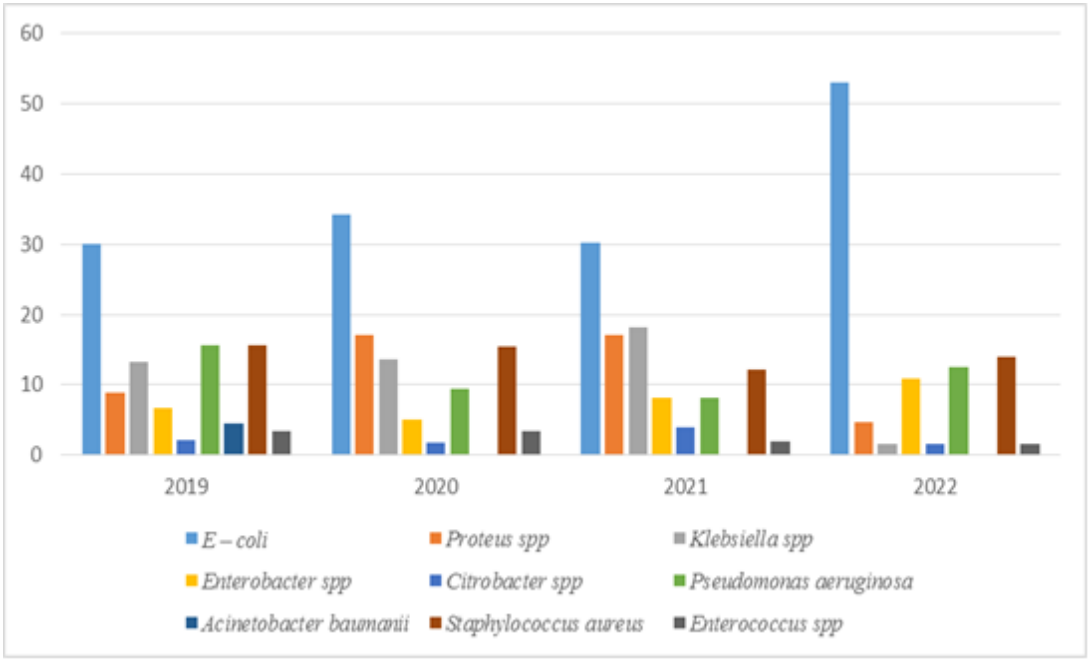


Figure 24: répartition des germes isolés au niveau de l'EPH de Médéa.

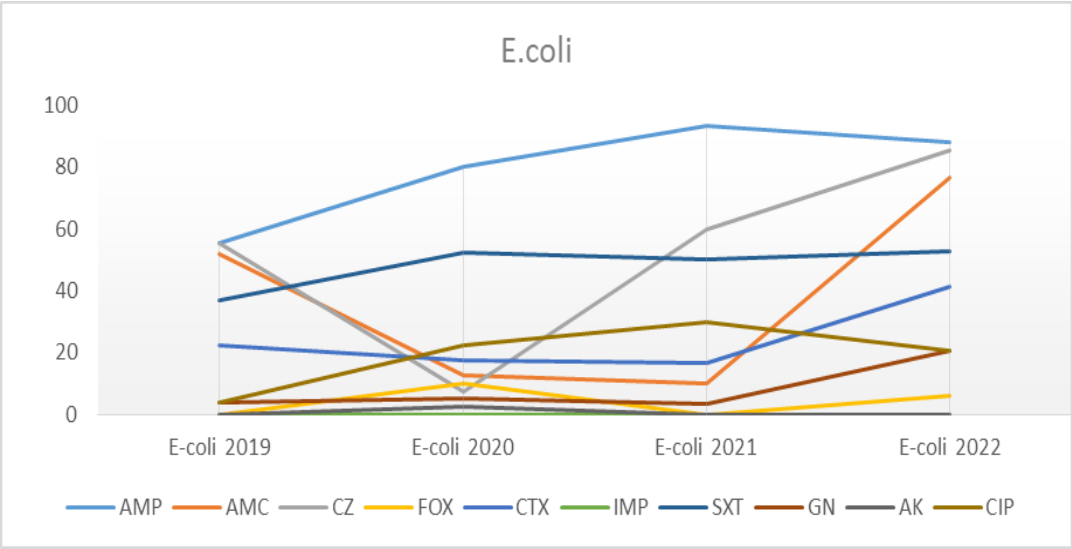
Sur les 368 prélèvements positifs au cours des premiers quatre mois des quatre dernières années (2019-2022).

- En 2019, *E. coli* était l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée avec (31%) de l'ensemble des espèces étudiées suivies de *Staphylococcus aureus* (15.5%) et suivie *Pseudomonas aeruginosa* (15.2%), *Klebsiella spp* (13%).
- En 2020, la prédominance était pour les *E. coli* (35%) et les *proteus spp* et *klebsiella spp, Staphylocoque aureus* avec un pourcentage variant entre (16-14 %), suivie *Pseudomonas aeruginosa* avec un pourcentage (9,6%).
- En 2021, les germes les plus dominants sont *E. coli* (31,25%) *klebsiella spp* (18,75%) et *Proteus spp* (13%).
- En 2022, les germes le plus dominat durant cette période sont *E. coli* avec un pourcentage plus élevé par rapport à l'autre germe *(51*%) le détriment des autres entérobactéries, suivie *Staphylococcus aureus* (15%) *Enterobacter spp* et *Pseudomonas aeruginosa* (12%).

1.5. Résultats de l'antibiogramme

- **Profil de la résistance de *E .coli* aux différents antibiotiques**

Représentation graphique présente le profil de résistance de *E .coli* aux différents *antibiotiques au cours des premiers quatre mois des dernières quatre années (2019-2022).*



AMC : Amoxicilline-clavulanate **; AMP :** Ampicilline **; CZ :** Céftazidime **; CTX :** Céfotaxime **; FOX :** Céfoxitine **; IPM :** Imipenème **; SXT :** Thiméthoprime-Sulfaméthoxazole **; GN :** Gentamicine **; AK :** Amikacine **; CIP :** Ciprofloxacine

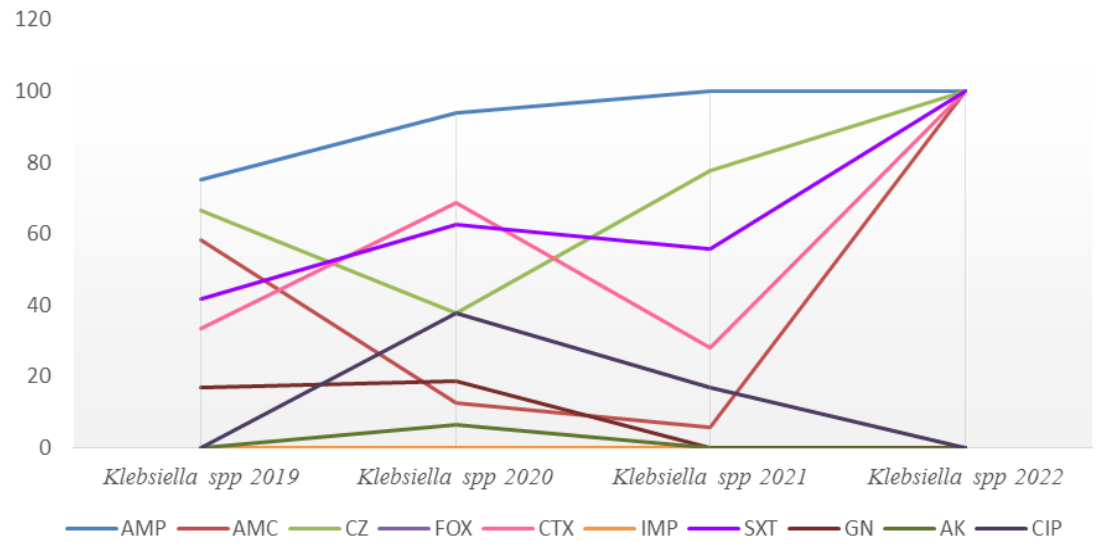
Figure 25: profil de la résistance de *E .coli* aux différents antibiotiques (2019-2022).

Le profil de l'antibiogramme a révélé des résultats variables durant la période étudie, toutes les souches expriment le même rythme de résistance entre (2019-2021) pour les antibiotiques : Ampicilline, Céfotaxime, Ciprofloxacine, Thiméthoprime-Sulfaméthoxazole, Gentamicine et la diminution de la résistance de Céfoxitine qui devient sensible en 2021. Tandis que toutes les souches étaient sensibles à IMP durant la période étudie.

Après 2021, on a signalée une augmentation brusque de résistance aux Amoxicilline-clavulanate, Céfotaxime, Amikacine, Céftazidime, Gentamicine, et Thiméthoprime-Sulfaméthoxazole arrive à 76% pour Amoxicilline-clavulanate, 85% Céftazidime 20% Gentamicine**,** tandis qu'ils ont diminués la résistance au Céfotaxime, Ciprofloxacine.

- **Profil de la résistance de *Klebsiella spp* aux différents antibiotiques :**

Représentation graphique présente le profil de résistance de *Klebsiella spp* aux différents antibiotiques au cours des premiers quatre mois durant la période (2019-2022) :



AMC : Amoxicilline-clavulanate **;AMP :** Ampicilline **;CZ :** Céftazidime **;CTX :** Céfotaxime**; FOX :** Céfoxitine**; IPM:** Imipenème**; SXT :** Thiméthoprime-Sulfaméthoxazole**; GN :** Gentamicine**; AK :** Amikacine**; CIP :** Ciprofloxacine.

Figure 26: le profil de résistance de *Klebsiella spp* aux différents antibiotiques durant la période (2019-2022).

La figure montre que la majorité des souches isolées de *Klebsiella spp* ont subi une augmentation de leur résistance à Ciprofloxacine., Thiméthoprime-Sulfaméthoxazole, Céfotaxime, Amikacine entre 2019-2020 et diminution de résistance à Amoxicilline-clavulanate et Céftazidime.

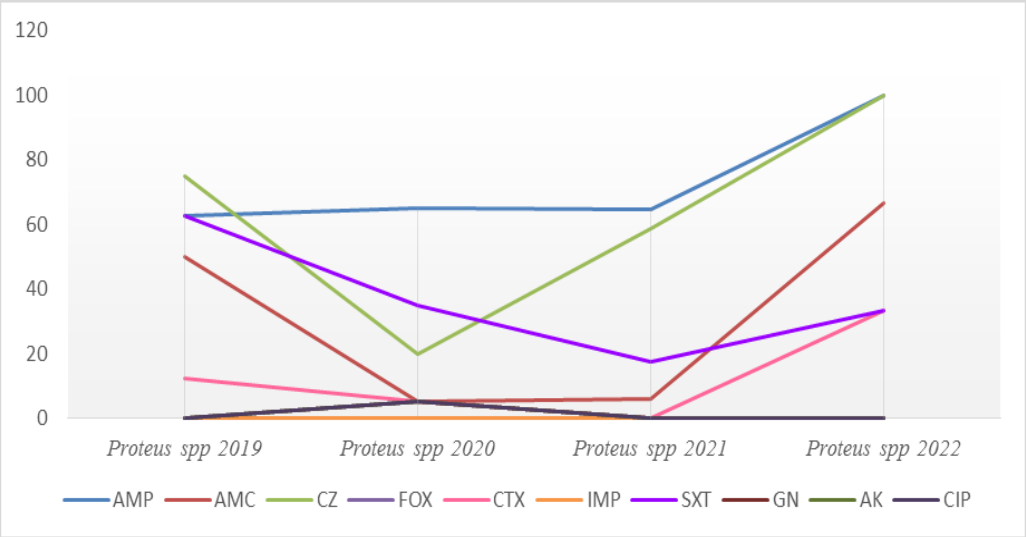
De 2020-2021, les souches sont diminuées sa résistance à Amikacine, Gentamicine, Ciprofloxacine, Céfotaxime, Thiméthoprime-Sulfaméthoxazole et Amoxicilline-clavulanate au contraire de Céftazidime et Ampicilline où les souches sont augmentées sa résistance.

De 2021-2022, les souches isolées sont subies une augmentation la résistance aux (Amoxicilline-clavulanate, Ampicilline, Céfotaxime, Thiméthoprime-Sulfaméthoxazole, Céftazidime). Tandis que les souches deviennent sensibles à Ciprofloxacine en 2022.

Durant la période étudiée, les *Klebsiella spp* sont sensibles à Imipenème.

- **Profil de la résistance de *Proteus spp* aux différents antibiotiques**

Représentation graphique présente le profil de résistance de *Proteus spp* aux différents antibiotiques au cours des premiers quatre mois durant la période (2019-2022) :



AMC : Amoxicilline-clavulanate **;AMP :** Ampicilline **;CZ :** Céftazidime **;CTX :** Céfotaxime**; FOX :** Céfoxitine**; IPM:** Imipenème**; SXT :** Thiméthoprime-Sulfaméthoxazole**; GN :** Gentamicine**; AK :** Amikacine**; CIP :** Ciprofloxacine.

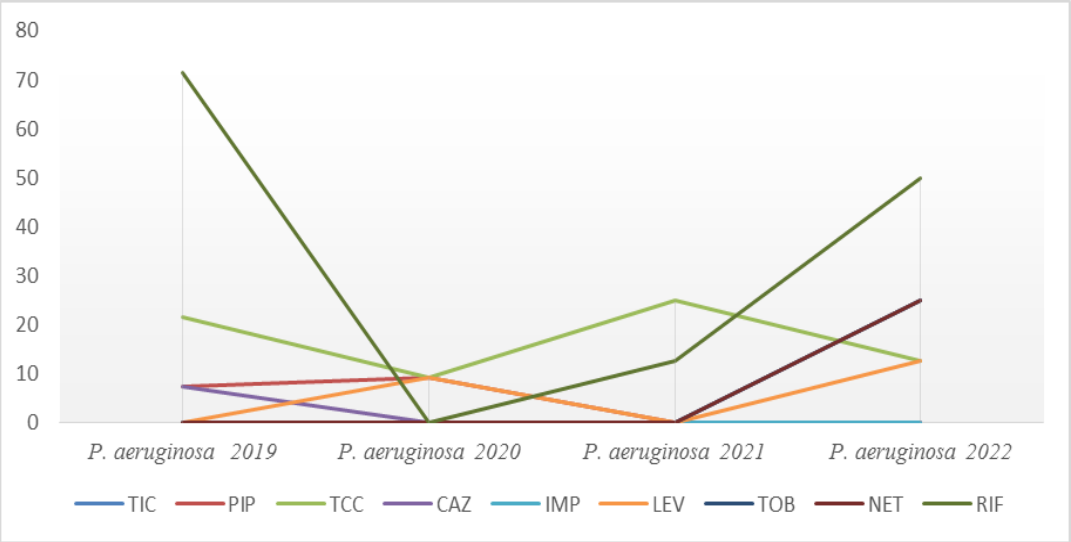
Figure 27: Profil de la résistance de *Proteus spp* aux différents antibiotiques durant la période (2019-2022).

De 2019-2020, la résistance des souches aux Amoxicilline-clavulanate et Céftazidime, Thiméthoprime-Sulfaméthoxazole, Céfotaxime, ont diminué durant cette période de fréquence (75%) jusqu'à(20%) pour Céftazidime et de (50%) jusqu'à (5%) pour Amoxicilline-clavulanate,(75%) jusqu'à(20%) pour Céftazidime et (62%)jusqu'à (35%)pour Thiméthoprime-Sulfaméthoxazole et pour Céfotaxim(12.5%)jusqu'à (5%) .

Après 2021, les souches ont subi une augmentation de résistance aux antibiotiques où a Ampicilline et Céftazidime arrivent à (100%) Amoxicilline-clavulanate 66%, Thiméthoprime-Sulfaméthoxazole et Céfotaxime (33%) et les *proteus spp* sont sensibles pour les restes antibiotiques.

- **Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux différents antibiotiques**

Représentation graphique présente le profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux différents antibiotiques au cours des premiers quatre mois durant la période (2019-2022) :



TIC : Ticarcilline ; **PIP :** Pipéracilline ; **TCC :** Ticarcilline-clavulanate ; **CAZ :** Céftazidime ; **IPM :** Imipenème ; **TOB :** Terramycine ; **NET :** Nétilmicine ; **RIF :** Rifampicine. **LEV :** Lévofloxacine

Figure 28: Profil de la résist ance de *Pseudomonas aeruginosa* aux différents antibiotiques durant la période (2019-2022).

De 2019 -2020, la résistance des souches aux Céftazidime, Ticarcilline-clavulanate et Rifampicine sont diminuées et deviennent sensibles à la Céftazidime et Rifampicine et pour Lévofloxacine et Pipéracilline sont augmentés sa résistance.

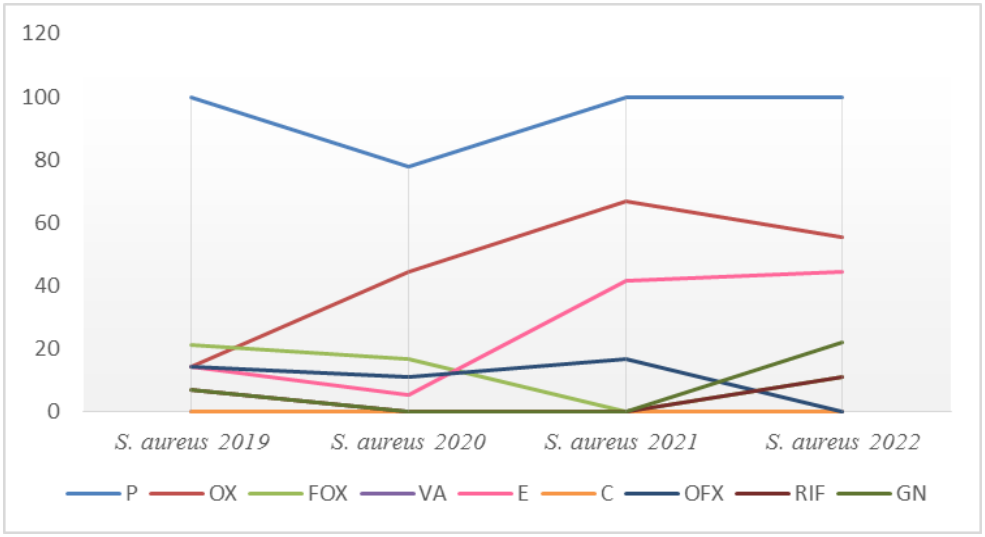
De 2020-2021, les souches isolées sont augmentées sa résistance à la Ticarcilline-clavulanate et Rifampicine et sa résistance diminue pour Lévofloxacine

Après 2021, Rifampicine, Nétilmicine et Lévofloxacine suivaient la même cinétique d'augmentation de résistance à fréquence varie entre (12,5-50%) par contre la résistance de Ticarcilline-clavulanate qui diminue.

Les souches isolées ont été sensibles à imipenème durant la période étudiée de 2019-2022, et sensibles pour Ceftazidime de 2020-2022.

- **Profil de résistance de *Staphylococcus aureus* aux différents antibiotiques**

Représentation graphique présente le profil de résistance de *Staphylococcus aureus* aux différents antibiotiques au cours des premiers quatre mois durant la période (2019-2022) :



P : pénicilline ; **OX :** oxacilline; **FOX :** Céfoxitine; **VA :** Vancomycine ; **E :** Erythromycine**; OFX :** ofloxacine; **RIF :** Rifampicine ; **GN :** Gentamicine ; **C** : Colistine.

Figure 29: profil de la résistance de *Staphylococcus aureus* aux différents antibiotiques durant la période (2019-2022).

Ce profil présente la résistance des souches aux antibiotiques où ils sont suivies presque le même rythme de 2019 jusqu'à 2021. Après 2021, les souches :

- Augmentent sa résistance à la rifampicine gentamicine et baisse de résistance aux oxacilline et ofloxacine.
- Pour la pénicilline et érythromycine, la résistance des souches devient stable après 2021 jusqu'à 2022.

Tandis que les souches de *s. aureus* étaient sensibles à la colistine et vancomycine durant la période étudié.

2. Discussion :

Notre étude effectuée au niveau du laboratoire de l'EPH de Médéa (unité de microbiologie) où nous avons mené une étude rétrospective et prospective. Les résultats obtenus concordent et permis de constater que :

Cette étude sur une période de quatre ans, les résultats indiquent que les infections nosocomiales surviennent plus fréquemment chez le sexe féminin avec une fréquence de (53%) que chez le masculin (47%). Ces résultats sont expliqués par la nette prédominance d'hospitalisation féminine, avec deux services spécialisés pour les femmes Gynécologie et Maternité. Ce résultat est cohérent pour toutes les années précédentes que nous avons étudiées.

Les types d'infections nosocomiales les plus fréquemment identifiés étaient les infections des voies urinaires (79%), suivies des infections de divers (17%) et enfin (7%) pour les infections de sang (septicémie). La répartition des types de prélèvements était changée durant la période de Covid où le prélèvement bronchique était classé la troisième place après ECBU et l'ECB divers. Ce résultat compatible avec les trois années de 2019 à 2021 de l'hôpital de Médéa et la même chose a été observée dans plusieurs études réalisées en Europe : en France ,2020 **(Côme Daniau et al, 2020)** où l'infection urinaire représente 71,5% et en United Kingdom (UK) 2021 **(Stewart et al, 2021).** La répartition des types de prélèvements était changée durant la période de Covid où le prélèvement bronchique était classé la troisième place après ECBU et l'ECB divers.

Concernant les germes en cause, les principaux germes rencontrés dans notre série étaient dans l'ordre décroissant : *Escherichia coli* (51%) *Staphylococcus aureus* (15%), *Pseudomonas aeruginosa et enterococcus* (12 %), ces résultats sont approximativement proches aux travaux de **(Andréna, 2020),** et **(Stewart et al, 2021)** en United Kingdom, et **(Côme et al, 2020**) en France. Ces résultats expliquent : la présence des infections nosocomiales dans les services malgré stérilisation.

Existence naturelle dès cette bactérie dans le corps humaine où représentent les entérobactéries représentées 50% de la flore terminales de tube digestif **(Patrice DEBRÉ et al, 2014)**, les *staphylococcus aureus* sont présents dans le nez (d'ordinaire temporairement) d'environ 30 % des adultes sains et sur la peau d'environ 20 % est pour *Pseudomonas aeruginosa* abondant dans l'environnement hospitalier notamment dans le bloc opératoire **(Makhlouf, 2011).**

L'évolution de la résistance bactérienne nosocomiale aux antibiotiques, y compris les bactéries les plus banales est préoccupante. Ces résistances bactériennes aux antibiotiques sont actuellement considérées par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme une menace grave pour la santé humaine et la médecine moderne **(SIBOUB ,2018).**

La prévalence de ces germes résistant aux antibiotiques ne cesse d'augmenter ces dernières années et constitue un phénomène alarmant. Dans notre enquête 5 bactéries multirésistantes ont été isolés : 3 *Entérobactéries* multirésistantes représentent une β-lactamases à spectre élargi, des *Staphylococcus aureus* résistant à l'oxacilline et *Pseudomonas aeruginosa* résistant au Ceftazidime.

Dans notre étude le pourcentage des BLSE pour les entérobactéries a augmenté, avec une variation de fréquence selon le germe par rapport les années étudiées où le pourcentage d'*E. Coli* en 2019(10,52%), 2020 et 2021(4,82-6,84%) et augmente en 2022 à fréquence (23,91%). Pour *proteus spp* est toujours faible et leurs fréquences en 2019(1,75%), 2020 et 2021 varie entre (1,2-0%) et augmenté à 2,17%. *Klebsiella spp* a une fréquence de (7,5%) en 2019, (13,24%) en 2020, (6,84%) en 2021 et (2,17%) en 2022. Donc la présence des BLSE signifie un chiffre alarmant, malheureusement dans notre étude on n'a pas trouvé beaucoup d'IMP résistance à cause de manque des disques d'IMP au sein de laboratoire. En United King dom (UK) noté une l'augmentation dans résistantes aux β-lactamases **(Stewart et al, 2021).** Cette augmentation témoigne de la consommation abusive de ces antibiotiques qu'étaient utilisées durant l'antibiothérapie de covid.

Pour les *Pseudomonas aeruginosa* , la majorité des souches sont sensibles à la ceftazidime, ces résultats sont approximativement proches aux travaux de **(Thaïs Andréna, 2020)**et aux antibiotiques durant la période de 2019-2021 (des souches sauvages) sauf un seul cas en 2019 où on a trouvé une β-lactamase à spectre élargi (résistance à la CAZ) qui était une nouvelle souche est d'après notre enquête le patient était décès par cette infection .

La majorité des souches de *s. aureus* de 2019 était MRSA à une fréquence de 14,28% et 2020 (50%), en 2021 avec une fréquence (8%) et 2022 (50%), à cause de sa résistance aux oxacillines qui était augmentée, ces résultats sont approximativement proches aux travaux de **(MOHAMED SIBOUB, 2018),** et **(Côme Daniau et al, 2020), (Stewart et al, 2021)"** résistance aux oxacillines "et les autres antibiotiques sont sensibles.

Donc l'augmentation de la résistance à l'antibiotique est due le mauvais usage des antibiotiques chez l'homme et l'animal **(institut pasteur fr, 2021)**, soit de mutations ou

l'acquisition de gènes de résistance conférant la résistance à un ou plusieurs antibiotiques **(WHO, 2020)** ou Mesures de prévention et de contrôle des infections inadéquates, « absence de stérilisation » **(WH0, 2020)**

Conclusion

Conclusion :

Les infections nosocomiales constituent un fléau de sante publique et un grand risque pour les patients et les malades hospitalisés. Ce type de l'infection a fait l'objet d'une véritable prise en compte en tant que marqueur de la qualité de soin.

La prévalence des IN dans notre étude est plus dominante chez les femmes que les hommes avec un sexe-ratio=0,88. Tandis que les services les plus touchés sont les spécialités gynécologie, médecine homme et femme et UMC.

Les agents pathogènes les plus incriminés appartiennent aux familles des Enterobacteriaceae (51%), des Staphylococcaceae (15%) et Pseudomonadaceae (12%). Les souches isolées au niveau des services de l'EPH de Médéa ont montré une résistance plus importante aux antibiotiques pour les entérobactéries ont un fréquence de 28,26% des BLSE, *staphylococcus spp* ont une fréquence de 50% MRSA et les *Pseudomonas aeruginosa* sont des souches sauvage, ceci nous montre que le risque d'infection nosocomiale dans ces services est toujours présent et constitue un problème de santé publique.

De ce fait, la prévention est en effet le seul moyen de lutter contre ces infections nosocomiales. Il est donc indispensable de suivre une stratégie efficace de lutte et de prévention contre ce fléau et ceci en respectant toutes les règles d'hygiène avec une consommation réduite des antibiotiques.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques :

1. Abbott, S. L, 2007. *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Plesiomonas*, and Other *Enterobacteriaceae*. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller & M. L. Landry (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9 th ed., pp. 698-715). Washington, DC : ASM press. 2ème Edition. P 522.

2. Avril J-L, Dabernat H, **Denis F et al** ,**2000.** Bactériologie Clinique. Ellipses. 3ème Edition. P 511.

3. Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Monteil H ,1992. Bactériologie Clinique. Ellipses.

4. AZIZI Hamida, ASKEUR Salima ,2019. Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques des isolats d'hémoculture à l'Etablissement Publique Hospitalier de Boufarik.p :28.

5. Bakhoum I ,2004. Contrôle de qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. P 113.

6. Baron E-J, Pfaller M, Tenover F-C, Yolken R-H, Murray P-R , 1995. Manual of clinical microbiology Graveniz, AV. Acinetobacter baumannii, Alcagenes, Moraxella, and other non-fermentative bacteria. In: Manual of clinical microbiology. Washington DC: American Society for Microbiology. pp 520.

7. Barrial K. & Scotet J, 2006. Classification raisonnée des β-lactamases chez les bacilles Gram négatif. Perspective d'évolution. Tigaud de bactériologie, 10 p.

8. Baumann, P,Duodoroff ,and stainier , Y.Y , 1968. A study of *Moraxylla* group 11 oxydative negative species (genus *Acenitobacter*). J. Bacteriol **95 :1520-41.**

9. Benz R, 2004. Bacterial and Eukaryotic Porins: Structure, Function, Mechanism. Roland Benz, p : 382.

10. Boisivon A., Guibert, J., and Acar, J. F, 1976. Bacteries urinaires enrobees d'anticorps : aspect diagnostique et evolutif. Pathologie Biologie, 24, 695-698.

11. BONNET R ,2012. Bêta-lactamine et Entérobactérie Dans : Antibiogramme. 3 eme ESKA. Pais ; 165-88 p.

12. Brucker Gilles, Novembre 1998. Infections nosocomiales et environnement hospitalier. Page : 6-12-22-23-24

13. CHERAFA Imane, ZIADI CHIBANE Mounia, Juin 2017.isolement des bacteries en milieux hospitalier et l'etudes de la resistance aux antibiotiques p : 01

14. Côme Daniau, Lucie Léon, Hervé Blanchard, Claude Bernet, Emmanuelle Caillat -Vallet, Sophie Glorion, Laurence Buonocore, Martine Aupée, Muriel Péfau, Loïc Simon, Julien Claver, Odile Bajolet, Serge Alfandari, Anne Berger-Carbonne , Bruno Coignard ,2020. INFECTIONS ASSOCIÉES AUX SOINS EN ÉTABLISSEMENT DE SANTÉ : RÉSULTATS DE L'ENQUÊTE NATIONALE DE PRÉVALENCE 2017, France.P2-8-11.

15. Courvalin P., Leclercq R. & Bingen E, 2006. Antibiogramme. Eska, 2ième édition, Paris, 500 p.

16. Decoster A. & Lahieu J.C, 2006. Cours de Bactériologie : Les entérobactéries. Disponible sur : http : //anne.decoster.free.fr/bgn/enterob.html. 2006. Consulté le 15 Mars 2016

17. Decoster A. & Lahieu J.C., 2006. Cours de Bactériologie : Les entérobactéries. Disponible sur : http : //anne.decoster.free.fr/bgn/enterob.html. 2006. Consulté le 15 Mars 2016.

18. DOMART Y, 1995. Abrégés de pathologie médicale. Paris Masson, 440p.

19. Doran, T. I ,1999. The role of Citrobacter in clinical disease of children : Review. *Clinical Infectious Diseases*, *28*(2), 384-394.

20. Eyquem A, Alouf J, Montagnier L , 2000. In : Traité de microbiologie clinique: deuxièmes mises à jour et compléments, Piccin, Italie.

21. Faucher JL., JAEN-Loup, 2002. Bactériologie générale et médicale. page :199,214- 239,244-249-252-260-298-306-307.

22. Fauchère J.L., Avril J.L, 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed ellipses. Français.; 280.

23. Figarella J ; Leyral G ; Terret M, 2007. Microbiologie générale et appliqué. Paris: DELEGRAVE . p. 106-8

24. Fomba Modibo ,2006. Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des Acinetobacter et des Staphylococcus a coagulasse négatif à l'hôpital du point G. thèse de doctorat en pharmacie.

25. François JEHL, Monique CHOMARAT, Michele WEBER ,Alian GERARD,2003 . DE l'antibiogramme à la prescription .Edition biomerieux .P :76-81.

26. Hanes D, **2003.** Nontyphoid Salmonella, Bier J. (Eds) International Handbook of Foodborne Pathogens Edition. Milotis N., New york, 149p.

27. Hooper DV. (2002). Emerging Mechanisms of Fluor quinolone Resistance. Emerging Infectious Diseases. 7, 337-341.

28. Holmes, B., & Aucken, H. M , 1998. Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Serratia and other members of the Enterobacteriaceae. In L. Collier, A. Balows & M. Sussman (Eds.), *Microbiology and Microbial infections : Systematic Bacteriology* (9th ed., pp. 999-1033). London : Arnold.

29. HORAUD T, BOUGUENEC C,1989. Streptococcaceae. In : Le MINOR, VERON M. eds Bactériologie médicale. Paris : Flammarion, 795-834.

30. JAEN-Loup , Faucher JL ,2002. Bactériologie générale et médicale. page :199,214- 239,244-249-252-260-298-306-307.

31. JANDA, J. M. A. S. L. A, 2006. The family Enterobacteriaceae: taxonomie considerations. In J.M. Janda and S. L. Abbott (ed).The enterobacteria, p7-13.

32. Jawad,A. Hawkey ,P.Mferitage J .and Snelling ,A .M, 1994. description of leeds acenitobater medium for isolation of clinically important Acenitobacter spp and comparison with Herellea Agar and Holton's Agar **. 32 (10):2358-8**

33. Jacoby GA, 2005. Mechanisms of resistance to quinolones. Clin Infect Dis; 41(2): 120-126.

34. KADI Z, GOLLIOT F, ASTAGNEAU P. Guide de définition des I.N. CCLIN ParisNord 1995.

35. Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L.T, 2004. Pathogenic Escherichia coli. Nature Reviews Microbiology, 2 : 123-144

36. Kebe I, 2001. Portage des entérocoques résistants à la vancomycine chez l'homme et les animaux. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Cheikh anta diop de Dakar. Faculté de pharmacie et d'odontostomatologie. P 9.

37. Knirel, Y. A., Kocharova, N. A., Bystrova, O. V., Katzenellenbogen, E., & Gamian, A,2002 . Structures and serology of the O-specific polysaccharides of bacteria of the genus Citrobacter. *Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis, 50*, 379-391.

38. Kumar A. & Schweizer H.P, 2005. Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. Advance Drug Delivery Review, 57 : 1486-1513.

39. Leclercq R, 1997. Enterococci acquire new kinds of resistance. Clin Infect Dis; 24 (suppl1): 9080-4.

40. Liazid A ,2012. Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. P 24-26. ;

41. Livermore D.M, 2003. Bacterial Resistance: Origins, Epidemiology and Impact. An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases, 36 : 11-23.

42. Makhlouf.F, **2010 – 2011**.Etude de l'impact de l'hygiène des mains sur l'incidence des infections du site opératoire au niveau des services de chirurgie du CHU Bab El Oued.

43. Mammeri H. 2013. Mode d'action des antibiotiques. Service de bactériologie, CHU Amiens.P : 2.

44. Melle Liazid Asma ,2011. Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen.

45. Mehdi. S. 2008. La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassan ii de Settat .THESE. [en ligne] .Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED VFACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, p 48.

46. Meziani M, 2012. Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement desparentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas .Mémoire de Magister .Université Mentori.Constantine P : 30 ,32Microbial. Infect. 10:1213.

47. Mohammad Darvishi, Mojgan Forootan, Mohammad Reza Nazer, Ebrahim Karimi, Majid Noori ,2020 .Iran J Med Microbiol, 14(2): 162-181.

48. Mr. MOHAMED SIBOUB, 2018. L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE, La prévalence de l'infection nosocomiale au CHU Mohammed VI de Marrakech.

49. Muylaert A, Mainil JG,2013. Résistances aux fluoroquinolones: la situation actuelle. Ann Méd Vét.;157(1):15-26.

50. Nancy. Année universitaire 2005/2006 Droit Privé faculté de médecine www.memoireonline.com

51. Nauciel C, Vildé J.L , **2005.** Bactériologie médicale. 2ème édition. MASSON.

52. Nikaido H, 1994. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. Science, 264 : 382-388.

53. Nikaido H, 2000. Crossing the envelope: how cephaslosporinsreach their targets. Clinical Microbiology and Infection, 6 : 22-26.

54. Nishino K. & Yamaguchi A, 2001. Analysis of a complete library of putative drug transporter genes in Escherichia coli. Journal of Bacteriology; 183 : 5803-5812.

55. Paolozzi L. & Liébart J.C, 2015. Microbiologie : biologie des procaryotes et de leurs virus, Editions Dunod, Paris, 512 p.

56. Patrice DEBRÉ, Jean-Yves LE GALL ,2021. Le microbiote intestinal. Vol 18. P : 1670.

57. Patterson JE, Masecar BL, Zervos MJ, 1988. Characterization and comparison of two penicillinase producing strains of Streptococcus (Enterococcus) faecalis. Antimicrob Agents Chemother ; 32 : 122-4.

58. PLESIAT, P ,2012. Biochimie de la résistance. ANTIBIOGRAMME, 2, 17-35.

59. Portillo A, Ruiz-Larrea F, Zarazaga M, Alonso A, Martinez JL, Torres C, 2000. Macrolide resistance genes in Enterococcus spp. Antimicrob Agents Chemother; 44 : 96771.

60. Rybkine T, Mainardi JL, Sougakoff W, Collatz E, Gutmann L ,1998. Penicillinbinding protein 5 sequence alterations in clinical isolates of Enterococcus faecium with different levels of ß-lactam resistance.; 178 : 159-63

61. S. Stewart, C. Robertson , J. Pan , S. Kennedy, S. Dancer, L. Haahr ,S. Manoukian , H. Mason, K. Kavanagh, B. Cook , J. Reilly ,2021, Epidemiology of healthcare-associated infection reported from a hospital-wide incidence study: considerations for infection prevention and control planning.P:13-14-15.

62. Schouten MA, Voss A ,1999. Hoogkamp-Korstanje A and the European VRE Study Group. Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci causing infections in Europe. Antimicrob Agents Chemother**.** p: 43 : 2542-6.

63. Seck R ,2005 .Résistance des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pnemoniae* isolées d'infections urinaires.Thèse de doctorat. Université Cheikh AntaDiop de Dakar. P : 22-27.

64. Sekhri-Arafa N ,2011. Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse de doctorat en science. Université Mentouri de Constantine. P 74-75.

65. Sougakoff W, Trystram D ,2003. Résistances aux β-lactamines.Thèse de doctorat en médecine. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine. P 31-46

66. Stark L, 2013. *Staphylococcus aureus*, aspects of pathogenesis and molecular epidemiology. Linköping University Medical Dissertations No. 1371. P 15.

67. Thaïs Andréna ABEGHE ANGOUE, 2020. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en Médecine: Prévalence des infections nosocomiales dans 10 services du CHU du Point G. P : 54,64-68.

68. WAGENLEHNER FME, CEK M, NABER KG, KIYOTA H, BJERKLUND-JOHANSEN TE, **Publié en ligne le 07 Septembre 2011 – Consulté en Octobre 2011.** Epidemiology, treatment and prevention of healthcare-associated urinary tract infections. World J. Urol., 2011

69. Wareham DW et Wilson P. (2002). *Chloramphénicol in 21st century*. **63**, 157-161.

70. D.YALA A.S. MERAD D. MOHAMEDI, M.N. OUAR KORICH 2001. CLASSIFICATION ETMODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES. Médecine du Maghreb**.**

71. Yala D, Merad AS, Mohamedi D. et Ouar korich MN. (2001). Resistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb. 91, 6-14.

72. Veyssier P. (1999). Inhibiteurs de la dihydrofolate réductase, nitrohétérocycles et 8-hydroxyquinoléines. In : Bryskier A (Eds.), Antibiotique, agents antibactériens et antibiotiques. Ellipses, Paris, pp. 1008-1009.

Les sites :

[01] https://www.who.int/fr/news/item/06-05-2022-who-launches-first-ever-global-report-on-infection-prevention-and-control

[02] http://www.creapharma.ch/antibiotique.htm(Consulter le 18/04/2016 à 10 :25).

[03] http://www.sante.gouv.fr/les-infections-nosocomiales-questions-reponses.html(Consulter le 25/04/2016 à 14:00h).

[04]https://www.actusoins.com/301300/infections-nosocomiales-plus-de23-000-signalement-externes-depuis-2001.html/amp.

[05]Etude /cour/ infectieux/ infection. Nosocomiale. Php. Référence : 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des IN, CTIN 1999

[06]http://www.pharmaetudes.com/resourses/cours%20internat/section5/25macrolides-et-apparentes.pdf (Consulter le 12/04/2016 à10 :25)

[07]http://www.em-consulte.com/article/6793/macrolide-et-infection-a-pseudemonas-aeruginosa.

[08] https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/infections/infections-bact%C3%A9riennes-bact%C3%A9ries-gram-positives

[09]https://www.mordorintelligence.com/vi/industry-reports/global-hospital-acquired-infection-control-market-industry

[10]https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/resistance-aux-antibiotiques#causes-et-effets

[11] https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance

[12]https://www.mordorintelligence.com/vi/industry-reports/global-hospital-acquired-infection-control-market-industry

ANNEXES

Annexe 01 :

Fiche de résultats : antibiogramme.

MINISTERE DE LA SANTE ET LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE

ETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIER MOHAMED BOUDIAF

LABORATOIRE CENTRAL

UNITE DE MICROBIOLOGIE

FEUILLE DE RESULTATS : ANTIBIOGRAMME

Nom et Prénom :..... Age :.....Date :.....
N° D'ORDRE :.....Service :.....
Nature du prélèvement :.....
Germe(s) isolé (s) :.....
.....
Commentaires :.....
.....

ANTIBIOTIQUES	SIEGES	RESULTATS				Concentrations Critiques mg/l
		S	I	R	CMI mg/l	
BETA-LACTAMINES						
Pénicilline	P					
Oxacilline	OX					
Ampicilline	AM					
Amoxicilline	AMX					
Ticarciline	TIC					
Pipéracilline	PIP					
Amox+Ac clavulanique	AMC					
Céfazolline/Céfalexine	CZ/CN					
Céfoxitine	FOX					
Céfotaxime/Céftriaxone	CTX/CRO					
Céftazidime	CAZ					
Imipénème	IMP					
Aztréonam	ATM					
AMINOSIDES						
Gentamycine	GM					
Amikacine	AN					
Tobramycine	TM					
Spectinomycine	SPT					
Kanamycine	K					

ANTIBIOTIQUES	SIEGES	RESULTATS				Concentrations Critiques mg/l
		S	I	R	CMI mg/l	
MACROLIDES						
Erythromycine	E					
Lincomycine	L					
Clindamycine	CM					
Pristinamycine	PT					
Spiramycine	SR					
Azitromycine	AZM					
QUINOLONES						
Acide nalidixique	NA					
Ofloxacine/Péfloxacine	OFX/PEF					
Ciprofloxacine	CIP					
Lévofloxacine	LEV					
DIVERS						
Tétracycline	TE					
Colistine	CS					
Cotrimoxazole	SXT					
Furanes	FT					
Acide fusidique	FA					
Rifamycine	RA					
Fosfomycine	FOS					
Vancomycine	VA					
Chloramphénicol	C					

Interprétation : - **S** : sensible - **I** : intermédiaire - **R** : résistant

Médéa le :.....

Annexe 02 :

Feuille de résultats des examens bactériologiques des urines.

ETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIER DE MEDEA
UNITE DE MICROBIOLOGIE

FEUILLE DE RESULTATS DES EXAMENS BACTERIOLOGIQUES

NOM – PRENOM :.....**AGE :**.....

N° D'ORDRE :.....**SERVICE :**.....

NATURE DE PRELEVEMENT :.....**DATE DE PRELEVEMENT :**.....

ASPECT DES URINES :

EXAMENS DIRECTS :

Examen de l'état frais :

- Numération
  - Globules blancs ☐
  - Globules rouges ☐
- Germes ☐
- Levures ☐
- Cellules épithéliales ☐
- Cristaux ☐

CULTURE

Positive ☐ Négative ☐

Numération : ☐ germes/ml

IDENTIFICATION :

Espèces bactériennes :.....

.....

INTERPRETATION ET COMMENTAIRES :

.....

.....

MEDEA LE .....

Annexe 03 :

Feuille de résultats des ECB divers.

ETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIER
DE .....

SERVICE DU LABORATOIRE

UNITE : BACTERIOLOGIE

Analyse N° .....

Nom : .....

Prénom : ..... Age : .....

Service : .....

Médecin demandeur : .....

Date de prélèvement : .....

CULTURE

DIVERS

NATURE DU PRELEVEMENT :

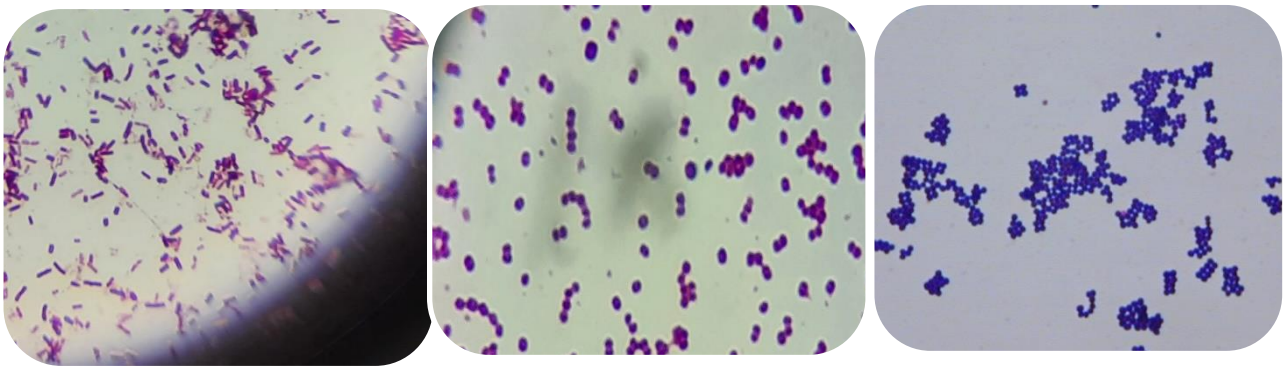
EXAMEN MACROSCOPIQUE :

EXAMEN MICROSCOPIQUE :

A ....., *Le* .....

N° 02052

Annexe 04 :



Bacilli Gram (-) Cocci Gram + disposés en diplocoques **Cocci Gram + réunis en amas**

L'aspect microscopique des colonies (Photos originale).



\+ -

Test catalase

\- +

Test d'oxydase

Résultat de la recherche des enzymes respiratoires (Photos originale).

Annexe 06 :



Résultat du test staphylocoagulase (+) (Photos originale).

Annexe 07 :

Résultat de l'identification biochimique des Entérobactéries par la galerie API 20 E

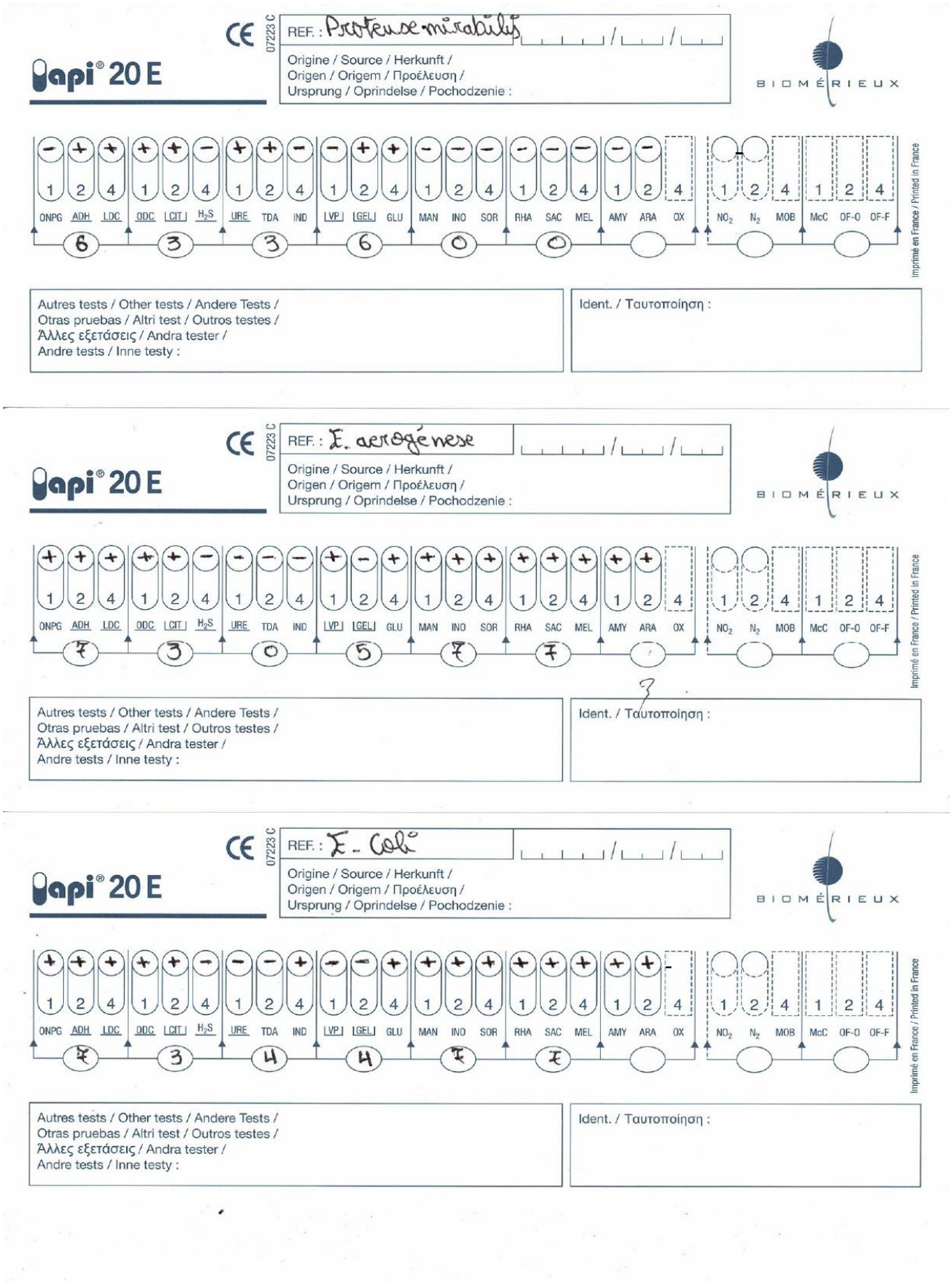


Profil biochimique de la galerie API 20 E avant l'incubation (Photos originale).



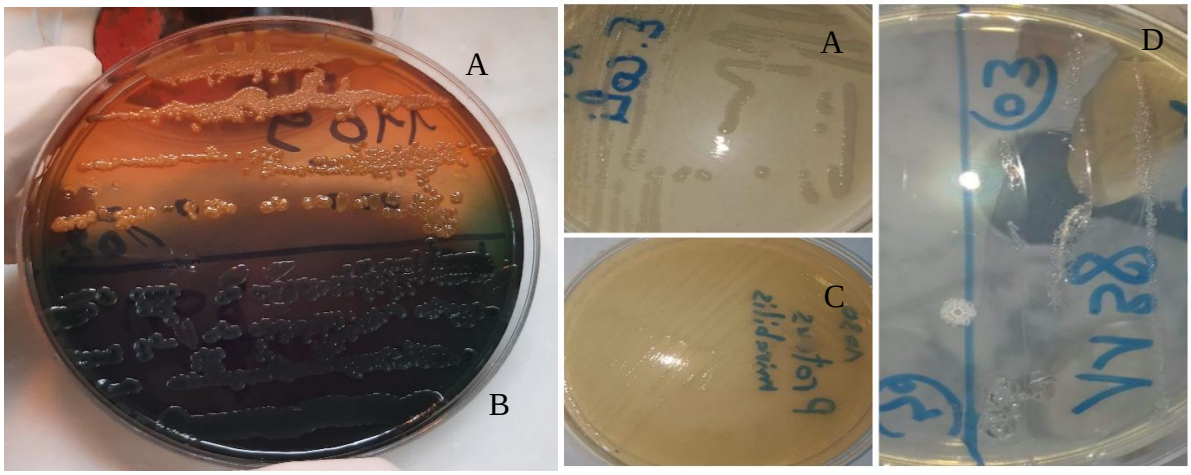
A : *E, aerogenese* - **B :** *E,coli* - **C :***Proteus spp*

Profil biochimique de la galerie API 20 E après l'incubation (Photos originale).



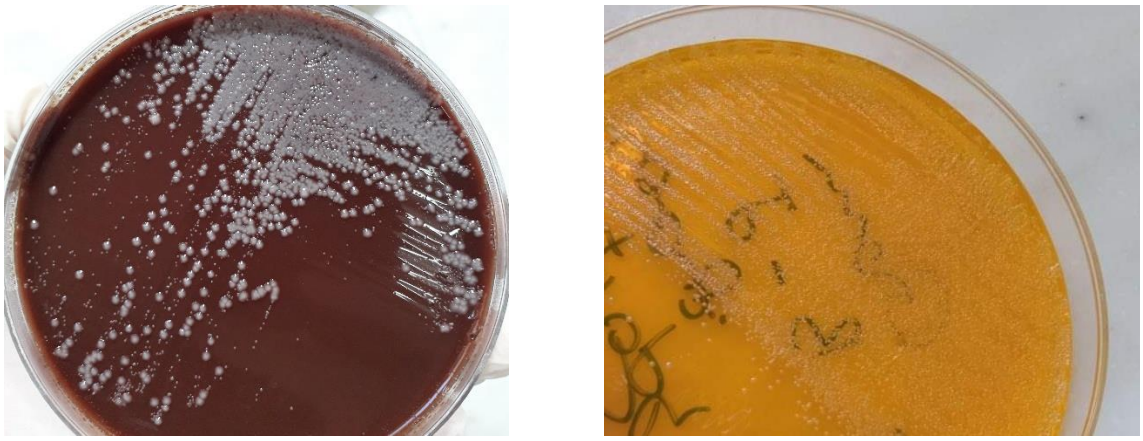
Fiche de lecture de la galerie API 20 E

Annexe 08 :

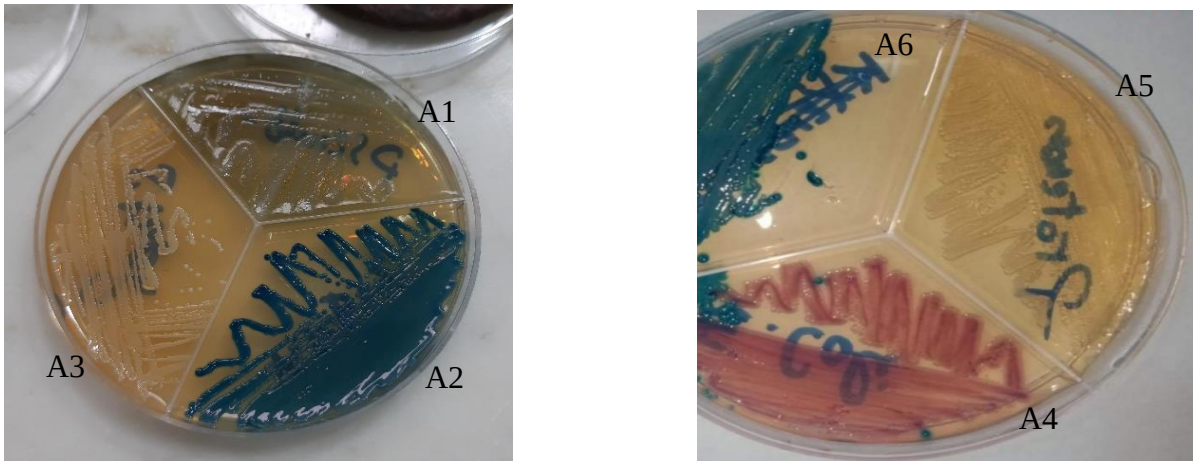


A : E.coli **; B :** Klebsielle spp **;C:** *Proteus spp* **;D:** *Enterococcus spp*

Culture sur Hektoen et GN (Photos originale).



Cultures de Staphylococcus aureus sur GS et chapman(Photos originale).

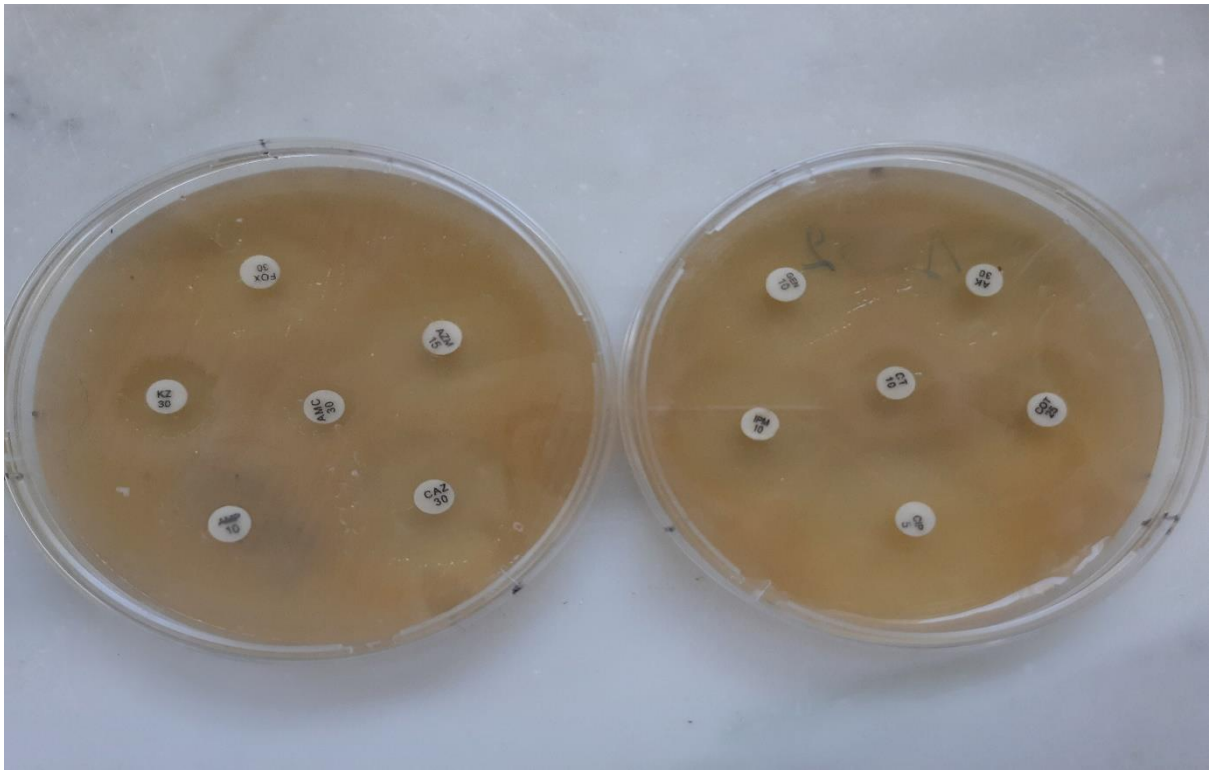


A1 : *Pseudomonas aeruginosa* **; A2:** Enterococcus spp **; A3 :** *Staphylococcus aureus*
A4 : *E.coli* ; **A5 :** *Proteus spp* ; **A6 :** KES (*Klebsiella spp, enterobacter spp, serratia spp*)

Culture sur chromagare des différentes souches (Photos originale).



Résultat de l'antibiogramme pour *Pseudomonas aeruginosa* (Photos originale).



Résultat de l'antibiogramme pour entérobactéries (Photos originale).