REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

**UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA**

Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés et Environnement

# Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Génie des Procédés Pharmaceutiques
Option : Génie des Procédés Pharmaceutiques

## Thème

# Etude de l'effet des antibiotiques sur des germes pathogènes multi-résistants

**Présenté par :**

- AIT IKHLEF Meriem
- OTSMANE Manel

**Proposé et Dirigé par** :

Dr. BOUKHELKHAL Asmaa

**Année universitaire : 2023-2024**

# *Dédicace*

*Je me dédie d'abord cet humble travail, puis à ceux qui ont travaillé avec moi pour mener à bien ce voyage, et ont toujours été pour moi un soutien*

*A son âme, je dédie ce succès, en espérant qu'elle sera une bonne action et une charité de sa part, ma mère, qui est toujours présente malgré son absence.*

*À celui dont le nom est indissociable de son nom. Ce grand homme, symbole de tendresse, de courage, de responsabilité et d'amour. Un témoignage de ses prières, de ses bénédictions, de sa patience et de ses sacrifices. Mon père. Que Dieu vous protège, vous accorde la santé et prolonge votre vie.*

*À ceux avec qui Dieu a renforcé mon soutien, et ils ont été les meilleurs assistants de Yousef et Redha. Que Dieu vous protège et bénisse vos femmes et vos filles*

*À ceux qui ont été le premier soutien dans la réalisation de mes ambitions. À ceux qui ont été mon refuge et mon bras droit dans mes études. À ceux à travers lesquels j'ai montré le chemin de ma vie et mon estime de soi. Dont les prières m'ont entouré. Ma plus profonde gratitude et mes remerciements vont à mes sœurs, Ibtisam et Sabrina.*

*Ma petite chahrazade, que Dieu t'accorde la réussite dans les chemins de ta vie et que Dieu prolonge la vie de ta mère*

*A mes chers amis Djomana, Manar, chahinez, Naziha, je les remercie pour le sourire qu'ils ont toujours su mettre sur mon visage.*

*Mon binôme Meriem, je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et pour tous les moments que nous avons passé ensemble.*

*Enfin, celui qui dira : « Je suis à elle », l'aura, et je suis à elle, et si elle refuse contre sa volonté, je l'amènerai. Voici le grand jour, voici le jour où j'ai passé mes d'ures années d'études à en rêver jusqu'à ce qu'elles soient complétées par sa grâce, sa générosité et sa joie totale. Dieu merci*

***Manel***

# *Dédicace*

*Avant tout, louange au Dieu le plus puissant pour ce qu'il nous a donné, comme santé, volonté et surtout patience pour pouvoir achever ce modeste travail.*

*Je dédie cet événement marquant de ma vie à la mémoire de ma mère disparue trop tôt. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours priée pour le salut, la miséricorde et le pardon de son âme.*

*A mon père, pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'a accordé, et sa femme pour ses encouragements et ses sacrifices.*

*À mes merveilleuses grand-mères, leurs sacrifices ont pavé le chemin de ma vie avec amour et dévouement. Leurs encouragements ont été ma source d'inspiration, illuminant mes chemins dans les moments sombres.*

*A mes très chers frères «**Mohamed** et **Ahmed, Riadh** et **Ouaiss** », pour leur aide et leur générosité, je vous souhaite plein de joie et de succès.*

*A mes chers oncles, et mes tantes :Lynda et Faiza, Samira et Fatiha qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de ce voyage .*

*A toute ma famille et cousins et cousines.*

*A mes chères amis Zineb, Asmaa, Hadil, Amel , et mon binôme, merci pour votre présence à côté de moi merci pour vos encouragements et surtout merci pour les bons moments qu'on avait partagés ensemble*

*A toute personne qui, de près ou de loin, à contribué à la réalisation de notre travail.*

***Meriem***

# *Remerciements*

*Nous remercions ALLAH tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté et de nous avoir bénie pour la réalisation de ce travail.*

*Nous voudrions présenter nos remerciements et notre gratitude en premier lieu au DSP du laboratoire d'analyse d'hôpital «**Mohamed Boudiaf -Médéa** » pour son acceptation afin de réaliser ce travail.*

*Nous tenons particulièrement à remercier notre directrice de mémoire «**Dr. BOUKHELKHAL Asmaa**», Maitre de conférences A à l'université de Médéa, pour avoir accepté la charge de nous encadrer, et pour ses orientations et ses efforts durant cette recherche*

*Nous remercions également :*

*Docteur «**BOURAHLA** » Médecin à l'hôpital de Médéa pour son soutien continu et sa grande disponibilité sur le plan professionnel et humanitaire. Pour ses conseils avisés. Vous nous avez beaucoup aidés à comprendre son fonctionnement*

*Nous adressons nos sincères remerciements aux membres de Jury **« Pr. SEDDARI Soumia »** et **« Dr. FERGANI Zineb »** pour avoir accepté d'examiner et juger ce travail*

*Un merci particulier à Mme **Assia** et Mme **Dalila** pour leur aide. Nous remercions également tout le personnel de laboratoire d'analyse Mohamed Boudiaf pour leur accueil et leur contribution dans ce travail.*

**Merci**

*À ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans notre travail, nous les remercions du fond du cœur.*

# ملخص

الهدف من العمل الذي أنجز بمستشفى محمد بوضياف بالمدية على مدى شهرين هو تحديد السلالات البكتيرية متعددة المقاومة المعزولة في بيئة المستشفى و بعدها دراسة خصائص مقاومتها للمضادات الحيوية.

من بين 112 عينة موجبة (البول و القيح ) من المرضى في المستشفى.ظهرت 68% منها بكتيريا متعددة المقاومة .نلاحظ انتشار كبير للبكتيرية متعددة المقاومة عند النساء في عينات البول بنسبة 68% لكنه أعلى عند الرجال في عينات القيح بنسبة 58%.

أظهرت نتائج التشخيص أن أكثر البكتيريا المعزولة هي المكورات العنقودية الذهبية بنسبة (26%) يليها البكتيريا المعوية كليبسيلا بنسبة (24%) و الاشريكية القولونية بنسبة (22%) و أيضا المتقلبة الرائعة بنسبة(12%)و الزائفة بنسبة(7%).

أظهر مخطط المضادات الحيوية بتقنية انتشار الأجار المستخدمة لدراسة مقاومة هذه السلالات أن السلالات المدروسة قامت بمقاومة كبيرة إلى حد ما لعدة فئات من المضادات الحيوية المستخدمة في العلاج، ولا سيما بيتا لاكتام والبنسلين والأمينوغليكوزيدات و الأمبيسلين و انواع اخرى . وهذا يؤكد ظهور سلالات بكتيرية مقاومة ومتعددة المقاومة للمضادات الحيوية، ومن هنا تأتي أهمية المراقبة المنتظمة لهذا التطور.

كلمات مفتاحية: مضاد حيوي ، مُخَطَّط المضَادَّات الحيوية, بكتيريا ، كشف الهوية ، مقاومة ، مقاومة متعددة.

# *Résumé*

L'objectif de ce travail réalisé à l'hôpital Mohamed Boudiaf de Médéa, durant une période de deux mois, consiste à identifier les souches bactériennes multirésistantes (BMR) isolées en milieu hospitalier puis étudier leurs profils de résistance aux antibiotiques.

Parmi 112 prélèvements positifs (Urine et pus), provenant de patients hospitalisés, 68 présentaient une bactérie multi résistante. La prévalence des BMR est plus remarquable chez les femmes dans les prélèvements d'urine avec un taux de 68% mais elle est plus élevée chez les hommes dans les prélèvements de pus avec un taux de 58%.

Les résultats de l'identification ont révélé que la fréquence des bactéries isolées est dominée par les Staphylocoques aureus avec (26%), suivie par des Entérobactéries : des Klebsiella pneumoniae avec (24%) et des E.coli avec (22%) et aussi des Proteus mirabilis avec (12%), des Pseudomonas avec (9%) et des Acinetobacter baumanii avec (7%).

L'antibiogramme par technique de diffusion en gélose, utilisée pour l'étude de la résistance de ces souches, a montré que les souches étudiées présentent une résistance plus ou moins importante vis-à-vis de plusieurs classes d'antibiotiques utilisés en thérapeutique, notamment aux beta-lactamines, aux Pénicillines, aux Aminosides, aux Macrolides, aux Quinolones et aux autres classes. Ce qui confirme l'émergence de souches bactériennes résistantes et multirésistantes aux antibiotiques, d'où l'importance d'un suivi régulier de cette évolution.



**Mots-clés** : Antibiotique, Antibiogramme, Bactérie, Identification, Résistance, Multirésistance.

# *Abstract*

The aim of this work carried out at Mohamed Boudiaf hospital in Medea, over a period of two months, is to identify multi-resistant bacterial strains isolated in a hospital environment and then studying their antibiotic resistance profiles.

Among 112 positive samples (urine and pus), from hospitalized patients, 68 contained multi-resistant strains. The prevalence of BMR is more remarkable in women urine samples with a percentage of 68% but it is higher in men pus samples with a percentage of 58%.

The results of the identification revealed that the frequency of isolated strains is dominated by Staphylococci aureus with (26%), followed by Enterobacteria: Klebsiella pneumoniae with (24%) and E.coli with (22%) and also Proteus mirabilis with (12%), Pseudomonas with (9%) and Acinetobacter baumanii with (7%).

The agar diffusion method was used to analyze these bacterial strains sensitivity to antibiotics. Results showed that the identified strains have varying resistance profiles to several classes of antibiotics used therapeutically, in particular to beta-lactams, penicillin, aminoglycosides, Macrolides , Quinolones and others. Which confirms the emergence of multidrug-resistant (MDR) bacteria, hence the importance of regular monitoring of this development.



**Keywords:** Antibiotic, Antibiogram, Bacteria, Identification, Resistance, Multiresistance.


.

# Table des matières


**LISTE DES TABLEAUX** ..... 1

**LISTE DES FIGURES** ..... 1

**LISTE DES ABREVIATIONS** ..... 4

**Introduction générale** ..... 1

**Chapitre I : les antibiotiques** ..... 3

**I.1 Définition des antibiotiques** ..... 4

**I.2 Historique** ..... 4

**I.4 Effets des antibiotiques sur les bactéries** ..... 6

**I.4.1 Bactériostase** ..... 6

**I.4.2 Bactéricidie** ..... 6

**I.6. Modes actions des antibiotiques** ..... 8

**I.6.1. Les antibiotiques agissant sur la paroi** ..... 8

**I.6.2. Les antibiotiques actifs sur la membrane cytoplasmique** ..... 8

**I.6.3. Les antibiotiques qui effectuent une inhibition de la synthèse protéique** ..... 9

**I.6.4. Les antibiotiques qui inhibent la synthèse ou le fonctionnement des acides nucléiques** 9

**I.7. Classification des antibiotiques** ..... 9

**I.7.1. Les betalactamines** ..... 9

**I.7.2. Les aminosides ou aminoglycosides** ..... 10

**I.7.3. Phenicols: chloramphénicol et thiamphenicol** ..... 10

**I.7.4. Les tétracyclines** ..... 10

**I.7.5. Les polypeptides** ..... 11

**I.7.6. Les macrolides** ..... 11

**I.7.7. Les quinolones** ..... 11

**I.7.8. Les rifamycines** ..... 11

**I.7.9. Sulfamides** ..... 12

**I.8 Critères de choix en antibiothérapie** ..... 12

**I.8.1. Le Germe** ..... 12

**I.8.2. Le site de l'infection** ..... 12

**I.8.3. Le terrain** ..... 12

**I.8.4. Risque écologique** ..... 13

**Chapitre II :** ..... 14

**Problématique de la résistance bactérienne** ..... 14

**II.1. Définition de la résistance aux antibiotiques** ..... 15

**II.2. Types de résistance** ..... 15

**II.2.1. La résistance naturelle** ..... 15
**II.2.2. La résistance acquise** ..... 16
**II.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques** ..... 20
**II.3.1. La destruction ou l'inactivation du médicament par des enzymes** ..... 21
**II.3.2. Le blocage de la pénétration dans la cellule** ..... 21
**II.3.3 La modification de la cible du médicament** ..... 21
**II.3.4 L'expulsion du médicament** ..... 21
**II.4. Facteur contribuant à la résistance** ..... 22
**II.5 La multi résistance** ..... 26
**II.6. Les bactéries multi-résistantes** ..... 26
**II.6.1. Définition** ..... 26
**II.6.2. Les types de BMR** ..... 27
**II.7. Conséquence de la résistance bactérienne** ..... 29
**II.8. Méthodes de détermination de la résistance bactérienne** ..... 30
**II.8.1. Antibiogramme par diffusion des disques** ..... 30
**II.8.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)** ..... 30
**III.8.4. Etude de l'effet de l'association des antibiotiques sur les bactéries : la synergie** ..... 33
**Chapitre III : Matériel et Méthodes** ..... 34
**III.1. Objectif de l'étude** ..... 35
**III.2. Lieu et durée de l'étude** ..... 35
**III.3. Matériels, réactifs et milieux utilisés** ..... 37
**III.3.1 Matériels** ..... 37
**III.3.2 Milieux de culture** ..... 38
**III.3.3 Réactifs** ..... 39
**III.3.4 Disques d'antibiotiques** ..... 40
**III.3.5 Matériel biologiques** ..... 40
**III.4. Méthodologie de travail** ..... 40
**III.5 Les prélèvements** ..... 42
**III.6 Méthodologie de diagnostique** ..... 42
**III.6.2 Examen cytobactériologique de pus** ..... 44
**III.7 Identification** ..... 46
**III.7.1 Etude macroscopique** ..... 47
**III.7.2 Etude microscopique** ..... 47
**III.7.3 Etude biochimique** ..... 48
**III.8 Détermination de la sensibilité d'une souche bactérienne à un antibiotique utilisant l'antibiogramme** ..... 51

**Chapitre IV : Résultats et Discussions** ..... 58
**IV.1. Introduction** ..... 59
**IV.2. Prélèvements** ..... 59
**IV.2.1. Répartition des cultures positives et négatives des prélèvements** ..... 59
**IV.2.2. Répartition des BMR dans les prélèvements selon le sexe** ..... 61
**IV.2.3. Répartition des BMR dans les prélèvements selon le service d'hospitalisation** ..... 62
**IV.3. Isolement et identification des souches** ..... 63
**IV.3.1. Etude macroscopique** ..... 63
**IV.3.2. L'aspect microscopique** ..... 66
**IV.3.3. Identification biochimique** ..... 67
**IV.4. Répartition des BMR selon l'espèce** ..... 70
**IV.5. Détermination du profil d'antibiorésistance** ..... 71
**IV.5.1. Les résultats des antibiogrammes pour les Entérobactéries type BLSE** ..... 71
**IV.5.2. Les résultats d'antibiogramme pour les staphylocoques aureus résistants à la méticilline** ..... 78
**IV.5.3. Les résultats d'antibiogramme pour Pseudomonas aeruginosa** ..... 80
**IV.5.4. Les résultats d'antibiogrammes pour l'Acinetobacter baumanii** ..... 83
**IV.6. Conclusion** ..... 85
**Conclusion générale** ..... 86
**Références bibliographiques** ..... 89
**Annexes** ..... 90

# LISTE DES TABLEAUX

**Tableau I.1 : Classification des antibiotiques selon leur action.....7**

**Tableau I.2 : Mécanismes d'action des grandes familles d'antibiotiques.....9**

**Tableau II.1 Les principaux antibiotiques utilisés et les principales raisons de leur utilisation .....24**

**Tableau II.2 Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques .....25**

**Tableau III.1 récapitule tous les antibiotiques utilisés.....40**

**Tableau III.2 Technique d'antibiogramme (diffusion de disques antibiotiques).....51**

**Tableau III.3 Liste des antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme pour chaque espèce.....53**

**Tableau IV.1 : Répartitions des prélèvements.....59**

**Tableau IV.2 : Répartitions des prélèvements selon le sexe.....61**

**Tableau IV.3 : Répartitions des prélèvements selon le service hospitalier.....62**

**Tableau IV.4 : Caractères morphologiques des bactéries à l'état frais.....66**

**Tableau IV.5 : Répartition des BMR selon l'espèce.....70**

**Tableau IV.6 : Résultats des antibiogrammes des souches de Klebsiella pneumoniae type BLSE.....72**

**Tableau IV.7 : Résultats des antibiogrammes des souches de Escherichia coli type BLSE.....74**

**Tableau IV.8 : Résultats des antibiogrammes des souches de Proteus mirabilis type BLSE.....76**

**Tableau IV.9 : Résultats des antibiogrammes de staphylocoque aureus résistante à la méticilline.....79**

**Tableau IV.10 : Résultats des antibiogrammes de Pseudomonas aeruginosa.....81**

**Tableau IV.11 : Résultats des antibiogrammes de Acinetobacter baumanii.....83**

# LISTE DES FIGURES

**Figure I.1 : Chronologie de la découverte des principales classes d'antibiotiques .....5**

**Figure I.2 : Mécanisme d'action des antibiotiques .....8**

**Figure II.1 : la transformation bactérienne.....17**

**Figure II.2 : la conjugaison bactérienne.....18**

**Figure II.3 : la transduction bactérienne.....19**

**Figure II.4: Principaux mécanismes bactériens de résistance aux antibiotiques ..... 22**

**Figure II.5 Catégorisation d'une souche bactérienne en « sensible », «intermédiaire » ou « résistante » en fonction de la CMI et des concentrations. critiques c et C……..……..……..30**

**Figure II.6 Système E-test…….……..…….…….……..……..……..…….....…..31**

**Figure II.7 déterminations de la CMI par la micro dilution en milieu liquide……...……...31**

**Figure II.8 Détermination de la CMI et la CMB…….……..……..……..……..……..……32**

**Figure III.1 : L'établissement public de l'hôpital Mohamed Boudiaf à Médéa……..…….35**

**Figure III.2 : Matériels utilisés…….……..……..……..……..……..……..……..…37**

**Figure III.3 : Les milieux d'isolement utilisés.……..……..……..……..……..……...38**

**Figure III.4 : API 20 E……..……..……..……..……..……..……..……..……...38**

**Figure III.5 Les réactifs utilisés…….……..……..……..……..……..……..……...39**

**Figure III.6 : Le matériel biologique…..……..……..……..……..……..……..……...40**

**Figure III.7 : Le protocole expérimental suivi pour étudier la sensibilité des bactéries aux antibiotiques…… ……..41**

**Figure III.8 : Interprétation des résultats de l'examen microscopique des urines…..……..…..43**

**Figure III.9 Ensemencement d'urine dans la gélose nutritive……..……..……..……44**

**Figure III.10 Ensemencement de pus……..……..……..……..……..……..……...46**

**Figure III.11 Les étapes de coloration de gram……..……..……..……..……48**

**Figure III.12 Technique de catalase ……..……..……..……..……..……..……...50**

**Figure III.13 Technique d'oxydase…….……..……..……..……..……..……..…….51**

**Figure III.14 Disposition des disques d'antibiotique dans la gélose MH…..……..……..……..53**

**Figure III.15 L'antibiogramme……..……..……..……..……..……..……..……...54**

**Figure III.20 Test de détection de staphylococcus aureus…..……..……..……..……...55**

**Figure III.21 Détection de deux souches différentes d'entérobactéries type BLSE…..……..57**

**Figure IV.1 : Répartition des prélèvements selon le résultat de culture……..……..……..59**

**Figure IV.2 : Répartition des cultures positives selon le type de bactéries…..……..……..…….60**

**Figure IV.3 : Répartitions des prélèvements selon le sexe……..……..……..……..……..…61**

**Figure IV.4 : Répartitions des prélèvements selon le service hospitalier……..……..……62**

**Figure IV.5 : Identification macroscopique d'entérobactérie (KPN)……..……..……..……..64**

**Figure IV.6 : Identification macroscopique de Staphylocoque aureus……..……..……..……..64**

**Figure IV.7 : Identification macroscopique de Pseudomonas aerginosa……..……..…….....65**

**Figure IV.8 : Identification macroscopique de Acinetobacter baumannii……..65**

**Figure IV.9 : Examen microscopique après coloration de Gram (Gx100)…….……..67**

**Figure IV.10 : Identification biochimique par galerie API…….……...67**

**Figure IV.11 : Résultat du test d'oxydase pour Pseudomonas aeruginosa…….…….…….68**

**Figure IV.12 : Résultat du test de catalase…….…….…….…….…….…….…….69**

**Figure IV.13 : Mise en évidence de la coagulase libre chez staphylococcus aureus…….……...69**

**Figure IV.14 : Répartition des BMR selon l'espèce…….…….…….…….…….……...70**

**Figure IV.15 : Antibiogramme d'une souche de klebsiella pneumoniea type BLSE…….……..71**

**Figure IV.16 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de Klebsiella pneumoniae BLSE…….…….…….…….…….…….…….…….…….……...73**

**Figure IV.17 : Antibiogramme d'une souche d'Escherichia coli…….…….…….…….…73**

**Figure IV.18 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'E.Coli type BLSE…….…..75**

**Figure IV.19 : Antibiogramme d'une Proteus mirabilis type BLSE…..…….…….…….…..…75**

**Figure IV.20 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de Proteus mirabilis type BLSE…….…….…….…….…….…….…….…….…….……...77**

**Figure IV.21 : Antibiogramme pour échantillon de staphylocoque aureus résistante à la méticilline…….…….…….…….…….…….…….…….…….……...78**

**Figure IV.22 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de staphylocoque aureus résistante à la méticilline…….…….…….…….…….…….…….…….…….……..80**

**Figure IV.23 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de Pseudomonas aeruginosa…….…….…….…….…….…….…….…….…….……..81**

**Figure IV.24 : Antibiogramme pour échantillon de l'Acinetobacter baumanii…….83**

**Figure IV.25 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de l'Acinetobacter baumanii…….…….…….…….…….…….…84**

# LISTE DES ABREVIATIONS

**A.baumannii :** Acinetobacter baumannii

**ADN :** Acide désoxyribonucléique

**AMC :** Amoxicilline+ Acide clavulanique

**AMP :** Ampicilline.

**AMX :** Amoxicilline

**AN/AK :** Amikacine.

**ARN :** Acide ribonucléique

**ARNm :** Acide ribonucléique messager

**ARNt :** Acide ribonucléique de transfert

**ATB :** Antibiotique

**ATM/AZM** : Aztréonam

**bactérie F- :** Bactérie appauvrit de facteur sexuel

**bactérie F+ :** Bactérie portante de facteur sexuel

**BCP :** Bouillon lactosé au BromoCrésol Pourpre

**BGN :** Bactéries à gram négatif

**BLSE :** β-lactamases à spectre étendu

**BMR :** Bactéries Multi Résistantes

**C/CHL :** Chloramphénicol(C/CHL)

**CASFM :** Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**CAZ :**Céftazidime

**CIP :** Ciprofloxacine

**CMB :** Concentration Minimale Bactéricide

**CMI :** Concentration Minimale Inhibitrice

**CS :** Colistine

**CTX :** Céfotaxime.

**CZ :** Céfazoline

**DA :** Clindamycine

**DHFR :** Dihydro folate-réductase

**DHPS :** Dihydro pteroate-synthétase

**DO :** Densité optique

**E :** Erythromycine.

**ECBU :** Examen Cytobactériologique des Urines

**ERV :** Entérocoque Résistante à la Vancomycine

**F/FT :** Furanes

**FA :** Acide fusidique

**FOS/FF :** Fosfomycine

**FOX :** Céfoxitine.

**GEN :** Gentamycine

**GN** :Gélose nutritive

**GSC** : Gélose au sang cuit

**Gynéco :** Gynécologie

**Hémato :** Hématologie

**IgG :** Immunoglobuline G

**IMP :** Imipénème.

**IN :** Infection nosocomiale

**L :** Lincomycine.

**LVX/LE :** Lévofloxacine

**MF :** McFarland

**MH :**La gélose Mueller Hinton

**Ml :** Millilitre

**NA :**Acide nalidixique

**NET:** Nitelmycine

**OFX :** Ofloxacine

**OX :** Oxacilline.

**P :** Pénicilline.

**P.aeruginosa :** Pseudomonas aeruginosa

**PAB :**l'acide para-amino-benzoïque

**PAMR :** Pseudomonas aeruginosa multi résistante

**PIP:** Piperacilline

**PLP** : protéines liant la pénicilline

**PRI :** Pristinamycine.

**RIF :** Rifampicine.

**SARM :** Staphylocoque Aureus doré Résistant à la Méticilline

**SXT/COT :** Triméthoprime + Sulfamides

**TE/TET :** Tétracycline

**TIC :** Ticarcilline

**TOB:** Tobramycine

**Traumato :** Traumatologie

**UMC :** Urgence Médico Chirurgicale

**VA :** Vancomycine.

# Introduction générale

Les bactéries pathogènes sont responsables de plusieurs maladies épidémiques et pandémiques **[1].** Ces infections présentent sans conteste la plus grave menace pour la santé à l'échelle planétaire **[2].**

Les antibiotiques sont parmi les médicaments les plus efficaces pour le traitement des infections bactériennes. Depuis la découverte fortuite de la pénicilline par Alexander Fleming en 1928, de nombreuses molécules d'antibiotiques ont été développées et commercialisées. En offrant un remède simple à un certain nombre de maladies infectieuses graves, qui étaient autre fois la principale cause de décès, les antibiotiques ont permet de sauver tant de vies humaines et améliorer notre espérance de vie **[3,4].**

Cette révolution dans les pratiques médicales nous a laissé penser que la guerre contre les infections bactériennes était gagnée **[2].** Cependant, après moins d'un demi-siècle, les infections microbiennes sont devenues récurrentes du fait de l'apparition progressive des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques, ou encore même, multirésistantes.

Le mauvais usage des agents antimicrobiens et leur large utilisation a aidé ces bactéries dotées d'un incroyable pouvoir d'adaptation à prendre progressivement le dessus sur les antibiotiques. En effet, les antibiotiques agissent non seulement sur la bactérie responsable de l'infection à traiter, mais également sur les bactéries du tube digestif qui sont des bactéries non-pathogènes utiles **[1].**

Ce sont donc les bactéries, et non les êtres humains ou les animaux, qui deviennent résistantes. Elles peuvent alors provoquer chez l'homme ou l'animal des infections plus difficiles à traiter que celles dues à des bactéries non résistantes **[2]**

La prévalence des infections associées aux soins causées par des bactéries multi-résistantes est en augmentation. Ce phénomène pathologique et microbiologique constitue un challenge dans le contrôle des infections et une menace pour les patients. Ces dernières sont associées à des conséquences néfastes dont la durée d'hospitalisation plus longue, des taux de mortalités plus élevés et une augmentation des dépenses de soins. Elles sont responsables de difficultés, voire d'impasses et des échecs thérapeutiques pouvant devenir rapidement incontrôlables **[5].**

L'évolution rapide de la résistance bactérienne aux antibiotiques est un phénomène actuellement préoccupant dans les pays en voie de développement où les pathogènes résistants aux antibiotiques peuvent avoir une plus forte prévalence dans certains pays africains. L'Algérie est un pays du nord de l'Afrique où les récentes données de résistance aux antibiotiques indiquent une situation inquiétante. En effet, ces dernières années ont été marquées par l'émergence et la dissémination de nouveaux gènes de résistance notamment dans le nord du pays **[6]**.

Il apparaît pertinent, d'analyser cette question de résistance, afin d'identifier les microorganismes en causes et d'aboutir à une meilleure compréhension des agents infectieux et leur sensibilité aux antibiotiques. Considérant l'importance de telle question, qu'il nous a paru nécessaire d'entreprendre cette étude.

L'objectif assigné à notre travail expérimental, réalisé au niveau de l'hôpital de Médéa, consiste à isoler et identifier des bactéries résistantes à partir des prélèvements d'urines et de pus et de déterminer leur profile d'antibiorésistance. Par la suite, et afin de lutter contre les bactéries résistantes identifiées, nous avons évalué le pouvoir antibactérien des antibiotiques les plus utilisés en thérapeutique.

Les travaux réalisés dans ce mémoire sont présentés en quatre chapitres :

- ✓ Dans le premier chapitre, nous verrons tout d'abord des généralités sur les antibiotiques en replaçant le contexte de leur découverte, les familles d'antibiotiques, leurs caractéristiques et leurs modes d'action.
- ✓ Dans le deuxième chapitre, les différents aspects de la résistance bactérienne aux antibiotiques seront abordés notamment les types de résistance et leurs mécanismes principaux.
- ✓ Le troisième décrit en détail le matériel et les méthodes utilisées pour l'élaboration de ce travail expérimental.
- ✓ Le quatrième et dernier chapitre présente les résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

On clôture notre mémoire par une conclusion qui fera la synthèse de l'essentiel de cette thématique traité dans l'ensemble des chapitres ainsi que les prescriptives envisagées.

# Chapitre I : les antibiotiques

## I.1 Définition des antibiotiques

Les antibiotiques (du grec anti : contre ; biotikos : concernant la vie) se définissent comme toute substance capable d'agir sur des cellules bactériennes, soit inhiber la croissance ou même tuer ces microorganismes, sans affecter les cellules eucaryotes **[7].**

Les antibiotiques sont des agents dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique. Ils agissent à faible dose pour inhiber la croissance des micro-organismes ou pour les détruire. Ils peuvent être produits de manière naturelle par des champignons et des bactéries ou obtenus par synthèse et hémi synthèse.

Nous avons recours à leur utilisation de deux manières selon leur spectre d'activité, c'est pour cela que l'on oppose les traitements documentés aux traitements dits probabilistes :

- Les traitements probabilistes sont administrés sans avoir une connaissance précise de la bactérie impliquée, ni même de sa sensibilité aux antibiotiques. On utilisera alors les antibiotiques dits à "large spectre", le choix de la molécule est basé sur les micro-organismes infectants les plus probables avec un risque minimum d'allergie ou de toxicité.
- Les traitements documentés sont administrés après avoir déterminé la sensibilité des bactéries à l'antibiotique, ce qui sous-entend d'avoir préalablement isolé la bactérie en cause. Ce traitement peut être de première intention ou faire suite au traitement probabiliste une fois les données nécessaires connues **[8].**

## I.2 Historique

Les antibiotiques constituent une des plus importantes classes thérapeutiques et ont révolutionné la médecine humaine.

L'histoire des antibiotiques est vieille de seulement soixante-dix ans au regard du premier succès mondial de la pénicilline.

Plusieurs savants, tels Pasteur et Joubert, en 1877, et Vuillemin, en 1889, ont observé que certains micro-organismes en inhibaient d'autres combattaient telle ou telle maladie.

Le microbiologiste Alexander Fleming en 1929, sur l'une de ses cultures de Staphylococcus aureus, contaminée par une moisissure : Penicillium notatum, observa que la bactérie ne poussait plus dans la zone où se développait la moisissure. Fleming soupçonna que celle-ci sécrétait une substance inhibitrice qu'il nomma Pénicilline. Il prouva par la suite que la Pénicilline n'était pas nocive pour l'homme et suggéra de l'utiliser comme antibiotique.

En 1939, Florey et Chain purifièrent la pénicilline G et, avec Abraham et Heatley, démontrent ses vertus comme médicament.

Waksman.S passa au crible des milliers de microorganismes. Avec Schatz et Bugie, il découvrit la "Streptomycine" en 1944 dans des cultures de la bactérie Streptomyces griseus.

En 1948, Ehrlich isola le "Chloramphénicol" à partir de Streptomyces et Duggar la Tétracycline.

Streptomyces se révéla une bactérie précieuse : elle est à l'origine de nombreux autres antibiotiques comme l'érythromycine (1952), l'Amphotéricine B (1956), la Vancomycine (1956), la kanamycine (1957), la Lincomycine (1962). En 1963, c'est la Gentamicine qui fut extraite d'une moisissure.

À partir de là, les chercheurs du monde entier n'eurent de cesse à trouver de nouveaux antibiotiques et de créer des variétés de semi-synthèse (tel le Chloramphénicol) à partir des souches existantes, ou de synthèse chimique (tels les Sulfamides, les Quinolones) dans le but d'une plus grande efficacité **[9]** .

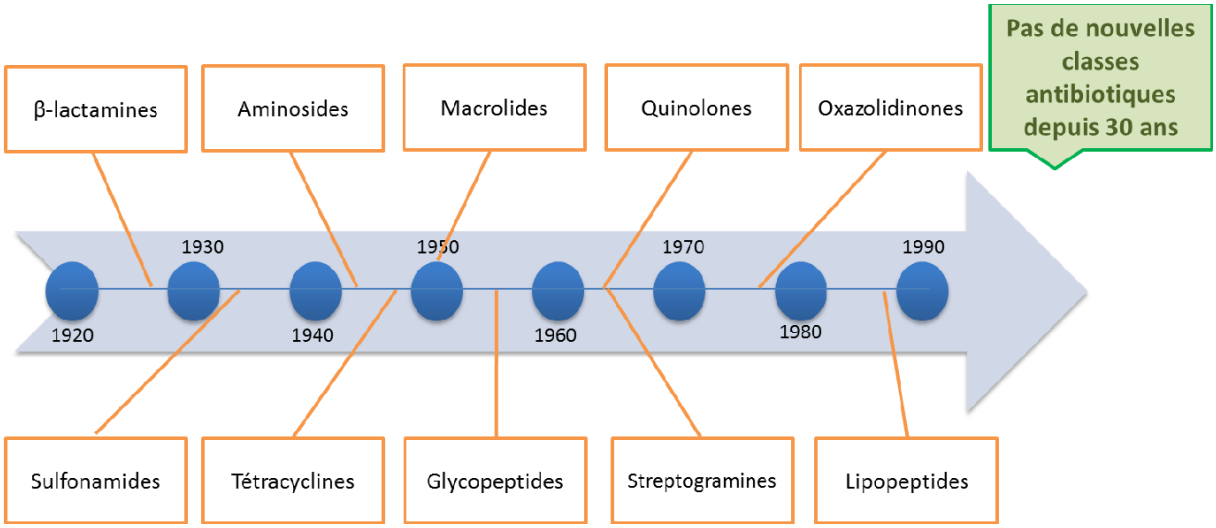



**Figure I.1 :** Chronologie de la découverte des principales classes d'antibiotiques **[10]**

## I.3 Origine des antibiotiques

Il existe des antibiotiques d'origines naturelle ou synthétique :

### I.3.1. Origine naturelle

Parmi les 10 000 antibiotiques d'origine naturelle recensés dans le monde, 20 % proviennent de champignons : Penicillium, Cephalosporium, Aspergillus, 70 % proviennent d'actinomycètes microfilaments dont le genre Streptomyces est un producteur majeur d'antibiotiques : tétracyclines, aminoglycosides et 10 % proviennent des bactéries (non actinomycètes), en particulier des genres Bacillus et Pseudomonas. La bacitracine utilisée pour certains traitements locaux en est un exemple. **[11]**

### I.3.2. Origine synthétique

Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes. Parmi les antibiotiques d'origine synthétiques on distingue : Sulfamides, métronidazole, isoniazide, acide nalidixique et les fluoroquinolones, pénèmes. On distingue aussi des antibiotiques d'origine semi-synthétique, ils sont obtenus en modifiant en laboratoire une substance produite par un micro-organisme **[11].**

## I.4 Effets des antibiotiques sur les bactéries

L'action des antibiotiques sur les germes peut prendre deux aspects: bactériostase et bactéricidie. On peut dit que ces deux aspects sont complémentaires et sont des degrés différents d'une seule et unique espèce bactérienne.

### I.4.1 Bactériostase

C'est l'arrêt temporaire du développement bactérien qui se produit par l'inhibition partielle ou totale de leur croissance. Cette inhibition cesse dès que l'ATB disparait, et la croissance peut alors reprendre. L'estimation de cette activité pratiquement se fait par la mesure de la CMI. **[12]**

### I.4.2 Bactéricidie

C'est l'arrêt définitivement du développement bactérien par la mort cellulaire avec/ou sans lyse . L'estimation de Cette activité pratiquement se fait par la messure de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) **[12].**

**Tableau I.1 :** Classification des antibiotiques selon leur action **[7].**

| **Bactériostatique** | **Bactéricide** |
|---|---|
| Macrolides<br>Sulfamidés<br>Tétracyclines<br>Lincosamides<br>Nitrofuranes<br>Phénicolés<br>Ethambutol<br>Cyclosérine | B-lactames<br>Fluoroquinolones<br>Aminoglycosides<br>Nitroimidazoles<br>Glycopeptides (bactéricidie lente)<br>Synergistines<br>Polymyxines<br>Ansamycines<br>Acide fusidique<br>Isoniazide<br>Pyrazinamide |

## I.5 Critères d'efficacité d'un antibiotique

Pour que l'antibiotique choisi puisse être actif sur la ou les bactéries à l'origine de l'infection, il faut :

- ✓ Qu'il possède un mode d'action qui lui permette d'agir sur cette bactérie
- ✓ Qu'il parvienne là où est la bactérie et à des concentrations suffisamment élevées
- ✓ Qu'il y reste le temps suffisant pour lui permettre soit de la détruire, soit d'en arrêter la multiplication.

L'objectif usuel de l'antibiothérapie est de diminuer suffisamment le nombre de bactéries présentes pour que le système immunitaire puisse éliminer les bactéries restantes. Cependant, si le système immunitaire est altéré (exemples : maladies auto-immune, infection par le virus du SIDA, immunodépression suite à une chimiothérapie…) ou si l'infection fait courir un risque vital, il devient nécessaire que l'antibiotique détruise toutes les bactéries.

Il faut aussi que dans les conditions d'administration qui permettent d'obtenir l'effet antibactérien, l'antibiotique n'induise pas ou peu d'effets indésirables inacceptables voire toxiques à d'autres niveaux et dégrade les autres organes sains **[13].**

## I.6. Modes actions des antibiotiques

Les antibiotiques agissent, en général, à un niveau précis des structures bactériennes, Ils peuvent agir sur 4 parties différentes de la structure de la bactérie (Figure I.2) **[14].**

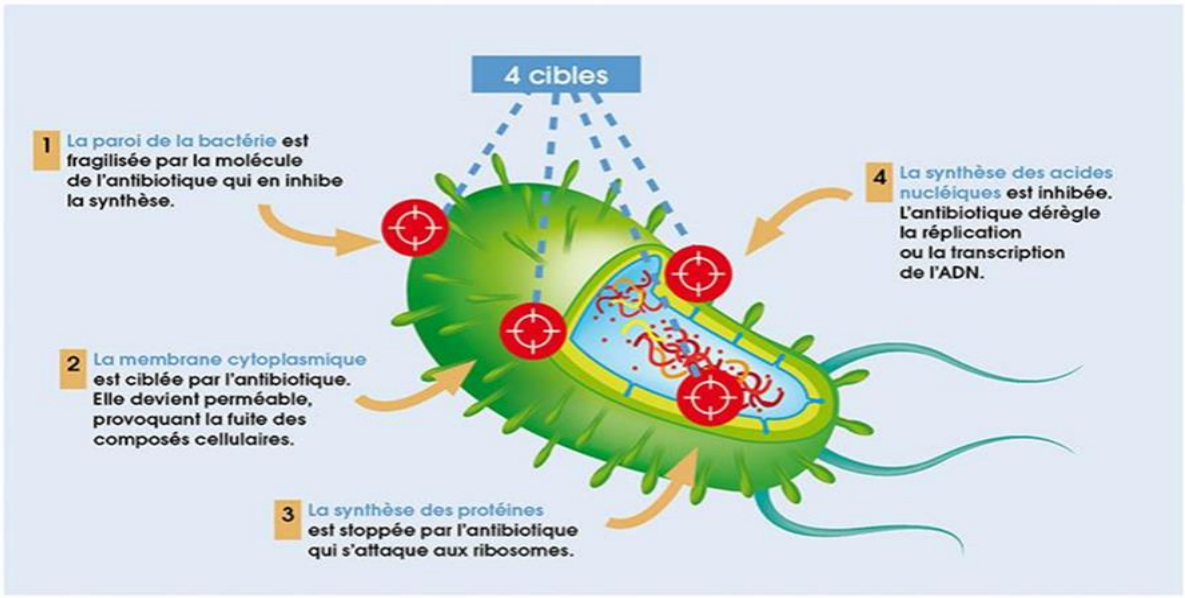



**Figure I.2 :** Mécanisme d'action des antibiotiques **[14]**

### I.6.1. Les antibiotiques agissant sur la paroi

Ils agissent en interférant avec la biosynthèse du peptidoglycane. Les précurseurs du peptidoglycane sont synthétisés dans le cytoplasme et assemblés à l'extérieur de la membrane cytoplasmique. Lorsque les bactéries sont en phase de croissance, il existe des phénomènes de synthèse et de destruction du peptidoglycane. L'équilibre entre ces deux phénomènes est rompu par les ATBs inhibant la synthèse de peptidoglycane. Il en résulte l'altération de la paroi ayant un effet létal pour la bactérie. Les classes les plus importantes dans ce type d'ATBs sont les Bêtalactamines, les Glycopeptides ainsi que la Fosfomycine **[15].**

### I.6.2. Les antibiotiques actifs sur la membrane cytoplasmique

Ils agissent sur les membranes lipidiques, la membrane externe d'abord, puis la membrane cytoplasmique. La fixation d'antibiotique va désorganiser la structure de ces membranes et les rendre perméable, ce qui aboutit à la mort rapide de la bactérie. Parmi ces antibiotiques on distingue les polymexines **[16]**.

### I.6.3. Les antibiotiques qui effectuent une inhibition de la synthèse protéique

L'antibiotique inhibe la synthèse protéique de la bactérie en s'attaquant aux ribosomes. Il se fixe sur une des deux sous-unités (30Set50S) du ribosome afin d'empêcher la formation de la chaîne polypeptidique, c'est-à-dire de la protéine. Les aminosides agissent selon ce mode d'action **[17]**.

### I.6.4. Les antibiotiques qui inhibent la synthèse ou le fonctionnement des acides nucléiques

En inhibant la synthèse ou même le fonctionnement des acides nucléiques de différentes façons selon les familles d'antibiotiques soit par :

- Inhibition de la réplication de l'ADN (quinolones)
- Inhibition de la transcription acide ribonucléique (ARN) polymérase (rifamycines) **[18]**

**Tableau I.2 :** Mécanismes d'action des grandes familles d'antibiotiques **[19]**

| Mécanisme d'action | Famille d'antibiotique |
|---|---|
| Inhibition de la synthèse de la paroi | Pénicillines ; céphalosporines; carbapénémes: daptomycine; monobactames; glycopéptides |
| Inhibition de la fonction membranaire | Polymixines, lipopéptides |
| Inhibition de la synthèse protéique | Tétracyclines ; aminosides ; oxazolidinones, streptogramines; macrolides; lincosamides |
| Inhibition de la synthèse de l'ADN | Quinolones et fluoroquinolones |
| Inhibition de la synthèse de l'ARN | Rifampicine, Métronidazole |

## I.7. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action.

Les principales familles selon la nature chimique sont :

### I.7.1. Les betalactamines

Les β-lactamines sont les antibiotiques de première ligne dans le traitement des infections causées par les entérobactéries. La structure de base des β-lactamines est le noyau azétidinone qui contient la structure carbonyle lactame indispensable à l'activité des molécules **[20].**

Les β-lactamines inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane (polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries à Gram négatif et positif).Les cibles des β-lactamines sont des enzymes situées dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne et appelées protéines liant la pénicilline (PLP). Ces enzymes correspondent aux transpeptidases impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. La fixation des β-lactamines sur ces PLP est responsable de l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane **[21]**.

Les carbapénèmes se fixent principalement aux PLP1 et PLP2 contrairement aux céphalosporines et aux aminopénicillines qui se fixent à la PLP3 **[22]**.

### I.7.2. Les aminosides ou aminoglycosides

Ils se fixent de manière irréversible sur l'ARN 16S de la sous unité 30S du ribosome bactérien, entraînant des erreurs de lecture, ce qui aboutit à la synthèse de protéines anormales, et à la mort cellulaire **[17]**.

### I.7.3. Phenicols: chloramphénicol et thiamphenicol

- Chloramphénicol

Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique à large spectre. En Algérie, il est réservé au traitement de la fièvre typhoïde.

- Thiamphénicol

Le thiamphénicol est très voisin chimiquement du chloramphénicol, son spectre d'action est similaire. Gram positif et les cocci à Gram négatif.

En Algérie, ces molécules sont réservées aux traitements des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes. Elles agissent au niveau de la sous unité 50S du ribosome. Ceci a pour conséquence une inhibition de la synthèse des protéines **[23]**.

### I.7.4. Les tétracyclines

Les Tétracyclines empêchent la fixation des amino-acyl-ARN sur le site A des ribosomes. Ils inhibent la synthèse des protéines par fixation à la fraction 30S des ribosomes bactériens et cette action est bactériostatique. En outre elles altèrent la membrane cytoplasmique, ce qui inhibe la réplication de l'ADN par perte de nucléotides **[24].**

### I.7.5. Les polypeptides

On distingue 7 groupes :

- Peptides linéaires
- Peptides cycliques représentés par la Capréomycine, la Viomycine, la Dcycloserine ou Dcycloceine,
- Glycopeptides représentés par la Vancomycine ; la Ristocetine et la LY33332 (anti Staph. Méti Retanti entérocoque Vanco- TeicoR),
- Glyco lipopeptides représentés par la telcoplanine; la ramoplanine,
- Lipopeptides représentés par la Daptomycine (en développement clinique), la Polymyxine (actif sur BGN),
- Polypeptides thiazolidiques: Bacitracine (actif sur cocci à Gram positif),
- Divers :

Ces divers groupes se subdivisent en sous-groupes en fonction de leur structure chimique, de l'activité antibactérienne, du mécanisme d'action, de la nature de la cible cellulaire **[18].**

### I.7.6. Les macrolides

Ce sont des inhibiteurs de la peptidyl-transférase qui permet l'élongation de la chaîne peptidique au niveau de la sous unité 50S du ribosome. Ils empêchent ainsi la réunion des deux sous unités par une inhibition compétitive du dernier stade de la synthèse des protéines **[24]**.

### I.7.7. Les quinolones

Ces ATB s inhibent la réplication de l'ADN, leur action se situe à différentes étapes de la synthèse de l'acide nucléique. Les Quinolones ciblent l'ADN gyrase formé de deux sous unités (gyrase A et gyrase B) et la topoisomérase II, responsable du sur enroulement de l'ADN bactérien sur lui-même. L'inhibition de la topoisomérase Il induit des cassures dans l'ADN (effet clastogène) et entrainera la mort de la bactérie **[25]**.

### I.7.8. Les rifamycines

Ces produits inhibent la synthèse de l'Acide Ribo nucléique messager (ARNm) par blocage de la transcriptase qui est un Acide Ribonucléique (ARN) polymérase ADN dépendante. Ils agissent par inhibition des synthèses protéiques. Par fixation sur les deux sous-unités bêta, elles empêchent l'initiation de la chaîne de transcription de l'ADN en ARN et son élongation **[26]**.

### I.7.9. Sulfamides

Ce sont des inhibiteurs enzymatiques de la biosynthèse de l'acide tétrahydro folique, précurseur des bases puriques et pyrimidiques constitutives de l'ADN bactérien. Les sulfamides se comportent comme des analogues structuraux de l'acide para-amino-benzoïque (PAB): molécule représentant le point de départ de la synthèse des folates. Ils bloquent ainsi par inhibition compétitive la dihydro pteroate-synthétase (DHPS) qui analyse la première réaction de cette chaîne métabolique. Les diamino pyrimidines (Triméthoprime) agissent par inhibition de la dihydro folate-réductase (DHFR) qui permet la réduction de l'acide hydro folique en acide tétrahydro folique **[15]**.

## I.8 Critères de choix en antibiothérapie

Le choix optimal d'un antibiotique dépend de plusieurs facteurs :

### I.8.1. Le Germe

Les prélèvements bactériologiques doivent impérativement précéder la mise en route d'un traitement antibiotique. Une fois que l'isolement et l'identification de la bactérie sont effectués, il faut procéder à l'étude de la sensibilité aux antibiotiques par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) essentiellement.

### I.8.2. Le site de l'infection

Pour qu'un antibiotique soit actif sur un germe, il est essentiel qu'il le rencontre, et de connaitre les capacités d'un antibiotique à pénétrer suffisamment et à se concentrer en un site donné.

### I.8.3. Le terrain

Le terrain du patient doit également constituer une préoccupation avant la mise en route d'un traitement antibiotique. Il est vrai qu'il y a des états physiologiques facilement contrôlables, mais il existe également des états pathologiques qui peuvent poser de sérieux problèmes dans le choix d'un antibiotique. En effet, certains antibiotiques, en raison de leurs effets toxiques, risquent d'aggraver des tares préexistantes (insuffisance rénale, insuffisance hépatique, SIDA) [**11**].

### I.8.4. Risque écologique

Parmi les effets indésirables des antibiotiques, il y en a un qui a une importance capitale, c'est la modification de la flore bactérienne normale de l'individu qui peut entraîner la sélection de souches résistantes, non seulement à l'antibiotique administré, mais aussi, en fonction de la nature de la résistance, à d'autres familles d'antibiotiques.

### I.8.5. Coût

Devant la consommation importante d'antibiotiques, le coût devient un élément fondamental. Dans certaines circonstances pour traiter une infection, le prix du traitement peut être multiplié par vingt, à efficacité égale. Cette situation appelle à une sérieuse réflexion pour uniformiser les attitudes thérapeutiques dans le sens où, à efficacité égale, le choix sera donné à la molécule la moins coûteuse **[11]**.

.

# Chapitre II :

# Problématique de la résistance bactérienne

## II.1. Définition de la résistance aux antibiotiques

Les antibiotiques constituent l'une des découvertes les plus importantes de la médecine qui a sauvé et qui sauve des millions de vies chaque année, mais leur efficacité est menacée car les bactéries peuvent s'adapter et résister aux traitements. C'est donc lorsque les bactéries sont devenues insensibles aux antibiotiques que l'on parle de résistance, tandis que celles répondant aux antibiotiques sont qualifiées de sensibles **[13].**

L'antibiorésistance se définit aussi comme la capacité d'un microorganisme de résister aux effets des antibiotiques. Elle se développe via sélection naturelle par une mutation aléatoire ou échanges de gènes de résistances (transfert horizontal) entre les bactéries **[27].**

Un micro-organisme est dit résistant lorsque, pour l'une des raisons évoquées, il est capable de se développer en présence d'un taux d'antibiotique significativement plus élevé que le taux habituel. La notion de résistance clinique, est corrélative d'un échec thérapeutique tel que la mauvaise utilisation des antibiotiques, passant par des traitements trop courts ou trop longs, parfois mal dosés, est également pointée du doigt **[27]**.

L'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques est un problème mondial sérieux qui a orienté la recherche pour l'identification de nouvelles biomolécules avec une large activité antibactérienne **[28]**.

## II.2. Types de résistance

La progression de la résistance bactérienne aux antibiotiques cause des infections difficiles à traiter et pose un problème de santé publique. Les bactéries résistantes sont souvent la cause des infections nosocomiales aggravant le pronostic des malades, prolongent leur hospitalisation et augmentent les coûts de traitement. On distingue deux types de résistance bactérienne. La résistance naturelle et la résistance acquise **[11]**.

### II.2.1. La résistance naturelle

La résistance naturelle ou résistance intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne et partagée par toutes les souches de cette espèce. Elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce. 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 **[11]**.

### II.2.2. La résistance acquise

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparait 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 **[11].**

#### II.2.2.1. Résistance par mutation chromosomique

La résistance acquise par mutation chromosomique est un phénomène naturel qui touche, généralement, un seul antibiotique ou une seule famille d'antibiotiques. L'antibiotique révèle la mutation en sélectionnant les bactéries résistantes. Cette résistance est transmissible, permanente, et a, donc, un caractère héréditaire (transmission verticale de bactérie-mère à bactéries-filles). Les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique **[29]**.

La résistance chromosomique résulte d'une mutation qui présente les caractères suivants :

- **La rareté :** une mutation se produit en moyenne toutes les 105 à 1010 divisions mais compte tenu de l'importance des populations bactériennes dans un foyer infectieux, la probabilité d'existence d'une bactérie résistante à un antibiotique n'est pas négligeable.
- **La spécificité :** la mutation n'affecte généralement qu'un caractère et la résistance ne touche qu'un antibiotique ou une famille d'antibiotique ayant le même mode d'action. Il existe toutefois des exceptions notables à cette règle, comme par exemple chez Serratia marcescens et Pseudomonas aeruginosa ou une seule mutation entraîne une résistance simultanée aux bêta-lactamines et aux aminosides.
- **L'indépendance :** La probabilité de deux mutations simultanées est égale au produit du taux de mutation et elle est donc très faible. Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques.
- **La transmissibilité :** Une mutation résulte de la modification d'un gène, elle est permanente, sauf mutation reverse et elle a un caractère héréditaire (transmissible sur un mode vertical de la bactérie mère aux bactéries filles) **[11]**.

**II .2.2.2. Résistance par transfert de matériel génétique exogène (Extra chromosomique)**

Une bactérie peut intégrer du matériel génétique provenant d'un autre organisme sans en être le descendant, par transfert horizontal de gènes selon trois mécanismes : la transformation, la conjugaison et la transduction. Ce sont des transferts unidirectionnels **[29]**.

**A. La transformation**

Découverte en 1928 par Frederick Griffith, la transformation est le transfert d'ADN d'une bactérie donneuse à une bactérie dite en état de compétence (receveuse). Pour la transformation naturelle ou physiologique, l'état de compétence est exigé. Celui-ci n'apparaît qu'à certains stades de la division cellulaire, et seulement pour une partie de la population bactérienne. La fixation d'ADN libre sur une bactérie réceptrice en phase de compétence permettra l'absorption d'ADN polymérisé, et une recombinaison génétique légitime avec acquisition de nouveaux caractères génétiques stables, qui seront, donc, transmis à la descendance. Les bactéries, ainsi transformées, sont appelées des recombinants ou des transformants. La transformation naturelle peut s'observer, par exemple, chez un nombre limité d'espèces bactériennes à Gram + (Streptococcus et Bacillus) ou à Gram - (Neisseria, Branhamella, Acinetobacter, Haemophilus). La transformation in vitro peut se faire par électroporation pour insérer de nouveaux gènes **[29]**

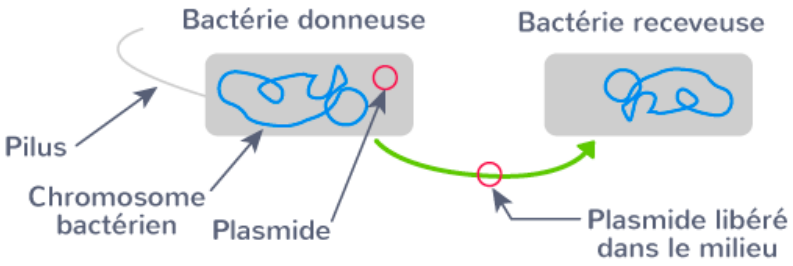



**Figure II.1 :** la transformation bactérienne **[30]**

**B. La conjugaison**

En 1946, Lederberg et Tatum découvrent que du matériel génétique peut être échangé par contact entre 2 souches d'Escherichia coli. Il s'agit d'une méthode sexuée permettant le transfert unidirectionnel d'ADN plasmidique ou chromosomique entre deux bactéries de même espèce. La transmission de matériel génétique d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse s'effectue par l'intermédiaire de pili sexuels (2 à 3 par bactérie F+) qui reconnaissent les zones

de contact à la surface des bactéries F- (par leurs extrémités), s'y fixent, puis se rétractent en rapprochant les deux bactéries.

Ce contact permet la formation d'un pont cytoplasmique de 100 à 300 µm par lequel va s'opérer le transfert de matériel génétique. Le mécanisme de conjugaison a été mis en évidence pour la première fois en 1946 par deux scientifiques américains (Tatum & Lederberg1946) **[29].**

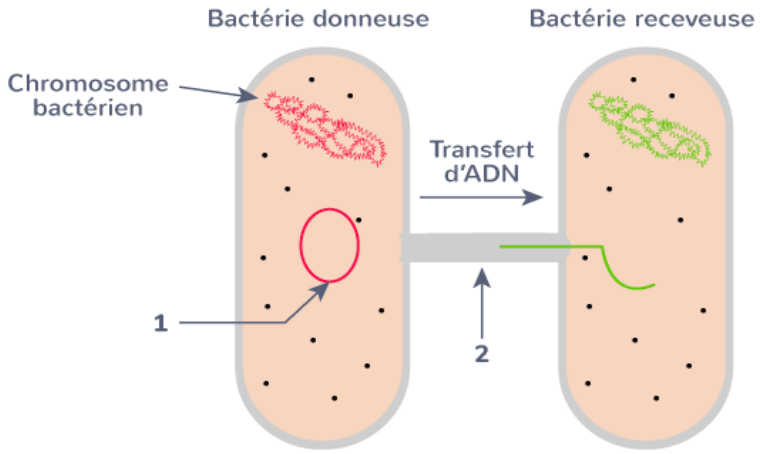



**Figure II.2 :** la conjugaison bactérienne **[31]**

### C. La transduction

La transduction est un transfert d'ADN bactérien partiel, par l'intermédiaire de bactériophages dont le rôle est passif (vecteur). Il existe deux types de transduction : la transduction généralisée, et la transduction spécialisée.

Pour la transduction généralisée, le bactériophage infecte une première bactérie (bactérie donneuse), puis y injecte son ADN viral à travers la paroi de la cellule. De nouveaux phages s'y multiplient, et certains intègrent une partie du génome bactérien. Lors de la libération des phages, ceux-ci infecteront d'autres bactéries.

Dans la transduction spécialisée ou restreinte, la particule transductrice ne porte que certaines parties spécifiques du génome. Elle résulte d'une erreur dans le cycle lysogénique. Ainsi seuls les gènes proches du site d'intégration du prophage peuvent-ils être encapsidés et transférés à une autre bactérie **[29].**

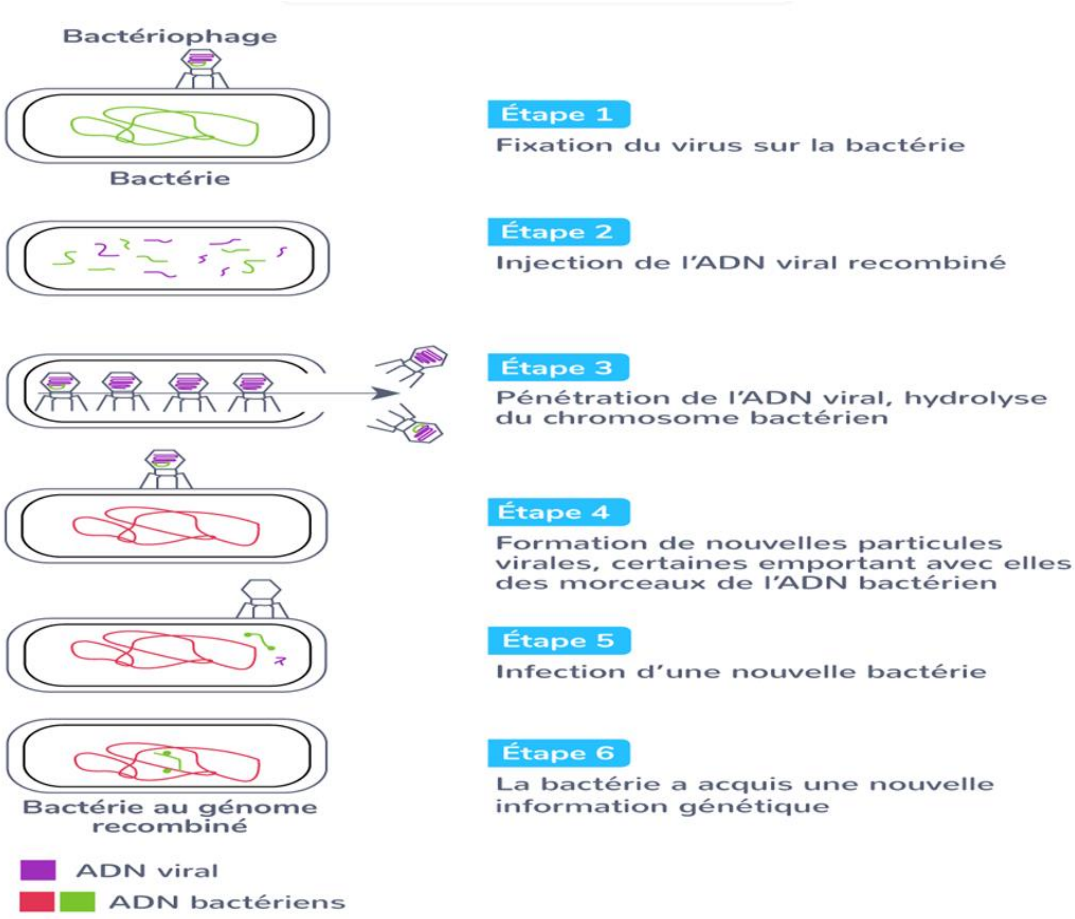



**Figure II.3 :** la transduction bactérienne **[32]**

### II.2.2.3. La résistance par des éléments génétiques mobiles

Les éléments génétiques mobiles qui sont le support de gènes de résistance aux antibiotiques (GRAs) transférables sont **[18] :**

#### A. Les plasmides

Les plasmides sont des molécules circulaires composées d'ADN bicaténaire (double brin) extra chromosomique, pouvant se répliquer de façon indépendante dans les bactéries hôtes, et se transmettre de façon régulière et stable des bactéries mères aux bactéries filles **[18]**.

Les premiers plasmides de résistance aux antibiotiques ont été décrits au japon en 1950, lors d'une épidémie de dysenterie bacillaire à Shigella flexneri. Depuis cette date, des plasmides de résistance ont été retrouvés chez de très nombreuses espèces et on a constaté que la résistance plasmidique concerne de très nombreux antibiotiques. Les caractéristiques de cette résistance sont :

- ✓ Le niveau de résistance plasmidique est en général élevé
- ✓ Phénomène liée directement à l'utilisation d'antibiotiques : les antibiotiques à spectre large peuvent sélectionner dans les populations commensales de l'organisme les bactéries porteuses de plasmides R
- ✓ Phénomène non spécifique d'une famille d'antibiotique. Plusieurs groupes d'antibiotiques différents sont touchés après administration d'un seul d'entre eux.
- ✓ La perte d'un ou plusieurs caractères de résistance est possible mais rare. **[11]**

**B. Les transposons**

Ce sont des fragments d'ADN, capable de changer leur localisation dans le génome sans jamais apparaître à l'état libre. Ils codent pour les déterminants de la transposition et ceux d'autres fonctions telles que la résistance aux antibiotiques en s'intégrant soit dans le chromosome soit dans le plasmide, en allant de l'un à l'autre **[11]** .

Pour la transposition, un transposon a besoin d'enzymes spéciales, telles qu'une intégrase ou une transposase. C'est, habituellement, le transposon lui-même, qui code pour ces protéines.**[18]**

### II.2.2.4. La résistance croisée

La résistance croisée est un phénomène par lequel une bactérie qui a développé une résistance à l'un des antibiotiques d'une classe devient aussi résistante aux autres membres de la même classe. Cela même si elle n'a jamais été exposée à ces molécules. C'est cette résistance croisée qui permet aux β-lactamases à spectre étendu (BLSE) présentes chez les bactéries à Gram négatifs d'avoir une résistance si étendue (β-lactamines et céphalosporines) à tel point qu'elles deviennent un véritable enjeu en santé humaine. **[33]**

### II.2.2.5. La Co-résistance

Plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun des mécanismes confère par résistance croisée la résistance à un groupe d'antibiotique conférant à la bactérie un large spectre de résistance **[34]**.

## II.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les bactéries disposent de certains mécanismes par lesquels elles deviennent résistantes aux agents chimio thérapeutiques. (Figure II.4). **[35]**

### II.3.1. La destruction ou l'inactivation du médicament par des enzymes

Ce sont surtout les antibiotiques d'origine naturelle, tels que les pénicillines et les céphalosporines, qui sont détruits où inactivés par des enzymes. Les médicaments entièrement de synthèse tels que les fluoroquinolones sont moins vulnérables à cet égard, bien qu'ils puissent être neutralisés par d'autres moyens. On peut supposer que les microbes n'ont tout simplement pas eu le temps de s'adapter à ces structures chimiques inhabituelles.

Les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénèmes ont en commun une structure, le cycle B-lactame, que les B-lactamases, des enzymes bactériennes, attaquent et hydrolysent. On connait à l'heure actuelle près de 200 B-lactamases différentes, chacune spécifique d'une variation mineure de la structure du cycle.

La mieux connue des bactéries résistantes et le fameux Staphylocoque doré résistant à la méticilline (SDRM), qui résiste non seulement de la méticilline, mais presque tous les antibiotiques. En outre S. aureus n'est pas la seule bactéries concernée, d'autres agents pathogène tels que Streptococcus pneumoniae, échappent aussi aux B-lactamines **[35]**.

### II.3.2. Le blocage de la pénétration dans la cellule

Les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes que les autres aux antibiotiques. Les structures de leurs parois cellulaires limitent l'absorption de nombreuses molécules en obligeant celles-ci à passer par des ouvertures appelées porines. Chez certains mutants les porines sont modifiées si bien que les antibiotiques ne peuvent pas pénétrer dans l'espace péri plasmique. Fait peut-être plus important, lorsqu'il y a les B-lactamases dans l'espace périplasmique, l'antibiotique qui parvenu jusque-là est attaqué et inactivé **[35]**.

### II.3.3 La modification de la cible du médicament

Pour que la synthèse d'une protéine s'effectue, le ribosome doit interagir avec un brin d'ARMm et des ARNt. Plusieurs antibiotiques, en particulier les aminoglycosides, les tétracyclines et macrolides, inhibent la synthèse des protéines en se liant aux sites de ces interactions. Certaines modifications mineures de ces sites peuvent neutraliser les antibiotiques sans perturber le fonctionnement de la cellule bactérienne de façon appréciable **[35]**.

### II.3.4 L'expulsion du médicament

Certaines protéines de la membrane plasmiques des bactéries à Gram négative sont des pompes qui expulsent les antibiotiques et les empêchent d'atteindre la concentration requise pour qu'ils soient efficaces. C'est avec la tétracycline qu'on a observé ce mécanisme pour la première fois.

On sait aujourd'hui qu'il confère la résistance à presque toutes les grandes classes d'antibiotiques. Les bactéries ont normalement un grand nombre de pompes pour éliminer les substances toxiques **[35]**.

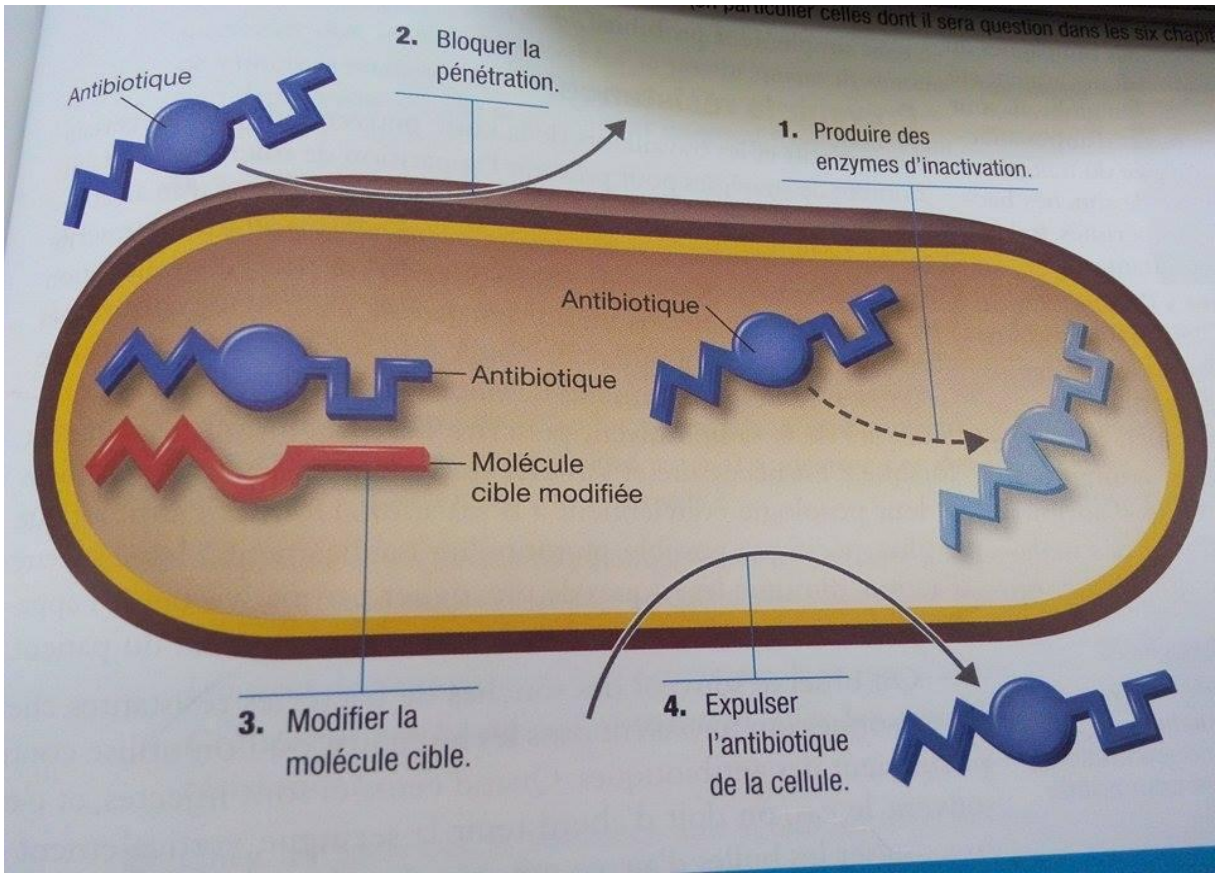



**Figure II.4 :** Principaux mécanismes bactériens de résistance aux antibiotiques **[35]**

## II.4. Facteur contribuant à la résistance

Les principaux facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance bactérienne sont présentés au (tableau II.2) **[36]**.

### II.4.1. Usage inapproprié d'antibiotiques

L'usage abusif des antibiotiques ou leur utilisation inadéquate est principalement responsable de l'émergence de la résistance microbienne, et celle-ci augmente à l'échelle mondiale le nombre croissant de patients plus âgés ou présentant des déficits immunitaires plus marqués, les interventions chirurgicales plus complexes, l'utilisation accrue de procédures invasives, les systèmes de soutien des fonctions vitales plus avancés, comme la ventilation assistée, favorisent une utilisation fréquente et parfois inappropriée d'antibiotiques à large spectre d'activité.

Les traitements des patients simplement contaminés ou colonisés constituent un des principaux exemples d'usage abusif des antibiotiques. L'arrêt du traitement empirique lorsque les cultures sont négatives pourrait réduire considérablement l'utilisation d'antimicrobiens. En milieu communautaire, la pression environnementale sur le corps médical pour l'obtention d'une ordonnance a également contribué fortement au développement de la résistance. Paradoxalement, la sous-utilisation par manque d'accès, posologie insuffisante, mauvaise observance ou antibiotique non approprié semble jouer un rôle aussi important dans l'accroissement de la résistance que la sur utilisation.

### II.4.2. Propagation des souches résistantes

Les bactéries développent de la résistance à la suite d'une exposition aux antibiotiques. La résistance antibiotique se développe à grande échelle selon les étapes suivantes : sélection d'organismes résistants, élimination de la flore normale sensible au médicament et colonisation avec ces micro-organismes résistants, contact d'une personne à l'autre et transmission dans l'environnement puis finalement la transmission globale **[36].**

### II.4.3. Utilisation d'antimicrobiens dans le secteur agro-alimentaire

L'utilisation d'antimicrobiens dans le secteur agroalimentaire contribue au fardeau environnemental de la résistance, puisque des populations bactériennes comportant de nombreuses souches résistantes aux antibiotiques sont libérées dans les excréments. Le transfert d'agents pathogènes résistants des animaux aux êtres humains peut aussi se faire par voie de contact direct ou au moyen d'eau ou de nourriture contaminées et permettre le transfert de gènes de résistance aux bactéries humaines **[36].**

**Tableau II.1** Présente les principaux antibiotiques utilisés et les principales raisons de leur utilisation **[36]**

| Secteur agro-alimentaire | Raisons de leur utilisation | Antibiotiques utilisés |
|---|---|---|
| Animaux destinés à la consommation | Favoriser la croissance ;<br>Prévenir les infections chez les animaux en santé vivant dans des espaces restreints ;<br>Traiter les animaux malades | Glycopeptides, quinolones, streptogramines,<br>Aminosides et céphalosporines |
| Aquaculture | Limiter la production de bactéries sur les poissons | Salmoniculture utilisant de grandes quantités de tétracyclines et de quinolones. |
| Fruits et légumes | Allonger la période de conservation ;<br>Contrôler et prévenir les infections d'origine bactérienne | Maraîchers américains pulvérisant les cultures avec de la tétracycline ou de la streptomycine |

### II.4.4. Utilisation d'antiseptiques et de désinfectants

Les antibactériens, présents dans les dentifrices et incorporés dans de nombreux produits d'entretien ménager, accroissent la pression sélective de souches bactériennes résistantes à ces agents. Une fois présent, le mécanisme conférant la résistance peut entraîner une résistance croisée à l'égard d'autres antimicrobiens **[36].**

**Tableau II.2** Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques **[36]**

| **Facteur** | **Exemple** |
|---|---|
| Émergence de la résistance | Usage abusif d'antibiotiques ;<br>Gravité accrue de l'état des malades hospitalisés ;<br>Manque de fidélité au traitement ;<br>Durée trop courte ou dose sous-thérapeutique ;<br>Diagnostic non confirmé d'infection bactérienne ;<br>Utilisation inadéquate d'antibiotiques dans les pays en voie de développement. |
| Propagation des souches résistantes | Mesures d'hygiène inadéquates dans les hôpitaux ;<br>Non-respect des directives de lutte contre les infections ;<br>Promiscuité des patients hospitalisés ;<br>Réduction du personnel infirmier et de soutien ;<br>Déplacements accrus des patients (transferts de patients colonisés ou infectés entre hôpitaux et milieu communautaire) ;<br>Voyages internationaux |
| Utilisation d'antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire | Animaux destinés à la consommation ;<br>Agriculture et aquaculture |
| Utilisation d'antiseptiques et de désinfectants | Agents antibactériens dans les produits d'entretien ménager, le dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons, etc. |

L'usage d'antibiotiques topiques a aussi été associé au développement de résistance aux agents utilisés **[36].**

## II.5 La multi résistance

La définition de la multi résistance est difficile à établir. Il est couramment admis de parler de multi résistance lorsqu'une souche bactérienne a accumulé sur son profil sauvage de sensibilité aux antibiotiques des résistances acquises telles que la souche ne reste sensible qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique **[37]** .

Les scientifiques ont découvert que les gènes de résistance étaient facilement capturés, disséminés et échangés d'une bactérie à l'autre par le transfert génétique des plasmides.

Le risque principal de la multi-résistante aux antibiotiques est de ne trouver aucun traitement capable d'éliminer la bactérie en cas d'une infection **[38]**.

Les travaux de chercheurs révèlent aujourd'hui pour la première fois comment les bactéries acquièrent ces propriétés de multi résistance. Ce sont en fait les antibiotiques eux-mêmes qui provoquent la synthèse de l'enzyme bactérienne qui capture les gènes de résistance et permet leur expression dans l'intégrons. Cette enzyme favorise en outre le réagencement, au hasard, des gènes de résistance au sein de l'intégrons. Or, l'ordre de ces gènes dans l'intégrons détermine le degré de priorité pour leur expression : les premiers sont les plus exprimés et confèrent à la bactérie les résistances correspondantes. Les derniers restent silencieux tout en étant néanmoins conservés, en réserve. Lors d'un nouveau réagencement, déclenché par la prise d'un antibiotique par exemple, ils seront susceptibles de se retrouver dans les premières positions, et d'apporter à la bactérie les résistances requises face à ce médicament. Les bactéries qui possèdent alors la bonne combinaison de gènes pourront survivre et assurer le maintien du potentiel de résistances au fil des générations.

Ces travaux démontrent combien les stratégies d'adaptation bactériennes face aux antibiotiques sont efficaces, aussi bien à court qu'à long terme. Ils caractérisent ainsi précisément les contraintes liées à la génétique des bactéries, que devront prendre en compte les mesures de santé publique à venir pour lutter contre le problème de multi résistance **[39]**.

## II.6. Les bactéries multi-résistantes

### II.6.1. Définition

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique **[40].**

La multirésistance concerne les bactéries responsables d'infections communautaires à l'exemple des pneumocoques ou les bacilles de la tuberculose et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins. Certaines résistances sont particulièrement importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène. C'est le cas des Staphylococcus aureus résistants à la méticilline (SARM) et des entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu (EBLSE) **[40].**

### II.6.2. Les types de BMR

#### II.6.2.1 hospitalier

- **SARM:**

*S. aureus* est une des principales espèces responsables d'infection nosocomiale. Le développement incontrôlé des épidémies de SARM et les preuves répétées de leur diffusion clonale justifient à eux seuls la mise en place d'un programme de lutte contre les BMR **[41].**

Staphylocoque aureus est une bactérie « cocci à Gram + », groupés en amas. S. aureus survit plusieurs semaines sur les surfaces inertes (surfaces, dispositif médicaux, stéthoscope, clavier d'ordinateur, téléphone…) qui deviennent autant de réservoirs à l'origine de la contamination des mains des utilisateurs, professionnels et patients.

S. aureus est responsable de près de 20 % des infections nosocomiales. Dans moins de 30% des cas, il est résistant à la méticilline (SARM), c'est-à-dire résistant à toutes les béta-lactamines et il est principalement impliqué dans les infections cutanées et les infections du site opératoire (30%), des voies urinaires et respiratoires (20%) et les bactériémies (10%).

La transmission est manuportée. L'introduction des solutions hydro-alcooliques (SHA) à l'hôpital a permis de réduire significativement l'incidence des infections à S. aureus et à SARM. **[42]**

- **EBLSE :**

Les entérobactéries dans leur ensemble représentent 35 à 40% des bactéries responsables d'IN. Les EBLSE représentent environ 1% des bactéries isolées des IN **[41].** Les entérobactéries sont des Bacilles à Gram négatif **[42].**

Les souches d'E-BLSE principalement Klebsiella pneumoniae, Enterobacter aerogenes et à un moindre degré Escherichia coli, Proteus mirabilis, Citrobacter sp sont résistantes à de nombreuses ß-lactamines (sauf imipénème), et souvent céphamycines pour les espèces qui y sont naturellement sensibles, et très souvent résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones **[41]**.

- **Entérocoque résistante à la vancomycine (ERV) :**

Représentent environ 1% des souches d'entérocoques isolées à l'hôpital. On retrouve principalement **[41]** :

- Acinetobacter baumannii :

Acinetobacter baumannii est une bactérie « coccobacille » à Gram négatif aérobie strict. Responsable de pneumonies, de bactériémies, d'infections urinaires et de méningites nosocomiales **[42].**

Représentent 2 à 4% des bactéries responsables d'IN, jouent un rôle non négligeable dans certains secteurs hospitaliers (soins intensifs) et sont parfois à l'origine de bouffées épidémiques dans lesquelles la contamination de l'environnement des patients porteurs joue un rôle. Certaines souches épidémiques résistantes à l'imipénème conduisent à des impasses thérapeutiques**.[41]**

A.baumannii résiste aux antibiotiques par la production de pénicillinases et/ou céphalosporinases et/ou carbapénémases **[42]**.

- Pseudomonas aeruginosa multirésistant :

Les souches de P.aeruginosa résistantes aux ß-lactamines (ticarcilline, ceftazidime ou imipénème) ont tendance à être résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones . Dans les hôpitaux concernés, ces souches doivent faire l'objet d'une stratégie spécifique, notamment d'une politique de prescription des antibiotiques, et des mesures de contrôle de l'environnement **[41].**

### II.6.2 Communautaire

Les BMR communautaire sont des bactéries impliquées dans les infections survenant en dehors d'un établissement de santé, par opposition des BMR hospitaliers.

Ces germes sont caractérisés par une probabilité de résistances relativement faibles, les plus fréquentes de ce type de BMR sont les pneumocoques et les bacilles de la tuberculose**.**

❖ **Streptococcus pneumoniae :**

Est un pathogène majeur, responsable d'infections communautaires à type de pneumonies, de bactériémies, de méningites, d'otites et de sinusites, le pneumocoque a acquis au cours des cinq dernières décennies de nombreuses résistances à : sulfamides, tétracyclines, érythromycine, pénicilline et chloramphénicol. La résistance du pneumocoque aux ß-lactamines est liée à une modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP). la surveillance de la sensibilité du pneumocoque aux antibiotiques est nécessaire afin d'adapter les recommandations thérapeutiques des infections penumococciques**.**

❖ **Bacille de la tuberculose :**

Le bacille de la tuberculose peut devenir résistante aux antimicrobiens utilisés pour guérir la maladie. La tuberculose multi résistante (MR) est une tuberculose contre laquelle l'isoniazide et la rifampicine, les 2 antituberculeux les plus puissants, ne sont pas efficaces. La mauvaise gestion du traitement antituberculeux et la transmission interhumaine expliquent la propagation de la tuberculose multi résistante **[43]**.

## II.7. Conséquence de la résistance bactérienne

L'antibiorésistance rend difficile le traitement de certaines infections, même initialement bénignes : le colibacille responsable des infections urinaires devient ainsi de plus en plus résistant aux antibiotiques. Elle concerne aussi des maladies infectieuses plus graves comme les pneumonies ou les méningites.

Lorsqu'une personne est atteinte d'une infection à bactérie résistante, le médecin a du mal à trouver le bon antibiotique : l'infection dure plus longtemps et peut entraîner d'avantage de complications, parfois même le décès. Les antibiotiques utilisés contre une infection résistante sont également plus à risque d'effets indésirables, y compris d'antibiorésistace.

L'augmentation de la résistance aux antibiotiques est particulièrement inquiétante pour les personnes les plus fragiles (âgées, malades, femmes enceintes, nourrissons…). Elle peut compromettre les avancées que la médecine a effectuées depuis plus de 70 ans. Par exemple, les patients bénéficiant d'interventions chirurgicales complexes, de greffes ou de chimiothérapies innovantes ont besoin de traitements antibiotiques efficaces pour pouvoir être bien soignés.

En 2019, plus de 120 000 personnes ont eu une infection par une bactérie résistante aux antibiotiques et on a évalué à 5 500 le nombre de décès liés à l'antibiorésistance.

Près d'1,3 million de décès dans le monde peuvent être attribués aux infections résistantes aux antibiotiques (en particulier par le colibacille Escherichia coli et le staphylocoque doré), selon une étude récente **[44]**.

## II.8. Méthodes de détermination de la résistance bactérienne

### II.8.1. Antibiogramme par diffusion des disques

L'antibiogramme permet de déterminer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques, les antibiotiques utilisés dans cette étude ont été choisis selon leur spectre d'activité qui s'étend vers les espèces étudiées . **[45]**

### II.8.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'un antibiotique donné qui inhibe toute croissance visible d'une souche bactérienne donnée, après 18 heures d'incubation à 35°C.**[46]**

C'est un paramètre essentiel en clinique, puisque relié à la pharmacocinétique de l'antibiotique (concentrations au niveau du foyer infectieux, demi-vie et donc temps de contact avec la bactérie), il permet de prédire l'efficacité ou non du traitement. Ainsi, il sera possible de classer chaque souche bactérienne entre trois catégories pour chaque antibiotique **:[47]**

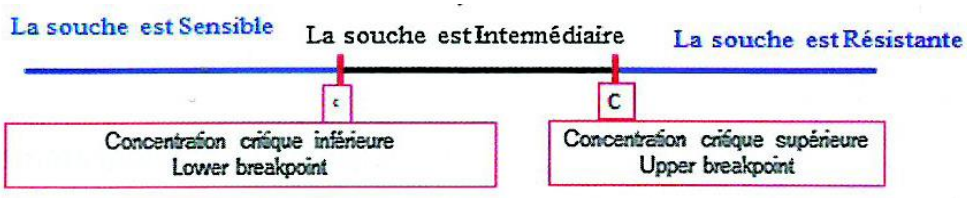



**Figure II.5** Catégorisation d'une souche bactérienne en « sensible », «intermédiaire » ou « résistante » en fonction de la CMI et des concentrations. critiques c et C **[47]**

- ✓ Si la CMI de la molécule pour cette souche est inférieure ou égale à une concentration. critique inférieure notée c, la souche est catégorisée sensible («S»), le traitement peut être instauré chez le patient avec une forte probabilité de succès.

- ✓ Si la CMI de la molécule est strictement supérieure à une concentration critique supérieure notée C, la souche est catégorisée résistante («R»), le traitement sera très probablement un échec.
- ✓ Si la CMI est supérieure à c mais inférieure ou égale à C, la souche est classée intermédiaire («I»).

Les CMI peuvent être déterminées par différentes méthodes. La référence est la micro-dilution en milieu liquide, peu pratique en routine. On utilisera alors préférentiellement le gradient par bandelette E-Test &, méthode de diffusion en gélose . **[47]**

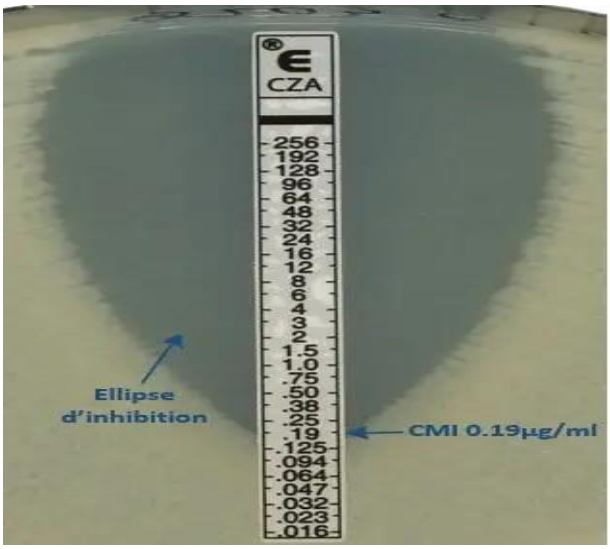



**Figure II.6** Figure 13 Système E-test **[48]**

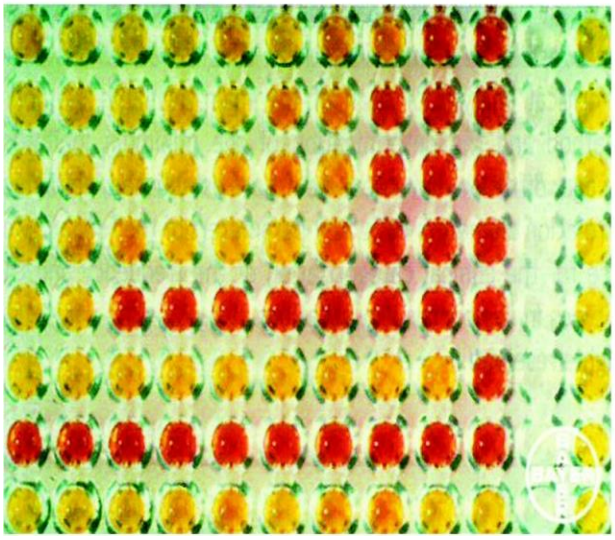


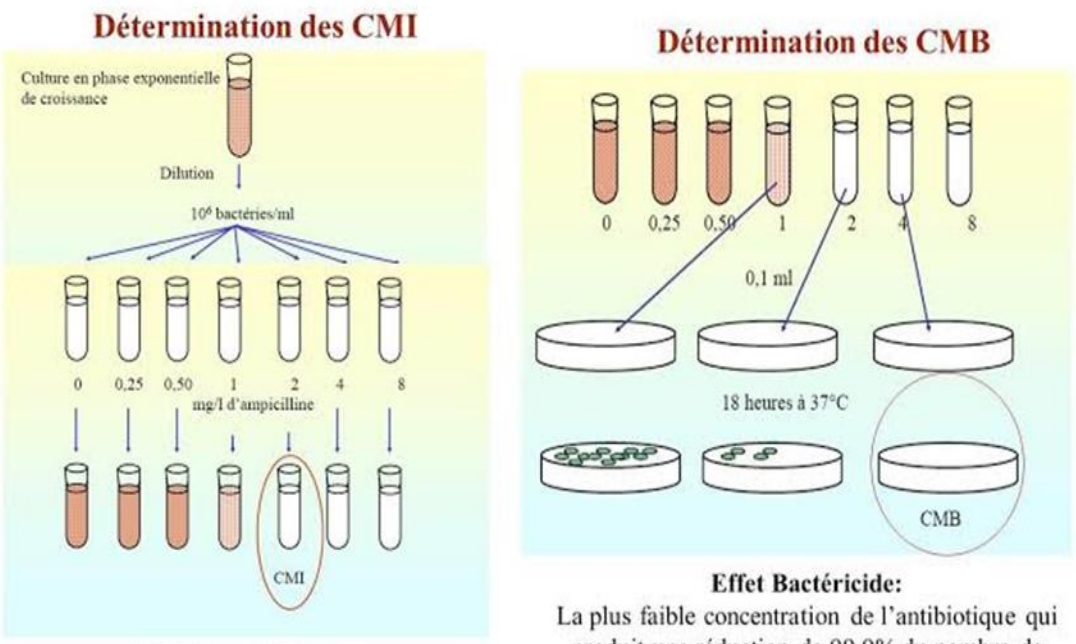
**Figure II.7** déterminations de la CMI par la micro dilution en milieu liquide **[47]**

### II.8.3 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide est la plus petite concentration d'antibiotique qui laisse un faible pourcentage de bactéries survivantes.

La CMB est déterminée secondairement à la CMI, on dénombre les bactéries survivantes en présence de concentrations d'antibiotique supérieures à la CMI. On utilise la méthode de dilution en milieu liquide. Il serait préférable d'utiliser la méthode en micro-dilution plutôt qu'en macro-dilution, ceci permettrait de diminuer les variations de résultats dues à la technique.

Le rapport CMB/CMI permet de savoir si l'antibiotique a un effet bactéricide (CMB/CMI inférieur à 2) ou bactériostatique (CMB/CMI très supérieur à 2) et on définit une souche comme tolérante lorsque que son rapport CMB/CMI est supérieur à 32 **[49].**




**Effet Bactériostase** :
La plus faible concentration de l'antibiotique qui empêche une croissance visible après une incubation de 18-24h => CMI (concentration minimale inhibitrice).

**Effet Bactéricide:**
La plus faible concentration de l'antibiotique qui produit une réduction de 99,9% du nombre de bactéries= CMB (concentration minimale bactéricide).

**Figure II.8** Détermination de la CMI et la CMB **[50]**

### III.8.4. Etude de l'effet de l'association des antibiotiques sur les bactéries : la synergie

La synergie résulte d'une interaction positive entre deux antibiotiques dont l'action antibactérienne conjointe est supérieure à la somme des actions de chacun des deux antibiotiques pris isolément.

Une synergie ou un antagonisme observé in vitro ne sont pas toujours extrapolables en clinique. En effet, les conditions d'action in vivo de deux antibiotiques peuvent être influencées par des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques mal pris en compte in vitro.

Les données expérimentales in vitro, à condition de reproduire des caractéristiques pharmacocinétiques proches de celles obtenues chez l'homme, permettent d'approcher l'intérêt potentiel d'une association. In vitro, on observe une synergie essentiellement en associant deux antibiotiques bactéricides. La synergie d'une association vis-à-vis d'une espèce bactérienne n'est pas extrapolable à une autre espèce. La recherche d'une synergie n'est habituellement justifiée que dans les situations où la bactéricidie est difficile à obtenir avec un seul antibiotique : index thérapeutique faible (rapport concentration locale/CMI faible), défenses locales ou générales inopérantes... **[51]**

# Chapitre III : Matériel et Méthodes

## III.1. Objectif de l'étude

Dans les hôpitaux, les infections associées aux soins peuvent être provoquées par des bactéries résistantes à une ou plusieurs sorte(s) d'antibiotiques. Ce sont les bactéries dites «multirésistantes ». Elles contribuent à réduire l'efficacité du traitement aux antibiotiques et donc à augmenter sa durée.

Ce travail expérimental qui entre dans ce contexte a pour objectif principal l'isolement et l'identification de certaines bactéries hospitalières puis l'étude de leurs résistances aux antibiotiques.

## III.2. Lieu et durée de l'étude

Ce travail a été effectué au niveau du laboratoire central de l'hôpital Mohamed Boudiaf à Médéa.




**Figure III.1 :** L'établissement public de l'hôpital Mohamed Boudiaf à Médéa

L'établissement public de l'hôpital Mohamed Boudiaf à Médéa est composé de plusieurs services :

Service de médecine interne homme, service de médecine interne femme, la chirurgie homme, la chirurgie femme, la pédiatrie, le pavillon des urgences, service de radiologie, le laboratoire central, le laboratoire d'anatomie pathologique…

Notre stage a été effectué au niveau de laboratoire centrale (unité d'analyse bactériologique), qui dispose presque tous les moyens nécessaires à la réalisation de notre recherche, et cela s'est déroulée à partir de 28 janvier 2024 jusqu'à 11 Avril 2024.

Le laboratoire est situé au niveau du rez de chaussée qui est divisé comme suit :

- Un bureau pour les médecins assistants.
- Le bureau du chef service.
- Une salle de réception, pour recueillir les prélèvements
- Une salle spécialement faite pour les appareils de la biochimie.
- Une salle pour la réalisation des analyses biochimiques (méthode semi-automatique)
- Une salle pour la réalisation des analyses sérologiques et test de coagulation
- Une salle pour la réalisation des analyses hématologiques
- Une salle pour la réalisation des analyses bactériologiques
- Une salle pour la réalisation des analyses parasitologiques
- Une pharmacie
- Secrétariat
- Chambre de garde
- Vestiaire

Il comprend cinq unités d'analyse biologique :

- Bactériologie
- Parasitologie
- Sérologie
- Hématologie
- Biochimie

Les personnels exerçant au niveau du laboratoire

- Un chef de service (laborantin diplôme d'état)
- Médecin hématologue et médecin biologiste
- Laborantins diplôment d'état
- Biologistes
- Une femme de ménage

## III.3. Matériels, réactifs et milieux utilisés

### III.3.1 Matériels

Le matériel utilisé durant cette étude est listé ci-dessous et présenté dans la figure III.2 :

- Microscope optique;
- Bec bunsen;
- Pipettes pasteur;
- Anse de platine;
- Boites de Pétri;
- Des tubes ;
- Lames et lamelles ;
- Etuve;
- Pince;
- Ecouvillons ;
- Agitateur Votex ;
- Jarre (pour création d'un milieu anaérobique) ;
- Pied de coulisse.

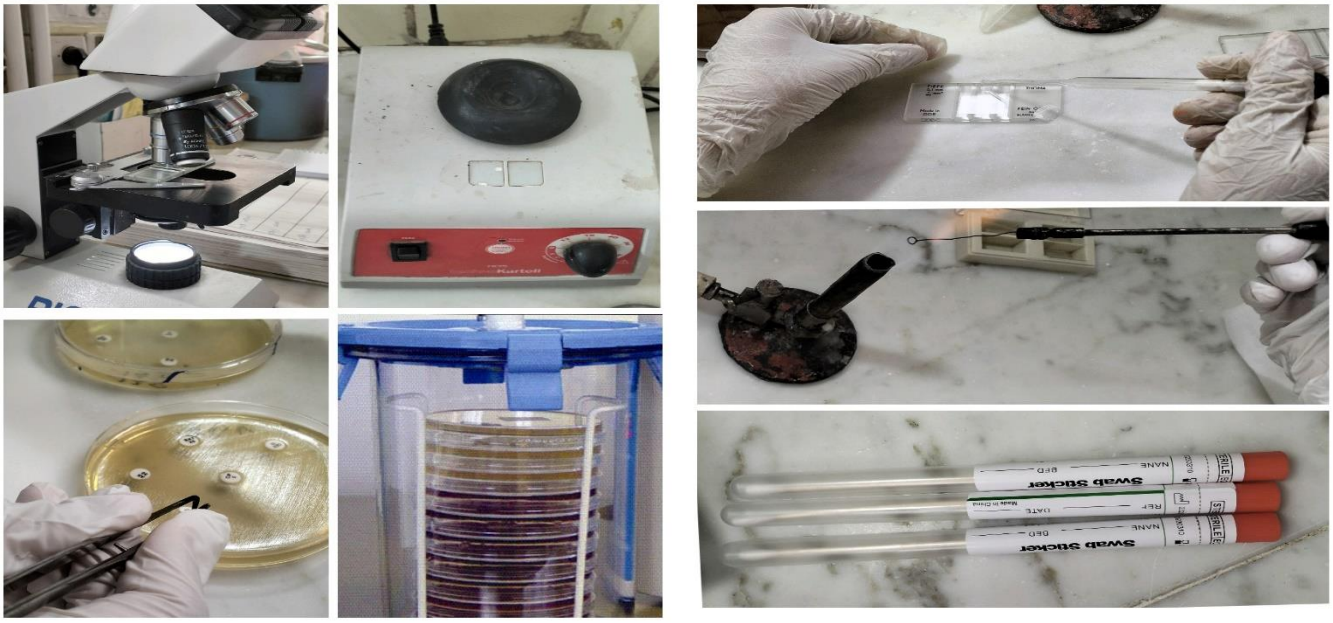



**Figure III.2 :** Matériels utilisés

### III.3.2 Milieux de culture

#### A. Milieux d'isolement

Les milieux d'isolement utilisés durant cette étude sont listés ci-dessous et présenté dans la figure III.3 :

- Gélose nutritive
- Gélose Hektoen
- Gélose Chapman
- Gélose au sang (Milieux enrichis)
- Gélose Mueller Hinton

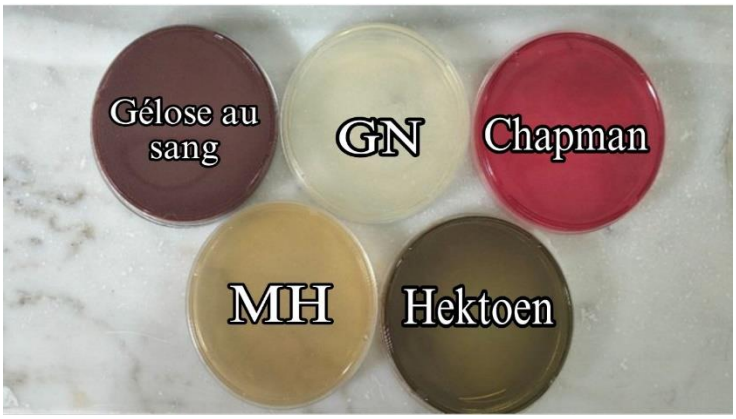



**Figure III.3 :** Les milieux d'isolement utilisés.

#### B. Milieux d'identification biochimique et métabolique

Une Galerie API20E (Figure III.4) est utilisée comme milieux d'identification biochimique et métabolique des entérobactéries.




**Figure III.4** : API 20 E

### III.3.3 Réactifs

Les principaux réactifs utilisés lors de cette étude sont :

- L'eau oxygénée
- Eau physiologique
- La NN-diméthyl-paraphénylène diamine (Disques)
- L'huile
- Les additifs
- Les colorants : Violet de gentiane, Lugol, Alcool, La fuchsine phéniquée




**Figure III.5** Les réactifs utilisés

### III.3.4 Disques d'antibiotiques

Les antibiotiques utilisés sont récapitulés ci-dessous :

**Tableau III.1** : Antibiotiques utilisés

| β-lactamines | Les Aminosides | Les Macrolides | Quinolones | Autres |
|---|---|---|---|---|
| Pénicilline(P) | Gentamycine (GEN) | Erythromycine(E) | Ciprofloxacine (CIP) | Triméthoprime-Sulfamides (SXT-COT) |
| Amoxicilline(AMX) | Amikacine (AN/AK) | Linomycine (L) | Lévofloxacine (LVX-LEV) | Colistine (CL-CS-CT) |
| Céfoxitine (FOX) | Tobramycine (TM) | Clindamycine(CM) | Acide nalidixique(NA) | Tétracycline(TE) |
| Aztréonam(ATM) | Kanamycine(K) | Pristinamycine(PT) | Ofloxacine(OFX/PEF) | Furanes(FT) |
| Céfazoline (CZ) | Nitelomycine(NET) | | | Acide fusidique (FA) |
| Céfotaxime (CTX) | | | | Rifamycine (RIF) |
| Ticarcilline (TIC) | | | | Fosfomycine(FOS) |
| Piperacilline (PIP) | | | | Vancomycine(VA) |
| Oxacilline(OX) | | | | |
| Céftazidime(CAZ) | | | | |
| Imipénème(IMP) | | | | Chloramphénicol(C) |
| Ampicilline (AMP/AM) | | | | |
| Amoxicilline+Acide clavulanique (AMC) | | | | |

### III.3.5 Matériel biologiques

Il s'agit des :

- Echantillons d'urine
- Echantillons de pus




**Figure III.6 :** Le matériel biologique

## III.4. Méthodologie de travail

Les échantillons collectés (Urines+ pus) durant notre période de stage ont été prélevés sur 186 patients dont la plupart sont hospitalisés, seulement 112 d'entre eux présentaient un résultat positif entre les prélèvements de pus et d'urine, ou on a trouvé des échantillons avec des bactéries sensibles et d'autres avec des bactéries multirésistantes.

La saisie informatique et l'analyse statistique de ces données est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2019.

Le protocole expérimental suivi pour étudier la sensibilité aux antibiotiques des bactéries qui ont été collectées est représenté par le schéma suivant :

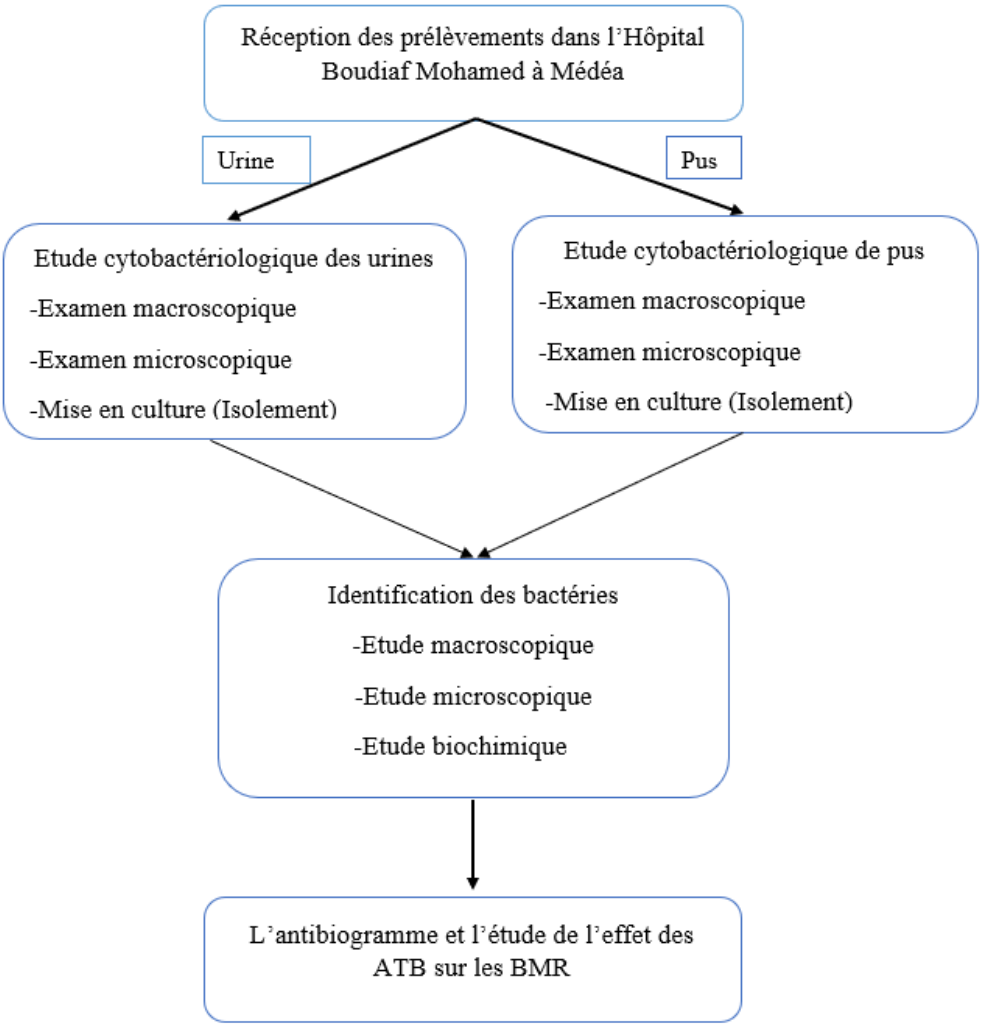



**Figure III.7 :** Le protocole expérimental suivi pour étudier la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

## III.5 Les prélèvements

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

- Nom et prénom du malade.
- Age et sexe.
- Service d'hospitalisation.
- Nature de prélèvements.

## III.6 Méthodologie de diagnostique

### III.6.1 Examen cytobactériologique des urines

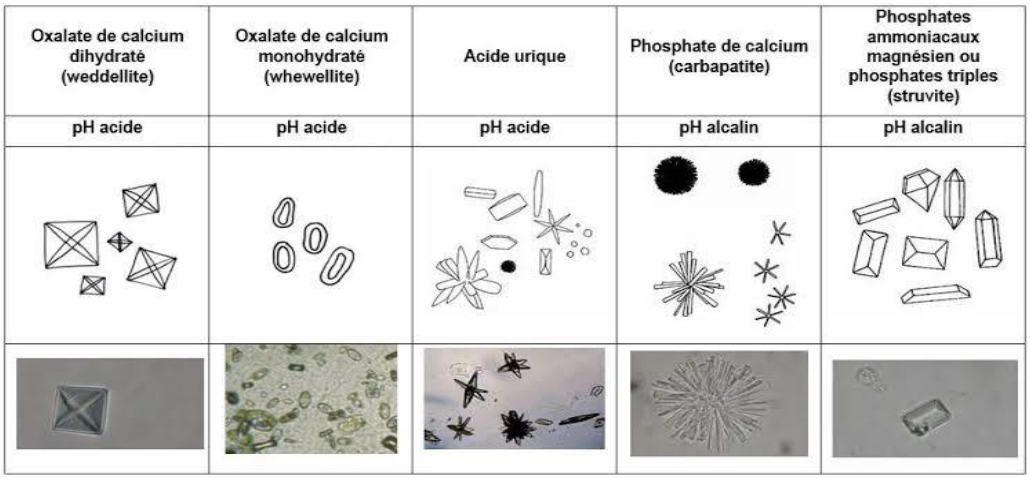
L'examen cytobactériologique des urines (ECBU) est une analyse d'urines prescrite dans le cadre d'un diagnostic ou du suivi d'une infection du tractus urinaire, celui-ci étant normalement stérile. L'ECBU permet de confirmer l'infection urinaire et d'identifier l'agent responsable. La notion d'infection urinaire est liée à la présence de symptômes **.[52]**

**A. Examen macroscopique**

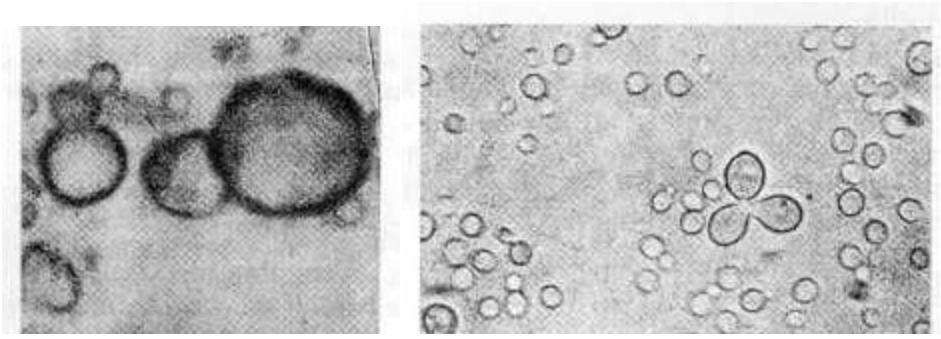
L'examen macroscopique permet de noter les principaux caractères des urines émises, en l'occurrence : l'aspect qui peut être limpide, louche, trouble. La couleur qui peut être jaune pâle, ambrée, hématique ou éventuellement colorée par les médicaments. La présence de sédiments et leur abondance donnant un aspect floconneux, cristallin, blanchâtre (phosphate), rouge brique (acide urique) ou rose **[53].**

**B. Examen microscopique à l'état frais**

C'est un examen cytologique permet de dénombrer les éléments figurés contenus dans un volume donné de l'urine à étudier. Leur concentration est exprimée par millilitre. Cet examen est quantitatif par comptage des leucocytes et des hématies et qualitatif par recherche d'autres éléments figurés de l'urine (cristaux, cylindres, bactéries, levures, parasites) comme le montre les figures III.8 **[54] .** Cet examen est réalisé en dépose deux goutes des urine homogénéisés entre lame et lamelle sans coloration puis examiner sous microscope à l'objectif 40.**[54]**




**(a)**



**(b)** **(c)**

**Figure III.8 :** Interprétation des résultats de l'examen microscopique des urines

(a) Présence des cristaux, (b) Présence des globules graisseuses, (c) Présence des levures

### C. Mise en culture

Cette étape est très importante car elle permet l'isolement et identification du (ou des) germes pathogènes afin de permettre l'étape d'identification. L'importance de cette étape réside dans le choix d'un milieu de culture adapté à la pousse des germes les plus fréquemment impliqués dans les infections urinaires, et aussi la connaissance des exigences culturales des germes en cause.

Les milieux utilisés doivent permettre une numération des bactéries les plus fréquemment rencontrées, c'est à dire les entérobactéries, les Pseudomonas, les Staphylocoques et les Entérocoques qui sont toutes des bactéries peu exigeantes et à cultures rapides en routine on utilise une gélose nutritive (GN) **.[55]**

Il existe plusieurs méthodes pour la mise en culture des urines, mais au niveau de l'hôpital Boudiaf ils utilisent la méthode de VERON (KASS modifiée) réalisée comme suit:

0.1 ml d'urine bien mélangée est diluée dans 9.9 ml d'eau distillée stérile à l'aide d 'une pipette calibrée à 0.1 ml ; puis 0.1 ml de cette dilution est ensuite aussitôt étalée sur une gélose nutritive .**[56]**

On dépose parallèlement deux goute d'urine non diluée sur le bord de la boite qui contient le gélose Hektoen ou BCP ou Mac Conkey puis on étale en large strie puis en strie serrées et à chaque fois on tourne la boite 60 degrés et on recommence l'ensemencement (Figure III.7). Les boites sont incubées à 35°C pendant 18 à 24h .**[56]**

Nous utilisons juste les 2 milieux : Hektoen et la gélose nutritive.

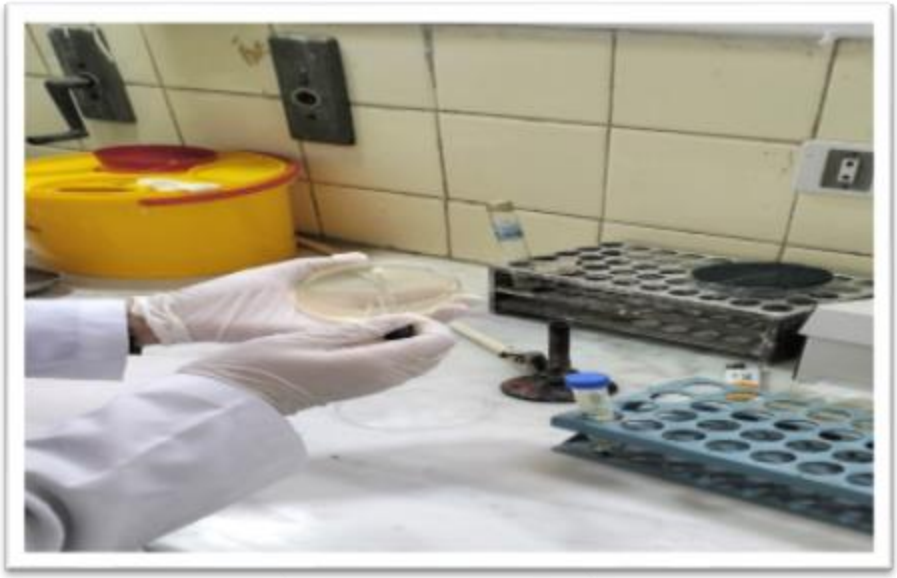


**Figure III.9** Ensemencement d'urine dans la gélose nutritive

La purification se fait en poursuivant le repiquage sur le même type de milieu jusqu'à l'obtention d'un isolat pure présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement. La dernière culture pure doit être faite sur gélose nutritive pour faire l'objet d'autres tests d'identification **.[55]**

### III.6.2 Examen cytobactériologique de pus

#### A. Examen macroscopique

L'aspect, la couleur et la consistance des prélèvements reçus dans une seringue ou dans un récipient stérile, doivent être soigneusement examinés.

La couleur des prélèvements qui sont généralement va du jaune-vert au rouge brun, une couleur rouge est généralement due à un mélange avec du sang ou de l'hémoglobine. Le pus peut être aussi coloré en bleu-vert par la pyocyanine ou la pyoverdine élaborée par Pseudomonas aeruginosa.

Le pus peut être : épais, visqueux, élastique, mélangé ou non de sang, fluide, séreux ou séro- hématique. Il peut être homogène ou granuleux. Dans certains cas, de petits grains jaunes, noirs, rouges ou blancs sont apparents.

L'odeur des prélèvements peut orienter le biologiste. En effet, une odeur fétide, excrémentielle, est l'une des caractéristiques des infections anaérobies ou mixte aérobieanaérobie **.[57]**

**B. Examen microscopique**

Il est fondamental et suffit parfois pour établir un diagnostic immédiat. Un frottis pour coloration de Gram ou coloration au bleu de méthylène et examen microscopique doit être fait pour chaque prélèvement.

Pour ce faire, à l'aide d'une anse, faire un frottis uniforme de la partie la plus purulente du prélèvement sur une lame propre. Dans le cas de l'écouvillon, étaler doucement l'écouvillon de coton sur la surface de la lame sans frotter ni appuyer. Laisser la lame sécher à l'air ou dans une étuve. Fixer à la chaleur, colorer et examiner le frottis à l'objectif (X100) **[57]**.

### C. Mise en culture

Le prélèvement est ensemencé sur le bouillon glucosé Tamponné (BGT) et incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures à l'étuve. Le bouillon d'enrichissement est ensuite repiqué sur des milieux gélosés spécifiques (GSC,GN, Héktoen , Chapman) pour l' isolement (Figure III.10).

Les boîtes doivent être maintenues pendent 24 à 48 heures à l'étuve à 37°C dans différentes atmosphères (aérobies, anaérobies : pour la gélose au sang) **[58]**.



**Figure III.10 :** Ensemencement de pus

## III.7 Identification

Dans cette étude, on s'intéresse à l'identification des entérobactéries type BLSE, Staphylocoque aureus résistants à la méticilline, Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii sur la base des caractères culturaux et biochimiques.

### III.7.1 Etude macroscopique

Cette étude est basée sur l'observation macroscopique des colonies directe à l'œil nu. Elle permet de décrire la taille, l'aspect, la couleur, la consistance, le contour, l'opacité, et la forme des colonies.

### III.7.2 Etude microscopique

- **Examen à l'état frais**

Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de groupement, leur mobilité éventuelle et la quantité approximative de bactéries .

- **Coloration de Gram**

Cette technique permet non seulement d'observer la forme des cellules mais aussi de différencier entre deux grands groupes taxonomiques différents : les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives.

Elle consiste à (Figure III.11) :

- Préparer la lame et l'échantillon comme pour un état frais.
- Etaler la suspension bactérienne en un film mince et régulier sur la lame avec une anse de platine par un mouvement circulaire (étalement de 2 à 3 cm de diamètre).
- Laisser évaporer à sec soit à l'air libre, soit en tenant la lame bien au-dessus de la flamme, le frottis doit devenir terne mais ne doit ni brunir, ni bruler.
- Recouvrir le frottis par le violet de Gentiane, laissé agir une minute ; rincer à l'eau distillée.
- Fixation et mordançage : verser le lugol et le laisser agir pendant une minute, rincer à l'eau distillée.
- Décoloration : laver la lame avec l'alcool et laisser agir pendant 30 secondes, rincer à l'eau distillée.
- Recoloration : Verser quelques gouttes de fuchsine basique et laisser agir pendant une minute, rincer à l'eau distillée.
- Séchage : laisser la lame sécher puis ajouter une petite l'huile de cèdre et examiner avec un microscope optique à l'objectif à immersion (grossissement x 100**).[59]**

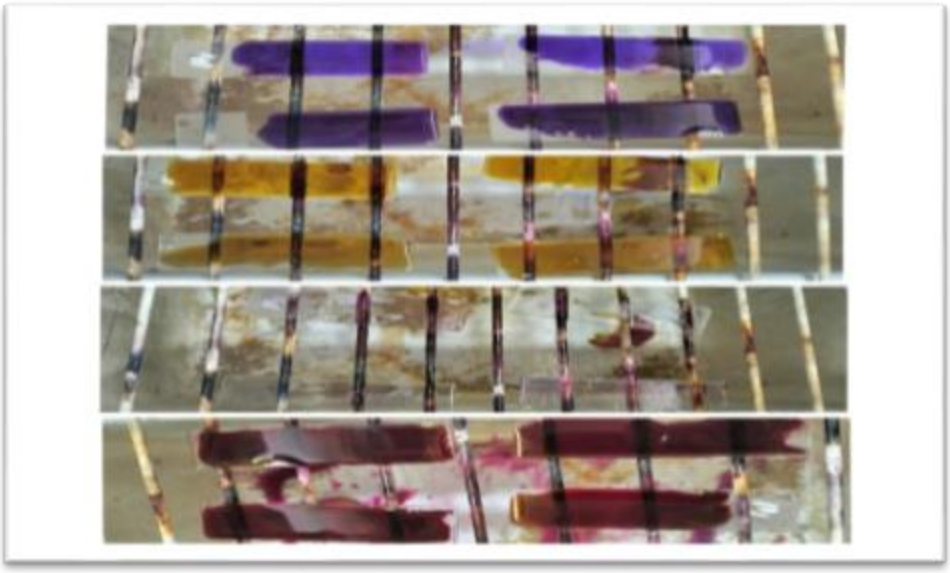


**Figure III.11 :** Les étapes de coloration de gram

### III.7.3 Etude biochimique

### A. Tests d'identification

- **Présentation de la galerie miniaturisée API**

Les galeries API se présentent sous la forme d'une série de petits tubes, nommés tubules, correspondant chacun à un test biochimique spécifique. Chaque tubule est ouvert à son extrémité supérieure par une cupule pouvant être remplie, ou non, de liquide afin de placer le tube dans des conditions particulières. Chaque tube contient un substrat défini (ONPG, ADH, GEL...) et avec lequel les micro-organismes réagissent différemment **.**La lecture des codes obtenues est faite à l'aide du logiciel d'identification (*API web*). **[60]**

Il existe plusieurs galeries pour l'identification des staphylocoques, les streptocoques ….

Au niveau de l'hôpital, on travail juste avec la galerie API 20 E pour l'identification des entérobactéries.

❖ **Mode opératoire**

La procédure consiste à suivre les étapes suivantes :

- Réunir fond et couvercle d'une boite d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Remplir tubes et cupules des tests encadrés : CIT, VP, GEL, avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes et non cupules des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests soulignée : ADH, LDC, ODC, URE, H2S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- Refermer la boite d'incubation, coder et placer à 37C° pendant 18-24 h **[61].**

❖ **Lecture**

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées. Si le glucose est positif et/ou si trois tests ou plus sont positifs (voir tableau A annexé), révéler les tests nécessitant l'addition de réactif :

- Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 min. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncé indique une réaction positive.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kowacs. Un anneau rouge obtenue en 2 min indique une réaction positive **[62].**

**B. Test de la Catalase [63]**

❖ **Mode opératoire**

À partir d'un milieu solide et aérobie, prélever une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame.

❖ **Principe**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$) :

$$H_2O_2 \rightarrow ½\ O_2 + H2O$$

Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles.

❖ **Technique**

Ce test consiste à :

- Déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (= peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur (Figure III.10).
- Prélever une colonie à l'aide de l'anse
- Dissocier la colonie dans la goutte**.**

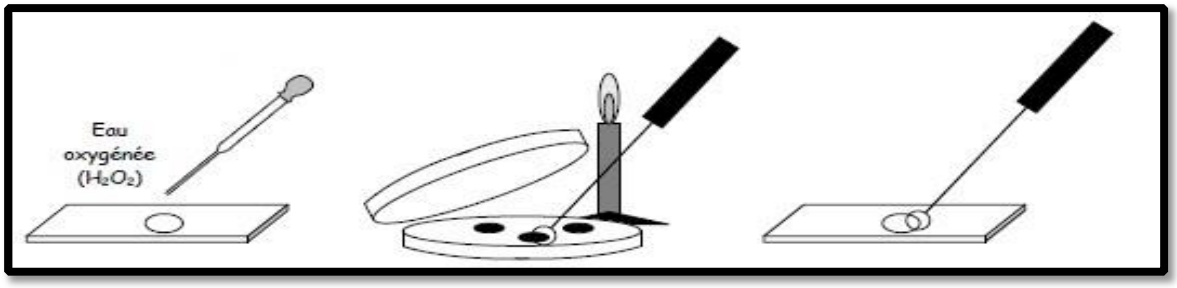



**Figure III.12** Technique de catalase **[63].**

❖ **Lecture**

S'il y a une production de bulle d'air, on dit que la bactérie possède de la catalase, donc elle est Catalase +. Si non elle est Catalase - **[63].**

## C. Test d'Oxydase [64]

❖ **Principe**

Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé**.**

$$\underset{(Incolore)}{\text{NN} - \text{diméthyl} - \text{paraphénylène diamine}} \xrightarrow{Oxydation} \underset{(Rose\ violacé)}{\text{Produit coloré}}$$

❖ **Technique**

Le disque de papier filtre imprégnés de réactif : l'oxalate de Ndimethyl paraphenylène diamine, qui est incolore sous forme réduite et rouge-violet sous forme oxydée a été utilisé.

Comme illustré dans la figure II.13, déposer, sur une lame porte-objet propre, un disque «Ox» et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile. Prélever une partie de la colonie à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque**.**

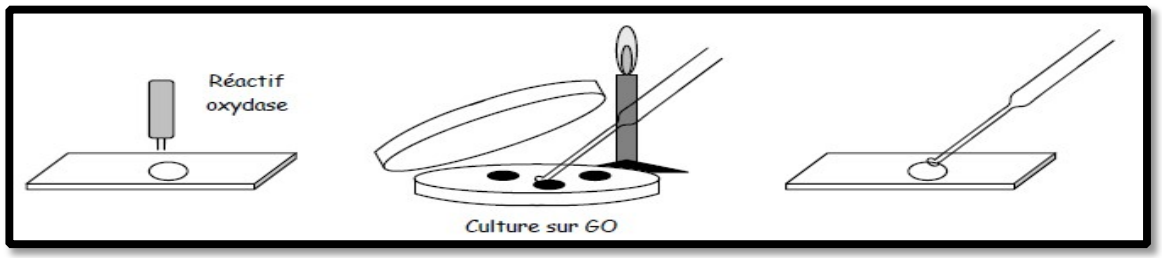



**Figure III.13** Technique d'oxydase **[64].**

❖ **Lecture**

Pas de lecture avant 30 secondes environ .Après, si on trouve un tache rose violette, on dit que la bactérie possède l'activité oxydase, donc elle est Oxydase (+). Si non on dit qu'elle est Oxydase (–)**.[64]**

## III.8 Détermination de la sensibilité d'une souche bactérienne à un antibiotique utilisant l'antibiogramme par diffusion des disques

Le tableau III.2 représente le milieu et l'inoculum adéquat pour chaque microorganisme, ainsi que les conditions d'incubation **[56]**

**Tableau III.2** Technique d'antibiogramme (diffusion de disques antibiotiques) **[56].**

| *Microorganismes* | *Milieu* | *Inoculum* | *Conditions d'incubation* |
|---|---|---|---|
| Entérobactéries, Pseudomonas<br><br>aeruginosa, Acinetobacter spp.Staphylococcus spp.<br><br>Enterococcus spp., Vibrio spp.Aeromonas spp., Plesiomonasspp., autres bactèries non exigeantes | Gélose Mueller-Hinton | 0,5 MF en eau physiologique | 18 heures (à prolonger pour OXA etVAN/TEC)<br><br>35°C<br><br>Atmosphère ordinaire |
| Streptococcus spp. | Gélose Mueller-Hinton + 5% sangde mouton | 0,5 MF en eau physiologique | 20-24 heures<br><br>35°C 5%C02 |
| Neisseria gonorrhoeae | Gélose GC+ 1% supplément | 0,5 MF en tampon PBS | 20-24 heures 35°C 5% C02 |
| Neisseria meningitidis | Gélose Mueller-Hinton5% sang de mouton | 0,5 MF en tampon PBS ou eauphysiologique | 18-24 heures 35°C 5% C02 |
| Haemophilus spp. | Gélose Haemophilus Test Medium" | 0,5 MF en eau physiologique | 16-18 heures 35°C 5% C02 |

**A. Milieu pour antibiogramme**

- Le milieu adéquat doit être coulé en boîtes de Petri sur une épaisseur de 4 mm
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

**B. Préparation de l'inoculum**

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Dans le cas de Streptococcus spp. et d'Haemophilus spp, utiliser une écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. Dans le cas de Neisseria gonorrhoeae, décharger l'anse dans 1 à 2 ml de tampon phosphate stérile à pH 7,2.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

**C. Ensemencement**

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

**D. Application des disques d'antibiotiques**

- II est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90mm.
- Pour les bactéries exigeantes (Streptococcus spp., Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Haemophilus 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 (Figure III.13) **[56]**.

La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée figure dans le tableau III.3.

**Tableau III.3** Liste des antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme pour chaque espèce **[56]**

| *Enterobactéries* | *Pseudomonas* | *Acinetobacter spp* | *Staphylococcus* |
|---|---|---|---|
| -Ampicilline AMP<br>-AM+Ac clavulanique AMC<br>-Céfalotine CF<br>-Céfazoline CZ<br>-Céfoxitine FOX<br>-Céfotaxime CTX<br>-IPM/MéropeneimeIPM<br>-Amikacine AN/AK<br>-Gentamycine<br>-Ciprofloxacine CIP<br>-Colistine CS-CT<br>-Chloramphenicol C<br>-SXT COT<br>-Fosfomycine FF<br>-Furane FT | -Ticracilline TIC/TI<br>-Trc+A Ac.clavulanique TTC<br>-Pipéracilline RIP<br>-Ceftazidime CAZ<br>-Aztréonam ATM<br>-IPM<br>-Amikacine AN/AK<br>-Gentamicine GN<br>-Tobramycine TOM<br>-Netilmicine NET<br>-Ciprofloxacine CIP<br>-Lévofloxacine LVX/LE<br>-Fosfomycine FOS/FF<br>-Colistine CS | -Ticracilline TIC<br>- Trc+A Ac.clavulanique TTC<br>-Pipéracilline RIP<br>-Ceftazidime CAZ<br>-Aztréonam ATM<br>-IPM<br>-Amikacine AN/AK<br>-Gentamicine GN<br>-Tobramycine TOM<br>-Netilmicine NET<br>-Ciprofloxacine CIP<br>-Doxycycline DO<br>-SXT COT<br>-Colistine CMI<br>-Rifampicine RIF | -Peicilline P<br>-Oxacilline OX<br>-Cefoxitine FOX<br>-Amikacine AN/AK<br>-Gentamicine GN<br>-Kanamycine K<br>-Erythromycine E<br>-Clindamycine CM/L<br>-Pristinamycine PRI/RP<br>-Ofloxacine OFX<br>-Choramphenicol C/CHL<br>-Vancomycine VA<br>-Teicoplanine TRI<br>-Rifampicine RIF/RA<br>-SXT COT<br>-Tetracycline TE<br>-Acide fusidique FA<br>-Fosfomycine FOS<br>-Levofloxacine LVX-LE<br>-Clindamycine DA |

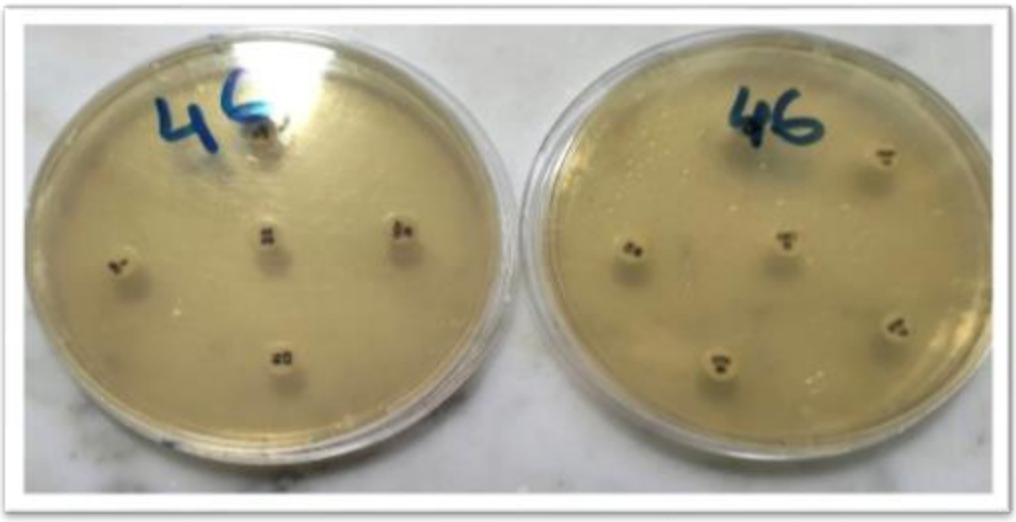



**Figure III.14** Disposition des disques d'antibiotique dans la gélose MH

**E. Conditions d'incubation**

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie (voir tableau III.2) **[56].**

**F. Lecture**

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de Pétri ouverte et bien éclairée.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables lecture correspondantes dans les annexes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories Résistant (R), Sensible(S) ou Intermédiaire **[56].**

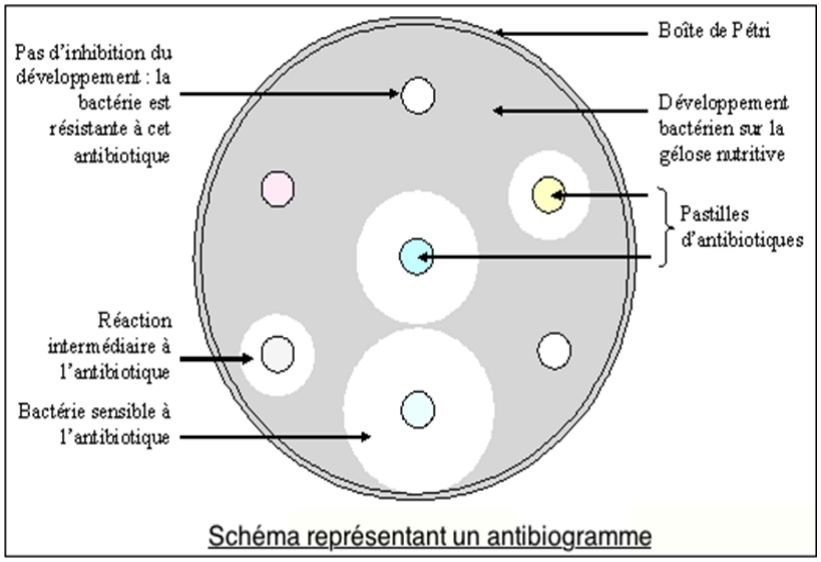



**Figure III.15** L'antibiogramme

## III.10. Tests complémentaires

### III.10.1.Test de détection de Staphylococcus aureus

#### A. Principe du test

Le kit Prolex™ Staph Latex contient des particules en latex de polystyrène rouge sensibilisées par du fibrinogène et des IgG. Lorsque des colonies de staphylocoques possédant de la coagulase liée (facteur d'agglutination) et / ou de la protéine A sont mélangées au réactif Latex, les particules en latex présentent une puissante agglutination dans un délai de 20 secondes **[65].**




**Figure III.20** Test de détection de staphylococcus aureus

#### B. Interprétation des résultats

- *Résultat positif* : Forte agglutination dans un délai de 20 secondes avec le réactif Staph Test Latex. Si vous avez procédé à un contrôle négatif, il ne doit pas y avoir d'agglutination avec le réactif Latex de Contrôle Négatif. Ignorer toute agglutination se produisant après le délai initial de 20 secondes.
- *Résultat négatif* : Pas d'agglutination visible des particules du réactif Staph Test Latex **[65].**

### III.10.2. Test double disque (test de synergie)

**A. Principe**

- Réaliser un inoculum d'antibiogramme de la souche à tester (qui ne présente pas l'image de synergie sur l'antibiogramme).
- La recherche de BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme.
- Ensemencer avec de l'écouvillon sur la boite MH la suspension de la souche à tester.
- Déposer un disque d'AMC à 30mm centre à centre d'un disque de CTX ou CRO
- Incuber pendant 30 minutes à 37°C dans l'étuve.
- Ressortir la boite après ce temps et enlever le disque d'AMC et remplacer le par l'antibiotique CTX.
- Incubation à 37°C pendant 18- 24heurs. (CA-SFM, 1998).

**B. Lecture**

Lecture de diamètre autour des deux disques de CTX montre que le disque initial présente un diamètre réduit c'est-à-dire la souche résistante, alors que le deuxième CTX qui est met à la place de l'AMC présente diamètre important de sensibilité qui explique le phénomène de synergie entre CTX et AMC avec l'image de bouchon de champagne **[66].**




**Figure III.21** Détection de deux souches différentes d'entérobactéries type BLSE.

a. E.coli type BLSE

b.Proteus mirabilis type BLSE

# Chapitre IV : Résultats et Discussions

## IV.1. Introduction

Les bactéries multi résistantes (BMR) constituent une menace croissante pour la santé publique, en raison de leur capacité à défier les effets des antibiotiques. Leur présence dans les hôpitaux représente un défi majeur pour la gestion des infections nosocomiales et souligne la nécessité d'une approche proactive et globale. Dans ce chapitre, nous aborderons les résultats de notre étude, qui vise à élargir l'analyse du profil bactériologique et des résistances aux antibiotiques à travers des services hospitaliers. En repositionnant notre centre d'étude de manière holistique, nous visons à obtenir une vision plus approfondie de la prévalence et de la spécificité des BMR au sein de l'Hôpital de Médéa.

## IV.2. Prélèvements

### IV.2.1. Répartition des cultures positives et négatives des prélèvements

Le tableau IV.1 et la figure IV.1 représentent les données concernant les prélèvements pris pour la réalisation de notre étude.

**Tableau IV.1 :** Répartitions des prélèvements

| Type de prélèvement | Culture positive | Culture négative |
|---|---|---|
| Urine | 53 | 44 |
| Pus | 59 | 30 |

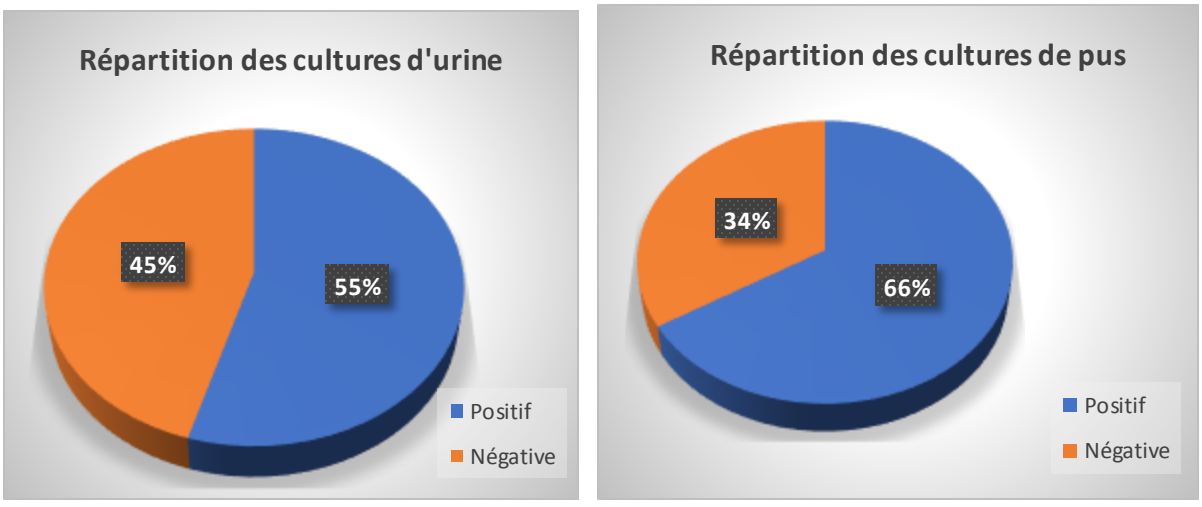



**Figure IV.1 :** Répartition des prélèvements

Durant la période d'étude, le pourcentage des cultures positives d'urine est plus élevé (55%) avec un nombre de (53) prélèvements par rapport au pourcentage des cultures négatives (45%) avec un nombre de (44).

Et le pourcentage des cultures positives de pus est plus élevé (59%) avec un nombre de (66) prélèvements par rapport au pourcentage des cultures négatives (34%) avec un nombre de (30).

Entre le 28 janvier et le 11 Avril 2024, un total de 112 prélèvements a montré des résultats positifs : 54 prélèvements d'urine et 58 prélèvements de pus. Parmi ces résultats, 68 prélèvements présentaient une infection par une bactérie multi résistante. La répartition de ces prélèvements est la suivante : 23 prélèvements d'urine et 45 prélèvements de pus. Tous ces prélèvements ont été effectués à partir des 68 patients externes ou admis à l'un des services de l'hôpital Mohammed Boudiaf de Médéa.

Parmi les cultures positives, 68 prélèvements ont montré l'existence des BMR avec un pourcentage de (61%), par rapport à 44 prélèvements, soit 39%, montrant une culture positive avec des bactéries sensibles.

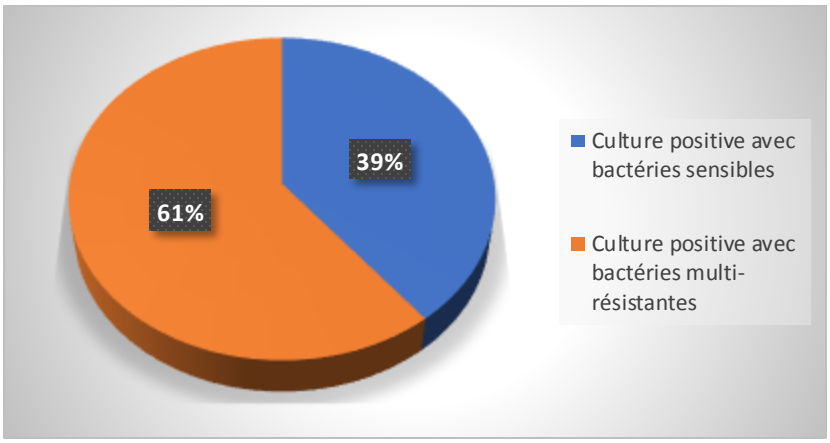



**Figure IV.2 :** Répartition des cultures positives selon le type de bactéries

### IV.2.2. Répartition des BMR dans les prélèvements selon le sexe

Le tableau IV.2 et la figure IV.3 représentent la répartition des prélèvements selon le sexe des patients.

**Tableau IV.2 :** Répartitions des prélèvements selon le sexe (Le nombre)

| Type / Sexe | Prélèvements d'urines | Prélèvements de pus | Total |
|---|---|---|---|
| **Homme** | 8 | 25 | 33 |
| **Femme** | 17 | 18 | 35 |

Parmi les 68 patients admis à l'hôpital (33) sont des hommes avec un pourcentage de (48.5%), et (35) sont des femmes représentant (51.5%) de la population d'étude.

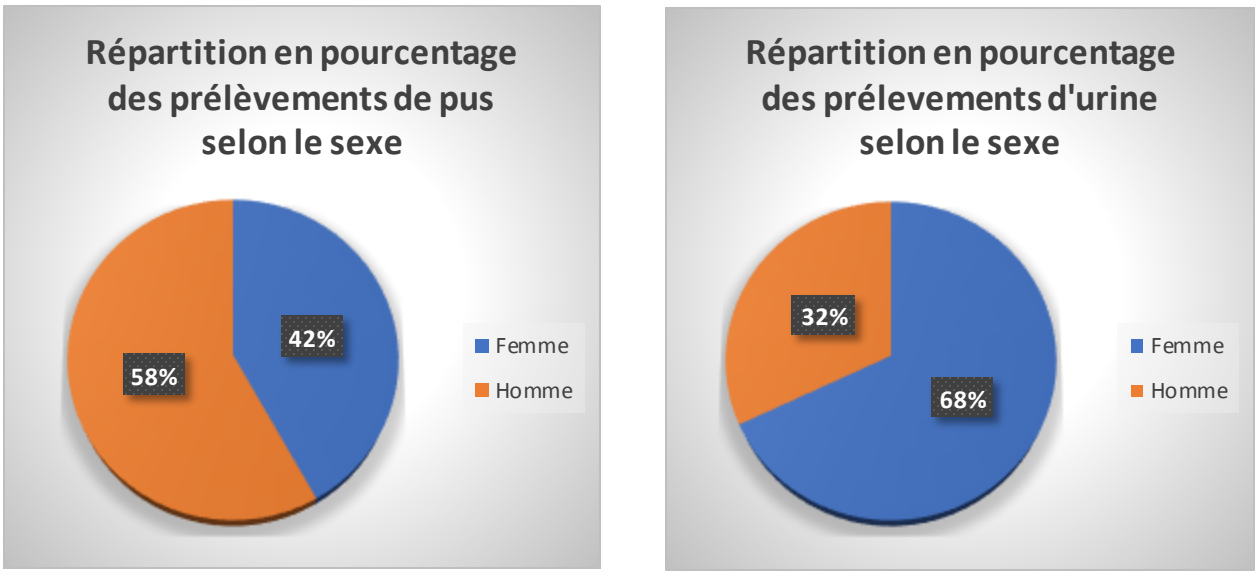



**Figure IV.3 :** Répartitions en pourcentage des prélèvements selon le sexe

**Discussion**

On constate que les femmes sont la tranche la plus touchée par les infections urinaires avec un pourcentage de (68%) avec un nombre de (17), par rapport à (32%) pour les hommes avec un nombre de (8). Ce qui revient à la différence anatomique de l'appareil génitale entre l'homme et la femme ce qui rend les femmes plus sensibles aux infections urinaires.

Par contre, les hommes sont plus touchés par des infections de pus avec un pourcentage de (58%) avec un nombre de (25) par rapport aux femmes (42%) avec un nombre de (18) prélèvements.

En effet, les hommes sont plus exposé au accidents qui peuvent causés des plaies devenant par la suite une source d'infection en cas d'absence des bonnes conduites de stérilisation et d'hygiène.

### IV.2.3. Répartition des BMR dans les prélèvements selon le service d'hospitalisation

Le tableau IV.3 et la figure IV.4 représentent la répartition des prélèvements selon le service hospitalier.

**Tableau IV.3 :** Répartitions des prélèvements selon le service hospitalier

| Service | Nombre de prélèvements |
|---|---|
| Oncologie | 01 |
| Hématologie | 02 |
| Post opératoire | 06 |
| Médecine | 21 |
| Gynécologie | 07 |
| Traumatologie | 06 |
| Chirurgie | 11 |
| UMC | 04 |
| Pédiatrie | 02 |
| Externe | 08 |

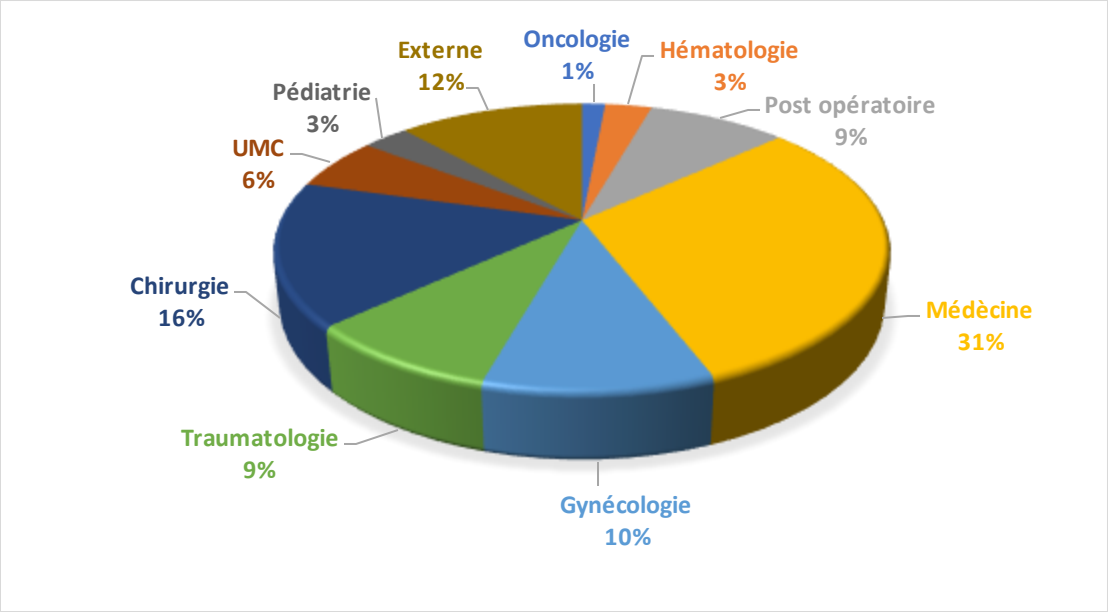



**Figure IV.4 :** Répartitions des prélèvements selon le service hospitalier

**Discussion**

La proportion des BMR isolées était plus élevée dans le service de médecine (31%) que dans les autres services ce qui était déjà observé dans une étude tunisienne **[67]** , suivie par un pourcentage de (16%) dans le service de chirurgie , (12%) chez les patients externes , (10%) en gynécologie , (9%) pour le service de traumatologie et le service post opératoire , (3%) pour le service d'hématologie et pédiatrie et finalement (1%) pour le service d'oncologie.

Presque tous les patients (service de médecine) étaient traités par une antibiothérapie adaptée, principalement par des bêta-lactamines ou des carbapénèmes avec une durée de traitement moyenne de 14 jours, ce qui explique l'augmentation des BMR dans ce service.

D'autre part, bien que le diabète n'est pas un facteur de risque d'acquisition de résistance bactérienne, les infections à BMR étaient fréquentes chez les patients diabétiques qui se trouvent dans le service de médecine.

Les services de médecine, de chirurgie et de gynécologie étaient les plus touchés, ce qui pourrait indiquer des lacunes dans les mesures de prévention et de contrôle des infections dans ces services.

## IV.3. Isolement et identification des souches

Les prélèvements ont été ensemencés sur différents milieux d'isolement. Les colonies qui possèdent les caractéristiques culturales et morphologiques, permettant de suspecter leur appartenance à un groupe bactérien, sont retenues et subissent d'autres tests d'identification, à savoir un examen microscopique après coloration de Gram et des tests d'identifications biochimiques (catalase, oxydase et galerie API). L'analyse des prélèvements, sur la base de caractères culturaux, morphologiques et biochimiques, a permis d'identifier 68 isolats appartenant à 4 genres différents, Staphylococcus aureus résistantes à la méticilline, Acinetobacter Baumanii , Pseudomons aerugenosa et des Entérobactéries (BLSE) .

### IV.3.1. Etude macroscopique

**A. Les entérobactéries**

Certaines colonies se présentent sous une forme muqueuse, grosse, bombée opaque et crémeuses par exemple Klebsiella pneumoniae (Figure IV.5), d'autres colonies sont incolores, rondes régulière ou irrégulière par exemple E.coli. Leur diamètre est compris entre 1 et 2,5mm.

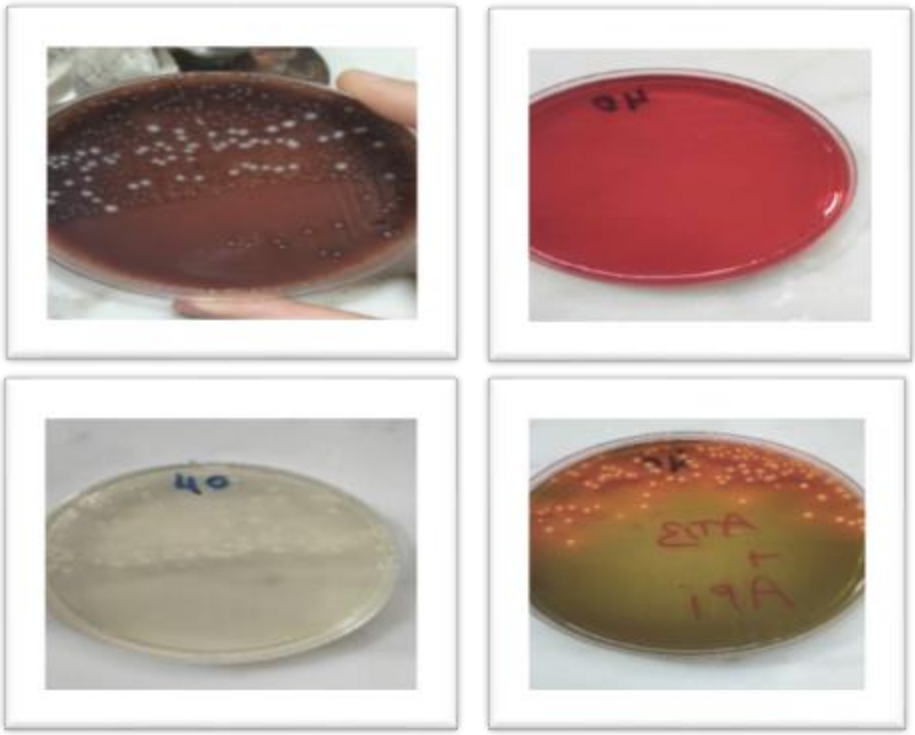


**Figure IV.5 :** Identification macroscopique d'entérobactérie : Klebsiella pneumoniae

**B. Staphylocoque aureus**

Sur milieu Chapman, les colonies de S. aureus apparaissent de couleur jaune doré à mannitol positif. Sur les autres milieux apparaissent comme des colonies blanchâtres, peu arrondies.



**Figure IV.6 :** Identification macroscopique de Staphylocoque aureus

### C. Pseudomonas aeruginosa

Isolées, grandes, avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier (Figure IV.7). Elles sont caractérisées par une autolyse qui donne un aspect métallique verdâtre , irisé lors de la culture en nappe de la bactérie. Ce phénomène est lié à l'action des enzymes protéolytiques bactériennes.

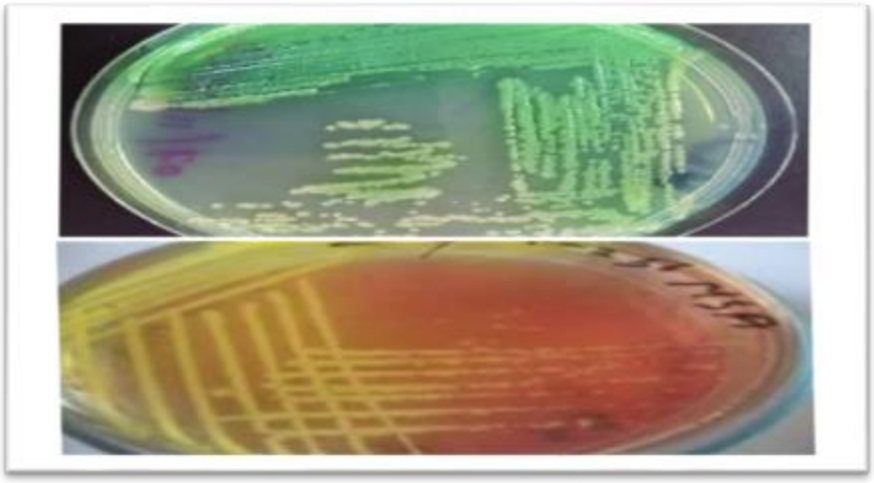


**Figure IV.7 :** Identification macroscopique de Pseudomonas aerginosa

### D. Acinetobacter baumanii

Sur Hektoen, les colonies d'Acinetobacter apparaissent petites, lisses, arrondies, circulaires, convexes ayant une coloration bleu-vert (absence de la fermentation du lactose) dégageant une odeur caractéristique (Figure IV.8).

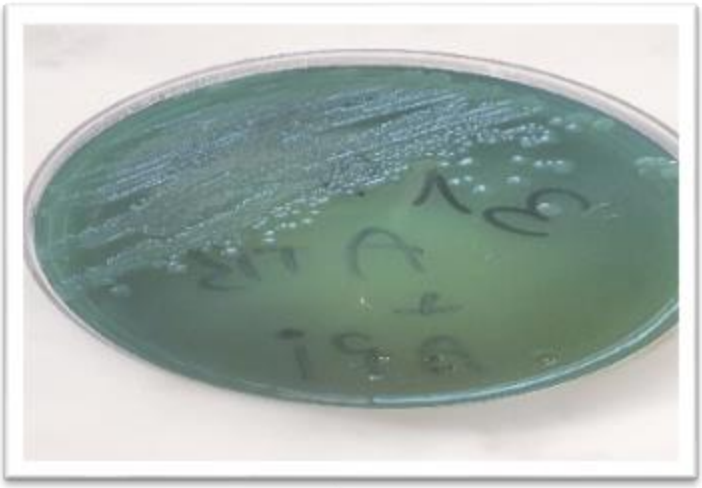


**Figure IV.8 :** Identification macroscopique deAcinetobacter baumannii

### IV.3.2. L'aspect microscopique

#### A. L'état frais

L'observation des cellules à l'état frais indique que certaines souches sont mobiles et d'autres sont immobiles. Le tableau IV.4 représente les caractères morphologiques des bactéries à l'état frais.

**Tableau IV.4 :** Caractères morphologiques des bactéries à l'état frais **[56]**

| Bactérie | Observation |
|---|---|
| • *S.aureus* | Immobile |
| • *A. baumannii* | Immobile |
| • Entérobactéries | Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles *(klebsiella pneumoniae)* |
| • *Pseudomonas aeruginosa* | Mobiles, se déplaçant en ligne droite grâce à un flagelle polaire généralement unique |

#### B. Coloration de Gram

L'observation microscopique après coloration de Gram nous a révélé la présence de différentes formes bactériennes (Figure IV.9).

Les bactéries à Gram positif resteront violettes comme staphylocoque aureus alors que les bactéries à Gram négatif seront teintées en rose. La présence de bacilles à Gram négatif nous indique la présence des entérobactéries tel que le genre, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, E.coli, aussi du pseudomonas aeruginosa ou de coccobacilles à Gram négatif non fermentaires (BNF) tel que Acinetobacter baumannii.

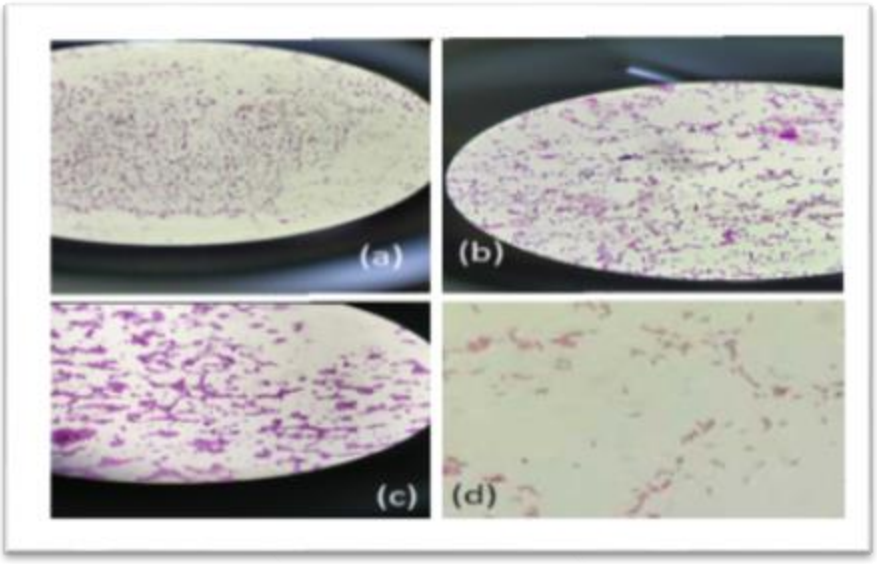



**Figure IV.9 :** Examen microscopique après coloration de Gram (Gx100).

(a) Cocci Gram positive Staphylococcus aureus
(b) Bacille Gram négative Klebsiella pneumoniae
(c) Coccobacilles à Gram négatif d'Acinetobacter baumanii
(d) Bacille gram négative pseudomonas aerugenosa

### IV.3.3. Identification biochimique

### A. Galerie API

La figure IV.10 présente les résultats obtenus en utilisant la galerie API.




**Figure IV.10 :** Identification biochimique par galerie API

1. Résultat de l'identification d'Escherichia coli
2. Résultat de l'identification de Klebsiella pneumoniae
3. Résultat de l'identification de Proteus mirabilis

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau A annexé, après l'identification est établi à l'aide d'un logiciel **''Lab.upbm.org : Identifieur microbien''**

**B. Test d'oxydase**

Grace à ce test, nous avons pu faire la distinction entre les bactéries à oxydase positive qui donnent une coloration rose violacée (Figure IV.11) qui s'explique par l'oxydation du réactif comme chez Pseudomonas aeruginosa.

Par contre les bactéries à oxydase négative restent incolores ce qui indique que la bactérie n'est pas capable d'oxyder le N-diméthyl paraphénylène diamine comme chez les entérobactéries (Klebsiella pneumoniae, , Enterobacter cloacae) et Acinetobacter et staphylocoque aureus.

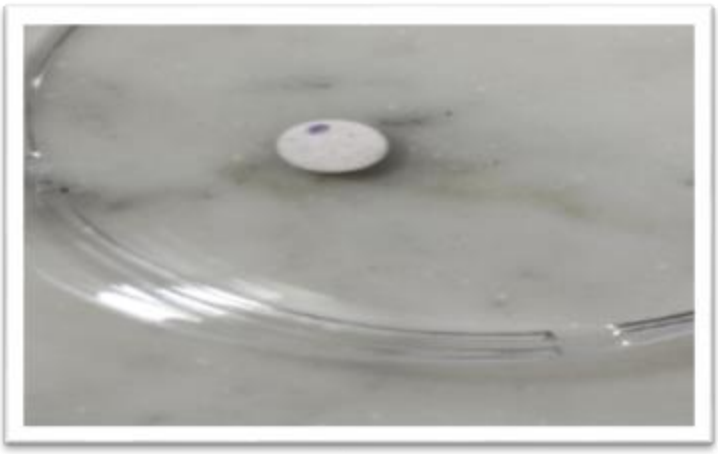


**Figure IV.11 :** Résultat du test d'oxydase positive pour Pseudomonas aeruginosa

**C. Test de catalase**

Dans cette étude, nous avons pu distinguer les bactéries à catalase négative et les bactéries à catalase positive par la formation des bulles de gaz. Cela indique que les bactéries possèdent l'enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène pour libérer le dioxyde d'oxygène comme chez Staphylococcus aureus et les entérobactéries (Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae , pseudomonas aerugenosa et staphylocoque aureus) (figure IV.12). Dans le cas échéant, pas de formation des bulles d'oxygène, la bactérie ne possède pas donc l'enzyme de catalase comme Acinetobacter baumanii.

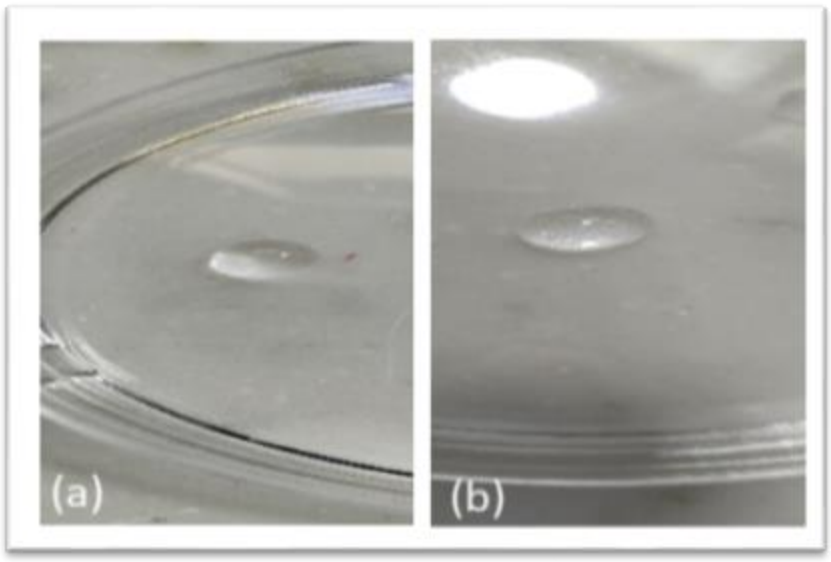



**Figure IV.12 :** Résultat du test de catalase
***(a) Catalase négative pour Acinetobacter Baumanii***
***(b) Catalase positive pour Klebsiella pneumonie***

### D. Test de coagulase

La réaction est considérée comme positive lorsque le réactif est coagulé au bout de 20 s, ce qui nous a permis de confirmer que la bactérie de résultat positif appartienne à l'espèce Staphylococcus aureus (figure IV.13).

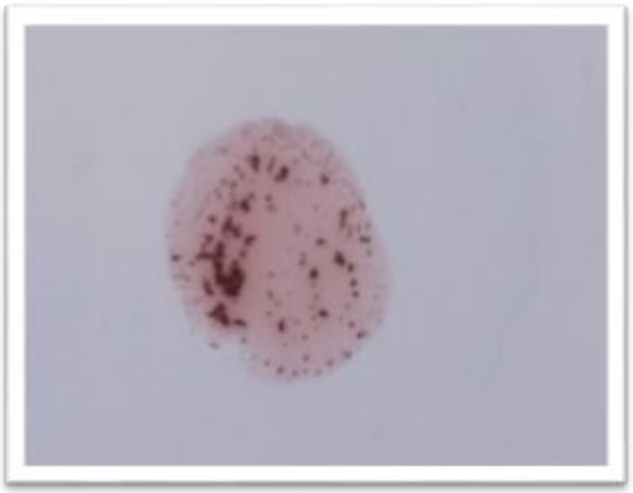


**Figure IV.13 :** Mise en évidence de la coagulase libre chez staphylococcus aureus

## IV.4. Répartition des BMR selon l'espèce

Durant la période d'étude, 68 échantillons bactériennes multi résistantes ont été colligées. Les principales espèces bactériennes isolées étaient : Des entérobactéries type BLSE : Klebsiella pneumoniae, E.coli et proteus mirabilis. Avec Pseudomonas aeruginosa, Staphylocoque aureus, et Acinetobacter baumanii.

Les résultats sont présentés ci-dessous (Tableau IV.5 et Figure IV.14).

**Tableau IV.5 :** Répartition des BMR selon l'espèce

| Espèce | Répartition selon le prélèvement | | Nombre Total | Le pourcentage (%) |
|---|---|---|---|---|
| | Urine | Pus | | |
| Klebsiella pneumoniae | 06 | 10 | 16 | 24 |
| E.coli | 09 | 06 | 15 | 22 |
| Proteus mirabilis | 05 | 03 | 08 | 12 |
| SARM | 0 | 18 | 18 | 26 |
| P.aeruginosa | 04 | 02 | 06 | 9 |
| A.Baumanii | 01 | 04 | 05 | 7 |

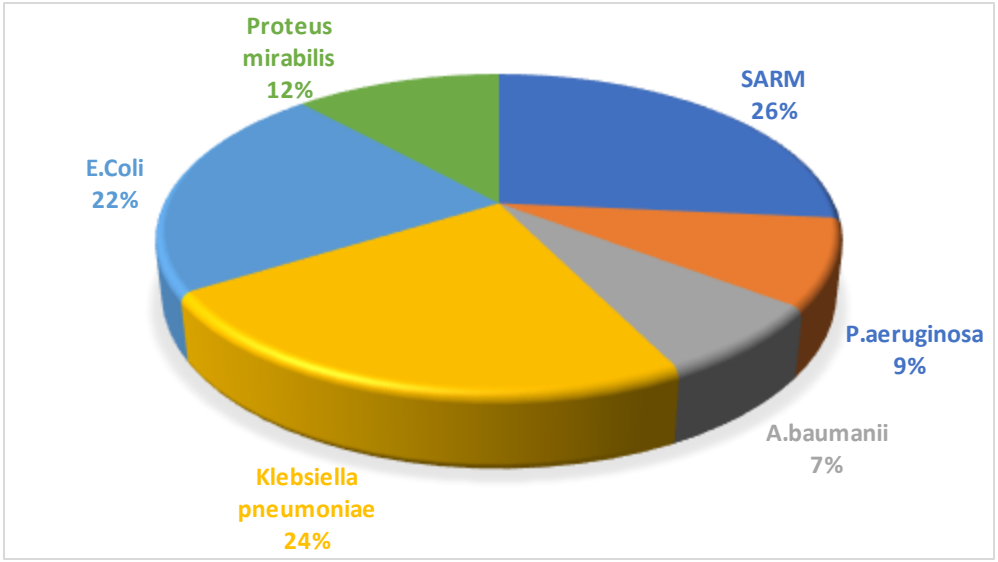



**Figure IV.14 :** Répartition des BMR selon l'espèce

**Discussion**

La figure montre que Staphylocoque aureus et Klebsiella pneumoniae étaient les espèces bactériennes les plus dominantes avec (26%) et (24%), respectivement, suivie par E.coli avec (22%) mais aussi par d'autre bactéries comme Proteus mirabilis (12%) , Pseudomonas aerugenosa (9%) et Acinetobacter Baumanii (7%).

L'analyse des données de la répartition des BMR selon la nature de l'espèce bactérienne isolées au niveau des différents services de l'hôpital MOHAMED BOUDIAF montre que les trois souches prédominantes sont Staphylocoque aureus, Klebsiella pneumoniae et E.Coli avec une différence en pourcentage, cette variabilité peut être liée essentiellement aux habitudes de recrutement de chaque service, le nombre d'antibiotiques administrés et la durée du traitement.

Ces résultats sont en accord avec une étude réalisée au Centre hospitalier universitaire (CHU) de Marrakech, et qui a révélé que parmi les BMR isolées durant la période entre 2010 et 2014 chez l'enfant, les Staphylocoques et les Entérobactéries dominaient largement le profil bactérien suivi par l'Acinetobacter baumanii multi résistant (ABMR) et enfin le PAMR **[68].**

## IV.5. Détermination du profil d'antibiorésistance

### IV.5.1. Les résultats des antibiogrammes pour les Entérobactéries type BLSE

#### A. Pour Klebsiella pneumoniae

Les résultats des antibiogrammes des souches de Klebsiella pneumoniae BLSE (Figure IV.15) sont détaillés dans le tableau IV.6 et la figure IV.16 et ils ont été obtenus à l'aide du tableau C annexé.




**Figure IV.15** : Antibiogramme d'une souche de klebsiella pneumonie.

**Tableau IV.6 :** Résultats des antibiogrammes des souches de Klebsiella pneumoniae BLSE.

| Patient | Sexe | Service | Type | Antibiogramme | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | CTX | FOX | CS | CIP | AK | GEN | AMP | AMC | CZ | FF FOS | COT SXT | F FT | ETP ERT | IPM |
| 01 | F | Externe | Urine | S | S | S | S | S | S | R | R | R | R | S | R | S | S |
| 02 | H | Oncologie | Urine | S | S | S | R | S | S | R | R | R | S | R | R | S | S |
| 03 | F | Hémato | Urine | R | S | S | R | S | S | R | S | R | S | R | R | S | S |
| 04 | F | Externe | Urine | S | S | S | R | S | S | R | S | S | R | S | R | R | S |
| 05 | F | Externe | Urine | S | R | S | S | S | S | R | S | S | R | S | R | S | S |
| 06 | F | Post opératoire | Urine | S | S | S | S | S | S | R | R | R | R | S | R | S | S |
| 07 | F | Post opératoire | Pus | R | R | S | R | S | S | R | R | R | R | R | R | R | S |
| 08 | F | Médecine | Pus | R | R | S | R | S | R | R | R | S | R | R | S | S | S |
| 09 | F | Gynéco | Pus | R | S | S | S | S | S | R | R | R | S | R | S | S | S |
| 10 | H | Médecine | Pus | R | S | S | R | S | R | R | R | R | R | R | S | S | S |
| 11 | F | Traumato | Pus | R | R | S | R | S | R | R | S | R | S | R | S | S | S |
| 12 | H | Chirurgie | Pus | R | R | S | R | S | R | R | R | R | R | R | R | R | S |
| 13 | F | Gynéco | Pus | S | R | S | R | S | S | R | R | R | S | S | S | S | S |
| 14 | F | Gynéco | Pus | S | R | R | S | S | S | R | R | R | S | S | S | S | S |
| 15 | F | Médecine | Pus | R | R | S | R | S | S | R | R | R | R | R | R | S | S |
| 16 | F | Post opératoire | Pus | R | S | S | R | S | S | R | R | R | R | S | R | R | S |

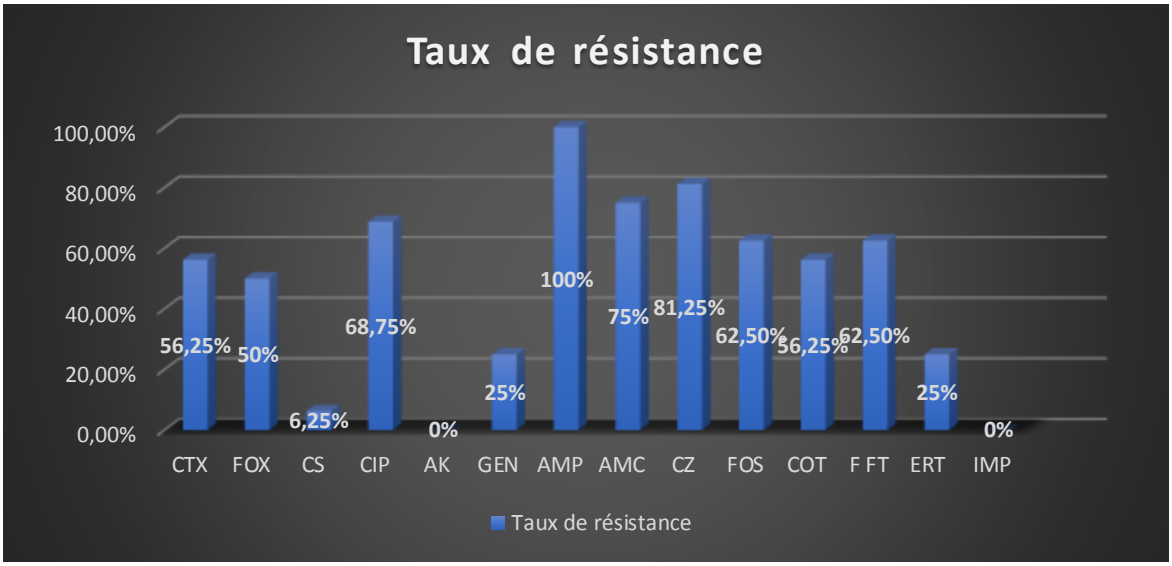



**Figure IV.16** : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de Klebsiella pneumoniae BLSE.

**Discussion**

Les résultats montrent que les souches de Klebsiella pneumoniae résistent à la plupart des antibiotiques, avec le taux le plus élevé contre l'Ampicilline (100%), La Céfazoline (81,25%), l'amoxicilline-acide clavulanique (75%), et un taux de résistance moyenne contre : La Céfotaxime (56,25%) , la Céfoxitine (50%) , la Ciprofloxacine (68,75%), la Triméthoprime + Sulfamides (56,25%), La fosfomycine et furane (62,50%) .

Une faible résistance est notée contre la Colistine (6,25%), la Gentamycine et l'Ertapénème (25%). Cependant, aucune résistance contre l'Amikacine et l'Imipénème n'a été détectée.

**B. Pour Escherichia coli**

Les résultats des antibiogrammes des souches de Escherichia Coli BLSE (Figure IV.17) sont détaillés dans le tableau IV.7 et la figure IV.18 et ils ont été obtenus à l'aide du tableau C annexé.

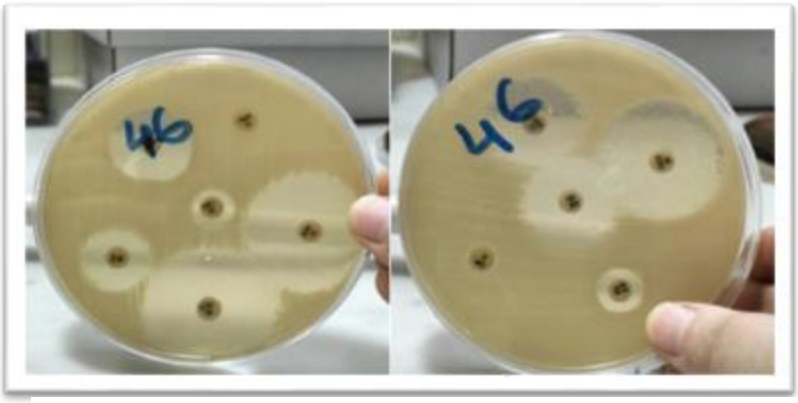



**Figure IV.17** : Antibiogramme d'une souche d'E.coli

**Tableau IV.7 :** Résultats des antibiogrammes des souches de Escherichia coli type BLSE.

| Patient | Sexe | Service | Type | Antibiogramme | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | CTX | FOX | CS | CIP | AK | GEN | AMP | AMC | CZ | FF FOS | COT SXT | F FT | ETP ERT | IPM |
| 01 | F | Gynéco | Urine | R | S | S | R | R | R | R | R | R | S | R | R | S | S |
| 02 | F | UMC | Urine | R | R | S | R | S | R | R | R | R | S | R | R | S | S |
| 03 | F | Externe | Urine | R | R | S | R | S | S | R | R | R | S | R | R | S | S |
| 04 | F | Médecine | Urine | R | S | S | R | S | S | R | R | R | S | R | R | S | S |
| 05 | F | UMC | Urine | R | S | S | R | S | R | R | R | R | R | R | R | S | S |
| 06 | F | Externe | Urine | R | S | S | S | S | S | R | R | R | S | R | S | R | S |
| 07 | F | Phtisiologie | Urine | S | R | S | S | S | S | R | R | R | S | R | S | S | R |
| 08 | F | Gynéco | Urine | S | R | S | S | S | S | R | R | R | S | R | S | S | S |
| 09 | F | Externe | Urine | S | R | S | R | S | S | R | R | S | R | R | S | S | S |
| 10 | H | Chirurgie | Pus | R | S | S | R | S | S | R | R | R | S | R | R | R | S |
| 11 | F | Médecine | Pus | S | R | S | R | S | S | R | R | S | S | R | R | S | S |
| 12 | H | Médecine | Pus | S | R | S | R | S | S | R | R | S | S | R | R | S | S |
| 13 | H | Médecine | Pus | S | R | S | R | S | S | R | R | R | S | S | R | S | S |
| 14 | F | Médecine | Pus | R | S | S | R | S | R | R | R | R | R | R | R | R | S |
| 15 | F | Médecine | Pus | R | S | S | R | S | S | R | R | R | R | R | S | R | S |

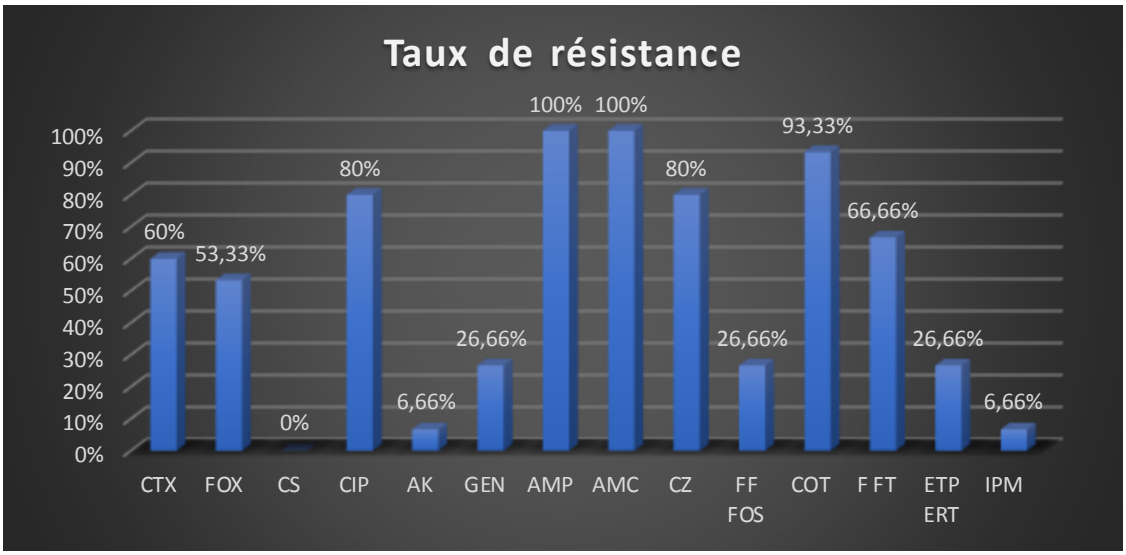



**Figure IV.18** : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'E.Coli BLSE

**Discussion**

E. coli était résistante à l'Ampicilline et à l'association Amoxicilline+ acide clavulanique avec un taux de (100 %), à l'association de la Triméthoprime + Sulfamides (93,33%) , à la Ciprofloxacine et la Céfazoline avec (80%). Une résistance moyenne a été marqué contre les Céphalosporines de troisième génération : la Céfotaxime (60%), la Céfoxitine (53,33%) et un taux de résistance de (66,66%) contre le furane .

Une faible résistance d'E.coli contre : la Gentamycine et l'Ertapénème (26,66%), l'Imipénème et l'Amikacine(6,66%) .Aucune résistance contre la colistine n'a été marquée.

**C. Pour Proteus mirabilis**

Les résultats des antibiogrammes des souches de Proteus mirabilis BLSE (Figure IV.19) sont détaillés dans le tableau IV.8 et la figure IV.20 et ils ont été obtenus à l'aide du tableau C annexé.




**Figure IV.19** : Antibiogramme d'une souche de Proteus mirabilis type BLSE

**Tableau IV.8 :** Résultats des antibiogrammes des souches de Proteus mirabilis.

| Patient | Sexe | Service | Type | Antibiogramme | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | CTX | FOX | CS | CIP | AK | GEN | AMP | AMC | CZ | FF FOS | COT SXT | F FT | ETP ERT | IPM | |
| 01 | H | Pédiatrie | Urine | S | S | S | R | S | R | R | R | R | R | R | S | S | S | |
| 02 | F | Externe | Urine | R | S | S | R | S | S | R | R | R | S | R | R | S | S | |
| 03 | H | UMC | Urine | R | S | S | R | S | R | R | R | R | S | R | S | S | S | |
| 04 | F | Gynécologie | Urine | R | R | S | S | S | S | R | R | R | R | S | R | S | S | |
| 05 | F | Externe | Urine | R | R | S | S | S | S | R | R | R | S | R | R | S | S | |
| 06 | H | Médecine | Pus | R | R | S | R | S | S | R | R | R | R | R | S | S | S | |
| 07 | H | Médecine | Pus | R | R | S | R | S | S | R | R | R | S | R | S | S | S | |
| 08 | H | Médecine | Pus | R | S | S | R | S | S | R | R | R | S | R | S | S | S | |

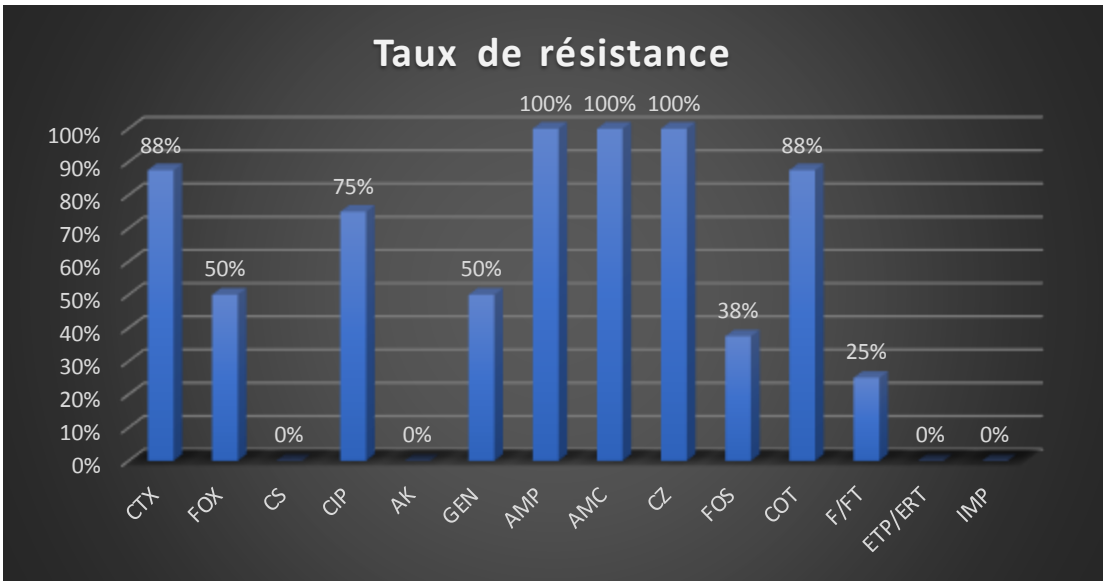



**Figure IV.20** : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de Proteus mirabilis BLSE

**Discussion**

Les souches de Proteus mirabilis présentaient des niveaux élevés de résistance à de nombreux antibiotiques courants, tels que :La Céfotaxime (88%), la Ciprofloxacine(75%) , l'Ampicilline et la Céfazoline et l'association de l'Amoxicilline+acide clavulanique avec un taux de (100%) , la Triméthoprime + Sulfamides (88%) .

Une résistance moyenne contre : la Céfoxitine et la Gentamycine (50%), la Fosfomycine(38%), et le Furane (25%). Aucune résistance a été marquée contre : la Colistine, l'Amikacine , l'Ertapénème, et l'Imipénème. Presque toutes les souches d'entérobactéries isolées ont une grande résistance aux Pénicillines, l'ampicilline : (100%), l'Amoxicilline+AC : (91,66%) , aux Céfotaxime : (68,88%) , aux Céfazoline :87% , Céfoxitine (51,11%) ,

La Gentamycine, présente un taux de résistance (32 %), la Ciprofloxacine (74%) et la Triméthoprime + Sulfamides (80%) De plus, ces souches représentent une résistance aux Ciprofloxacine (60%), Fosfomycine(42.22%)

Très faible résistance contre : la Colistine et l'Imipénème (2.08%).

Le taux de résistance élevé de nos résultats aux β-lactamines est similaire à celui d'une étude Marocaine 2015 **[68]**, mais on a trouvé une augmentation de la résistance des E-BLSE contre la Fosfomycine par rapport à cette étude.

L'augmentation de la résistance de ces souches contre les B-lactamines est la conséquence de la pression de sélection due au large usage des B-lactamines dans le traitement des infections causées par les BLSE en général.

Donc, les molécules les plus actives proposées pour le traitement des infections par BLSE, on peut citer l'Amikacine qui est la molécule pour laquelle le pourcentage de souche résistante est le plus faible parmi les E-BLSE. Ce résultat rejoint celui de M.Moutachakkir 2015 **[68]** qui a indiqué que l'utilisation de l'Amikacine en monothérapie pourrait s'envisager dans le traitement des infections vu le taux de résistance négligeable vis-à-vis de cet antibiotique. Aussi la colistine qui a une très bonne activité contre ces derniers et les carbapénèmes comme : l'Imipénème qui est déjà mentionné dans une étude française.**[69]**

### IV.5.2. Les résultats d'antibiogramme pour les staphylocoques aureus résistants à la méticilline

Les résultats des antibiogrammes des souches de staphylocoque aureus résistant à la méticilline (Figure IV.21) sont détaillés dans le tableau IV.9 et la figure IV.22 ils ont été obtenus à l'aide du tableau D annexé.

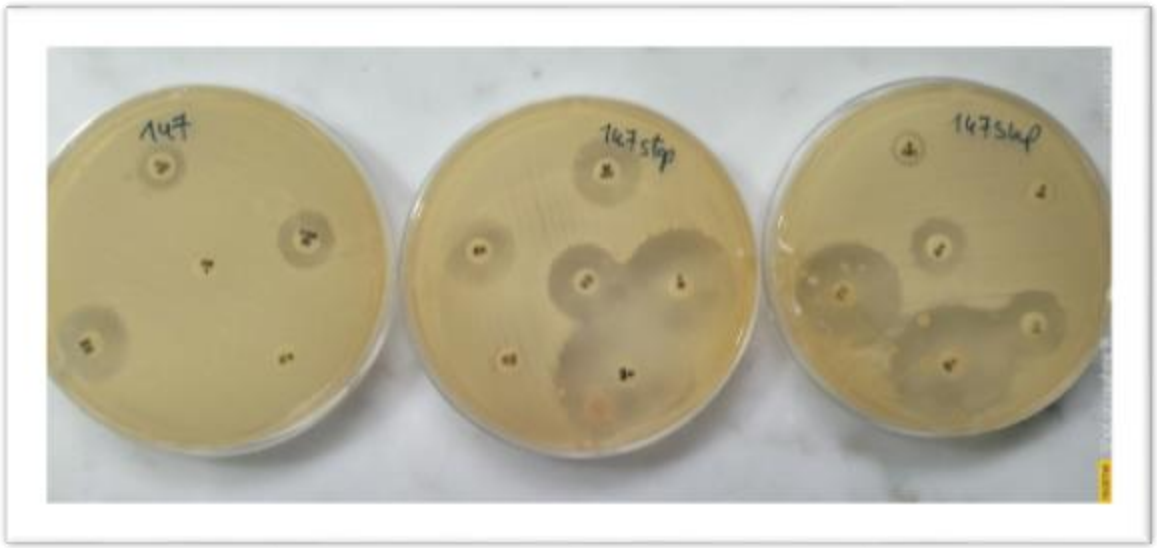


**Figure IV.21** : Antibiogramme pour échantillon de staphylocoque aureus résistante à la méticilline

**Tableau IV.9 :** Résultats des antibiogrammes de staphylocoque aureus résistante à la méticilline

| Patient | Sexe | Service | Type | Antibiogramme | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | P | OX | FOX | AK | E | PRI RP | OFX OF | CHL | VA | TEI TRI | RIF RA | TET TE | NA | DA | LEV LE | SXT COT | GEN | FA |
| 01 | H | Post opératoire | Pus | R | R | R | S | S | R | R | S | S | S | S | S | S | S | R | R | R | R |
| 02 | H | Traumato | Pus | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | R |
| 03 | H | Traumato | Pus | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| 04 | H | Médecine | Pus | R | R | R | S | S | S | R | S | S | S | S | R | S | S | R | S | R | R |
| 05 | H | Médecine | Pus | R | R | R | R | S | S | R | S | S | S | R | R | S | S | R | S | R | R |
| 06 | H | Médecine | Pus | R | R | R | R | S | S | R | S | S | R | R | R | S | S | R | S | R | R |
| 07 | H | Médecine | Pus | R | R | R | R | S | S | R | S | S | S | R | R | S | R | R | S | R | R |
| 08 | H | Post opératoire | Pus | R | R | R | S | S | S | R | S | S | S | R | R | S | S | R | S | R | R |
| 09 | H | Chirurgie | Pus | R | R | R | R | S | S | R | S | S | R | R | R | S | S | R | S | R | R |
| 10 | H | Chirurgie | Pus | R | R | R | R | S | S | R | S | S | R | R | R | R | S | R | S | R | R |
| 11 | H | Traumato | Pus | R | R | R | R | S | S | R | S | S | S | R | R | S | S | R | S | R | S |
| 12 | H | Médecine | Pus | R | R | R | R | S | S | R | S | S | R | R | R | S | S | R | R | R | S |
| 13 | H | Médecine | Pus | R | R | R | R | R | R | R | S | S | R | R | R | R | S | R | R | R | R |
| 14 | H | Chirurgie | Pus | R | R | R | R | S | S | R | S | S | R | R | R | S | S | R | S | R | R |
| 15 | F | Post opératoire | Pus | R | R | R | R | S | S | R | S | S | R | S | R | S | S | R | R | R | R |
| 16 | H | Médecine | Pus | R | R | R | R | S | S | R | S | S | R | S | R | R | S | R | S | R | R |
| 17 | F | UMC | Pus | R | R | R | S | R | R | S | S | S | R | S | R | S | R | R | S | R | R |
| 18 | F | Médecine | Pus | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | R | S | R | S |

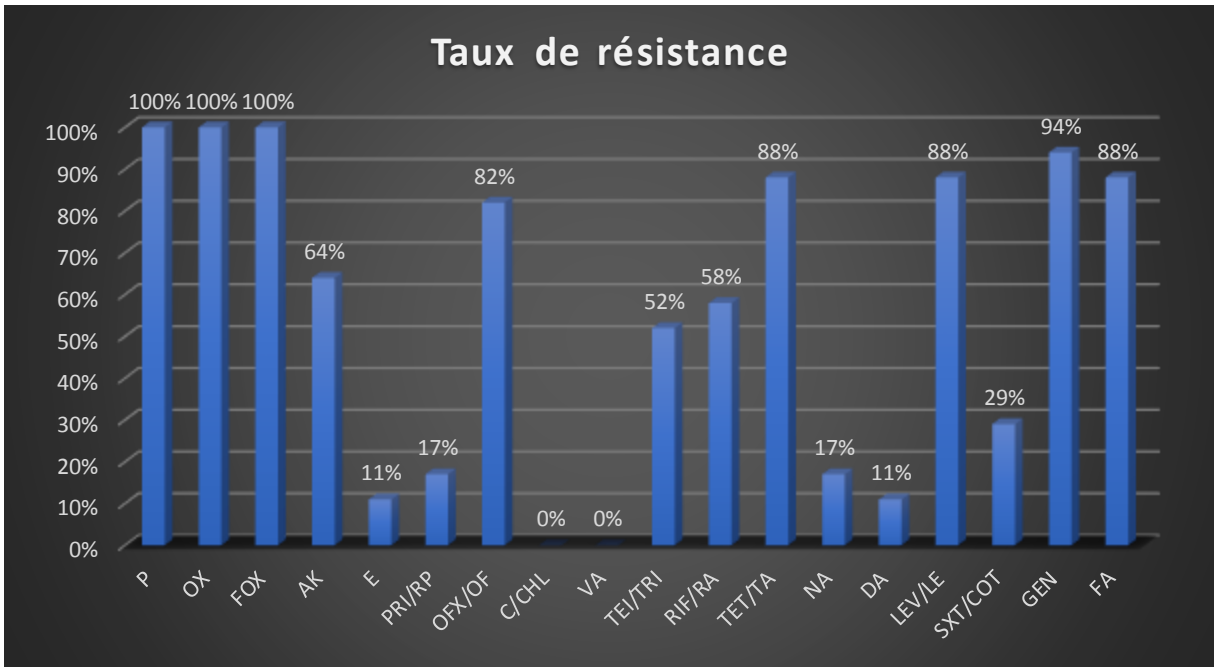



**Figure IV.22** : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de staphylocoque aureus résistante à la méticilline

## Discussion

Staphylocoque aureus résistant à la méticilline présente une forte résistance contre la Pénicilline et l'Oxacilline et la Céfoxitine (100%), l'Ofloxacine (82%), la Tétracycline et la Lévofloxacine et l'acide fusidique (88%), la gentamycine (94%) et l'Amikacine (64%). Une résistance moyenne contre : la Teicoplanine (52%), la Rifampicine (58%), et la Triméthoprime + Sulfamides (29%). Une résistance relativement faible contre l'Erythromycine et la Clindamycine (11%) et l'acide nalidixique (17%). Aucune résistance contre le Chloramphénicol et la Vancomycine .

Ce résultat rejoint celui de Saidani (2005) **[70],** qui a indiqué que la Vancomycine garde toujours une bonne activité sur les souches de SARM .

### IV.5.3. Les résultats d'antibiogramme pour Pseudomonas aeruginosa

Les résultats des antibiogrammes des souches de Pseudomonas aeruginosa sont présentés dans le tableau IV.10 et la figure IV.23 et ils ont été obtenus à l'aide du tableau E annexé.

**Tableau IV.10 :** Résultats des antibiogrammes de Pseudomonas aeruginosa.

| Patient | Sexe | Service | Type | Antibiogramme | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | AK | NET | GEN | TIC | PIP | CAZ | TOB | AZT ATM | LVX LE | CIP | IPM | FF FOS |
| 01 | H | Pédiatrie | Urine | S | S | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R |
| 02 | H | Externe | Urine | S | S | R | R | R | R | R | R | S | S | S | R |
| 03 | F | Traumato | Urine | S | S | R | R | R | R | S | R | S | S | R | R |
| 04 | F | Médecine | Urine | S | S | S | R | R | R | S | S | S | S | R | R |
| 05 | H | Médecine | Pus | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 06 | F | Gynéco | Pus | S | S | R | R | R | R | R | R | S | S | R | R |

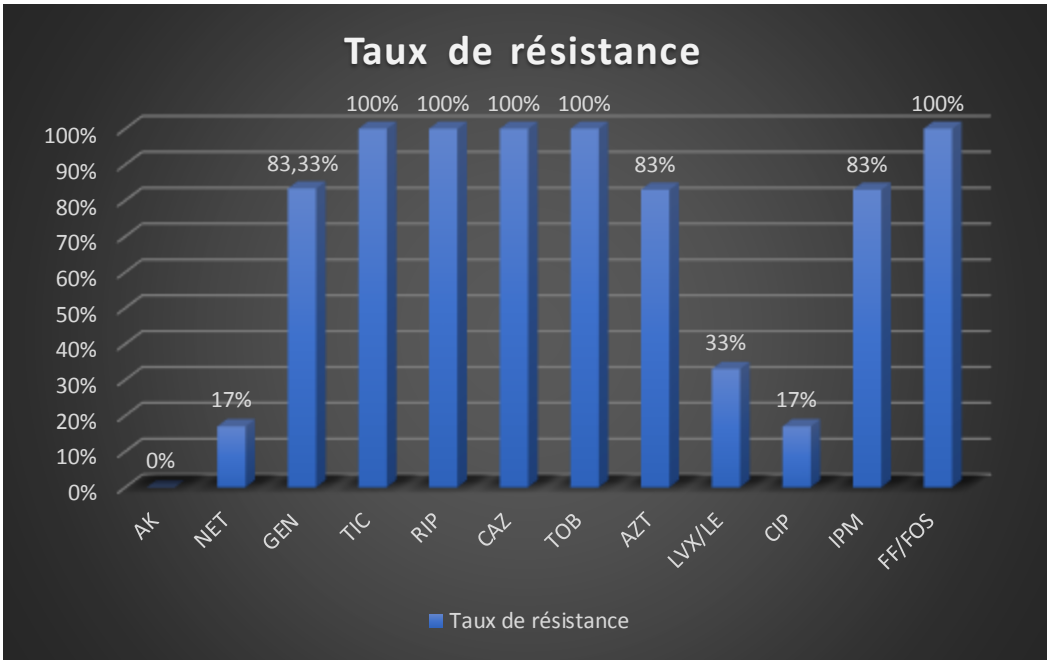



**Figure IV.23** : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de Pseudomonas aeruginosa

**Discussion**

Le taux de résistance des souches Pseudomonas aeruginosa le plus élevé à été enregistré pour la Rifampicine et la Teicoplanine et la Céftazidime en plus la Fosfomycine (100%) et la même résistance observée pour la Tobramycine (100%), l'Aztréonam et l'Imipénème et la Gentamycine (83%). Une résistance moyenne contre la Lévofloxacine (33%) . et la plus faible contre la Ciprofloxacine et la Netilmicine (17%), ces deux dernières possèdent une bonne activité contre la plupart des souches de Pseudomonas aeruginosa.

Suivant les recommandations établies par le CASFM, la souche de Pseudomonas aeruginosa se considère comme une souche multirésistante lorsqu'elle résiste à l'Imipénème et à la Céftazidime en même temps. Ces résistances sont liées à la capacité du germe à acquérir divers mécanismes de résistance enzymatiques (pénicillinases, hyperproduction de cephalosporinase chromosomique, bêtalactamases à spectre étendu), souvent associés à d'autres mécanismes (mutation, efflux...). Aucune résistance détectée pour l'Amikacine.

Pour l'Imipénème, nos souches sont beaucoup plus résistantes par rapport à celles isolées dans d'autres études : (14,6%) en Espagne et (15,2%) en France par Sevillano et *al.* **[71].**

De plus, pour les fluoroquinolones, (25%) de ces souches sont résistantes à ce type d'antibiotique. Nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus dans une étude Bulgare (80.3%) réalisée par Starteva et *al.* **[72]**

Donc, l'Amikacine garde le meilleur effet contre les Pseudomonas, suivi par la Netilmicine et la Ciprofloxacine.

La classe des fluoroquinolones occupe la deuxième position après celle des bêta-lactamines par rapport aux classes vis-à-vis desquelles P. aeruginosa a développé plus de résistance avec un taux de (17%) vis-à-vis de la Ciprofloxacine.

### IV.5.4. Les résultats d'antibiogrammes pour l'Acinetobacter baumanii

Les résultats des antibiogrammes des souches d'Acinetobacter baumanii (Figure IV.24) sont détaillés dans le tableau IV.11 et la figure IV.25 et ils ont été obtenus à l'aide du tableau F annexé.



**Figure IV.24** : Antibiogramme d'une souche de Acinetobacter baumanii

**Tableau IV.11 :** Résultats des antibiogrammes des souches d'Acinetobacter baumanii

| Patient | Sexe | Service | Type | Antibiogramme | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | CIP | COT | CS | GEN | LE | CAZ | PIP PRL | TIC | ATM | AK | NET | RIF |
| 01 | F | Externe | Urine | S | S | S | S | S | R | R | R | R | R | R | R |
| 02 | H | Chirurgie | Pus | R | R | S | S | S | R | R | R | R | R | R | R |
| 03 | F | Chirurgie | Pus | R | R | S | S | S | R | R | R | R | S | S | R |
| 04 | F | Chirurgie | Pus | S | R | S | S | S | R | R | R | R | S | S | S |
| 05 | F | Traumato | Pus | R | R | S | R | S | R | R | R | R | R | R | R |

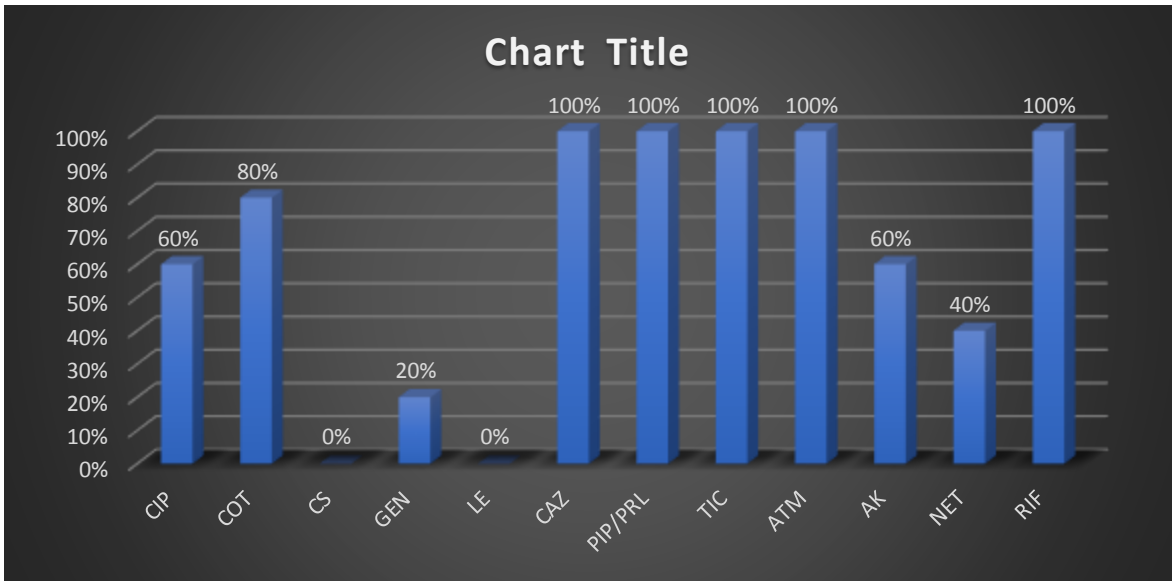



**Figure IV.25** : Profil de résistance aux antibiotiques des souches de l'Acinetobacter baumanii

**Discussion**

Acinetobacter baumannii présentait une résistance élevée (100%) vis-à-vis les antibiotiques : la Céftazidime ,la Pipéracilline, la Teicoplanine, l'Aztréonam et la Réfampicine.

Une résistance contre la Triméthoprime + Sulfamides (80%), et contre la ciprofloxacine et l'Amikacine (60%), la Nétilmicine (40%), la Gentamycine (20%).Aucune résistance contre la Colistine et la Lévofloxacine .

La colistine, antibiotique, de la famille des polymyxines, reste parfois le seul antibiotique disponible dans le cas des infections à A. baumanii résistants aux carbapénèmes **[73].**

## IV.6. Conclusion

Les bactéries isolées du milieu hospitalier sont des germes opportunistes. Aujourd'hui, et en raison de leur résistance à une large variété d'antibiotiques, elles sont les agents responsables d'infections nosocomiales sévères et d'épidémies qui peuvent entrainer de grandes difficultés de prise en charge pour les patients, avec des situations d'impasse thérapeutique.

Les résultats de l'identification ont révélé que la fréquence des bactéries responsables d'infections est dominée par Staphylocoque aureus et Klebsiella pneumoniae , suivie par E.coli avec mais aussi par d'autre bactéries comme Proteus mirabilis, Pseudomonas aerugenosa et Acinetobacter Baumanii .

La technique de diffusion en gélose utilisée pour l'étude de la résistance de ses souches a montré que presque toutes les souches étudiées présentent une résistance vis-à-vis de l'Amoxicilline et de l'association Amoxicilline + acide clavulanique.

- Les souches E. coli, Klebsiella pneumoniae et Proteus mirabilis sont fortement sensibles à la Céfotaxime, la Céfoxitine, l'Amikacine et la Colistine.
- Les souches de staphylocoque aureus résistant à la méticilline ne montre aucune résistance contre le Chloramphénicol et la Vancomycine .
- Pour les souches de pseudomonas aeruginosa, l'Amikacine garde le meilleur effet contre ces derniers , suivi par la Netilmicine et la Ciprofloxacine.
- Les souches d'Acinetobacter montrent une forte sensibilité à la Colistine et la Lévofloxacine .

De nombreuses espèces bactériennes ont développé des mécanismes de résistance à plusieurs classes d'antibiotiques. En milieu hospitalier, le traitement des infections causées par ces bactéries multirésistantes devient de plus en plus problématique.

L'usage optimal des antibiotiques constitue la pierre angulaire de la réduction de l'antibiorésistance.

# Conclusion générale

La multi-résistante des germes microbiens aux antibiotiques est l'un des problèmes majeurs de santé publique qui est devenue une préoccupation mondiale. La lutte contre ces bactéries peut se faire par la prévention qui consiste entre autres, à comprendre leurs modes de transmission, à trouver les déterminants de la résistance, et par la suite développer et mettre en place des outils de détection et de surveillance en temps réel.

Cette étude qui entre dans ce contexte vise à évaluer l'importance que représente le problème des BMR au niveau de l'hôpital Mohamed Boudiaf. Ainsi, le but principal assigné à ce travail est basé sur deux aspects : le premier est l'identification de souches isolées à partir d'échantillons provenant du milieu hospitalier et le deuxième est l'étude de la sensibilité des souches isolées vis-à-vis de certains antibiotiques utilisés en thérapeutique.

Dans notre étude réalisée au niveau laboratoire central de l'hôpital Mohamed Boudiaf de Médéa, on a pu isoler, identifier puis évaluer la multi-résistante des principales bactéries responsables des infections dans cet établissement.

Parmi 186 prélèvements reçus à l'hôpital au terme des deux mois d'études, (112) prélèvements ont montré un résultat positif avec un pourcentage de (60%) par rapport au (74) résultats négatifs avec un pourcentage de (40%) .

Entre (112) prélèvements positives, (68) présentaient une bactérie multi résistante, et le reste (44) prélèvements présentaient des bactéries sensibles.

La prévalence des BMR est plus remarquable chez les femmes dans les prélèvements d'urine avec un pourcentage de (68%) par rapport à celle-ci chez l'homme avec un pourcentage de (32%).

En revanche, la prévalence des BMR est plus élevée chez les hommes dans les prélèvements de pus avec un pourcentage de (58%) par rapport à cette dernière chez les femmes (42%).

Les services de médecine, de chirurgie et de gynécologie étaient les services les plus touchés avec les BMR, ce qui pourrait indiquer des lacunes dans les mesures de prévention et de contrôle des infections dans ces services.

Notre étude s'intéresse sur les souches multirésistantes . Les résultats de l'identification ont révélé que la fréquence des bactéries isolées à partir des divers prélèvements (Urine et pus) est dominée par Staphylocoque aureus avec (26%), suivie par des Entérobactéries :

Klebsiella pneumoniae avec (24%) et E.coli avec (22%) et aussi Proteus mirabilis avec (12%), suivi par Pseudomonas avec (9%) et Acinetobacter baumanii avec (7%).

Les souches trouvées sont déjà citées par la littérature scientifique comme des germes responsables des infections nosocomiales. Il a été clairement vu que les isolats étudiés montrent une résistance importante aux antibiotiques commercialisés testés mais ils ne s'expriment pas de la même manière.

La technique de diffusion en gélose utilisée pour l'étude de la résistance de ces souches a montré que toutes les souches étudiées présentent une résistance importante vis-à-vis de plusieurs classes d'antibiotiques.

Les souches E. coli, Klebsiella pneumoniae et Proteus mirabilis type BLSE sont fortement résistantes aux beta lactamines : Céphalosporine comme la Céfotaxime, la Céfazoline , et la Ciprofloxacine, aussi aux Pénicilline avec (96%) , aux Aminosides : Gentamicine avec 33%. Les antibiotiques qui montrent une grande activités contre les entérobactéries types BLSE sont: l'Amikacine , la Colistine , et les Carbapénèmes : Imipénème et l'Ertapénème.

Tous les Staphylocoques aureus (100%) résistaient à la l'Oxacilline, la Pénicilline et la Céfoxitine, et (94%) résistaient à la Gentamicine. Une résistance relativement faible contre l'Erythromycine et la Clindamycine (11%) et l'acide nalidixique (17%). Aucune résistance contre le Chloramphénicol et la Vancomycine .

Pour les Pseudomonas aeruginosa, les taux de résistances retrouvés dans notre étude sont élevés, concernant les β-lactamines : (83%) à l'Imipénème et (100%) à la Céftazidime. De plus, (100%) sont résistants à la Fosfomycine. Pour les Aminosides, les taux de résistance sont de (83.33%) pour la Gentamicine et (100%) pour la Tobramycine, des souches sont résistantes aux fluoroquinolones : (17%) pour Ciprofloxacine et (33%) pour la Lévofloxacine. Il faut noter que la totalité des souches isolées sont sensibles à l'Amikacine.

Acinetobacter baumannii présentait une résistance élevée (100%) vis-à-vis de les antibiotiques : la Céftazidime ,la Pipéracilline, la Teicoplanine, l'Aztréonam et la Rifampicine.

Une résistance contre la Triméthoprime + Sulfamides (80%), et contre la Ciprofloxacine et l'Amikacine (60%), la Nétilmicine (40%), la gentamycine (20%).

Aucune résistance contre la Colistine et la Lévofloxacine .

La pression de sélection exercée par l'usage abusif des antibiotiques à large spectre est à l'origine de l'émergence préoccupante de ces souches. En plus de l'antibiothérapie, les procédures invasives (pose de sonde, intubation, ventilation artificielle, intervention chirurgicale) sont d'importants éléments à considérer.

D'une manière générale, nous pensons que cette modeste étude doit être complétée par d'autres études plus élargies en augmentant la durée du stage et l'effectif des prélèvements, et plus approfondies en utilisant des outils moléculaires et génétiques (PCR) dans le but d'identifier et de caractériser plus de germes puis déterminer leurs formes de résistance en utilisant des techniques des CMI et CMB de BMR.

Suite à la conclusion de notre travaille, certaines recommandations peuvent être envisagées, dont on peut citer :

- Approfondir les recherches sur la résistance bactérienne à l'échelle nationale
- Lancer des compagnes de sensibilisation aux bons usages des antibiotiques aussi bien en dehors des hôpitaux qu'en milieu hospitalier.
- Mettre en place un plan d'action national solide pour lutter contre la résistance.
- Améliorer la surveillance dès l'infection causée par la résistance aux antibiotiques
- Renforcer les politiques et les programmes et mettre en œuvre des mesures de prévention et de contrôle des infections.

# Références bibliographiques


[1] ZIANI S et MOUMEN S. I. (2019). Évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie. Faculté de médecine. Université SAAD DAHLEB de Blida.

[2] EL ABDANI S. (2016). Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie. Faculté de médecine et pharmacie. Université MOHAMMED V-RABAT.

[3] Rai M., Kon K., Gade A. (2016). Antibiotic Resistance: Can Nanoparticles Tackle the Problem? Publié par Elsevier Inc.

[4] Martinez J. L. (2014). General principles of antibiotic resistance in bacteria. Publié dans Drug Discovery Today: Technologies. 11:33-39.

[5] Maamar, B., Abdelmalek, R., Messadi, A.A., & Thabet, L. (2019). Étude épidémio-clinique des infections à entérobactéries productrices de carbapénémases chez les brûlés. Annals of Burns and Fire Disasters. 32(1): 10–16.

[6] Z. Baba Ahmed-Kazi Tani, G. Arlet, (2016) . Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie, Pathologie Biologie. 62(3): 169-178.

[7] Van Bambeke F. et Tulkens P., (2008). Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse: Antibiotiques et Antifongiques, Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire, Université catholique de Louvain, Belgique.

[8] Lucie MANGIN (2016) . Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de Lorraine.

[9] Dr Torche.S (2019). Pharmacologie spéciale chapitre 1 institut des sciences vétérinaires, université des frères Mentouri Constantine 1.

[10] Salah-Eddine AIT-MOUHOUB (2015). L'automédication aux antibiotiques en médecine générale : étude quantitative auprès de patients, Thèse de doctorat en médecine générale, Université de Picardie Jules Verne, France.

[11] Mehdi. S .(2008). La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Universite Mohammed V, faculté de médecine et de pharmacie, RABAT.

[12] Sadjida et sylia, (2017). Groupe de travail Société Française de Psychiatrie Biologique et Neuropsychopharmacologie et Fondation Fondamental : Consensus formel pour la prise en charge de la dépression résistante aux traitements.

[13] VEYSSIERE Anaïs Jennifer, (2019). La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires, Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bordeaux, France.

[14] https:// www. information- dentaire. fr/ formations / evitons-l- abus-d-antibiotiques %E2 %80 %89/

[15] Vanessa, J. (2010). Evaluation de l'antibiothérapie au Centre Hospitalier de Neuf château (France) et à la Polyclinique du Sud de Marrakech (Maroc), Thèse de Doctorat, Université Henri Poincare-Nancy1, France

[16] JAQUES, T. (2000). Antibiotiques antibactériens: Donnée générales sur les modes d'action et les mécanismes de résistance. Revue du praticien , N°4.

[17] BATTRAUD,M. Paul.(2017). La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité? Journal des Anti-infectieux, 19(1) : 1-6

[18] D. Yalaetal. (2001). Clasification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb,n°91.

[19] Levy, S.B et Marshall, B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. Nature Médecine. 10: 122-129.

[20] Bryskier A.(1999).Antibiotiques. Agent antibactériens et antifongiques. Ellipses; Paris.

[21] CavalloJ- D., R. Fabre R., JehlF., RappC., GarrabE. (2004). Bêtalactamines. EMC Maladies Infectieuses 1129-202.

[22] Wolff M., Joly –Guillou M-Let Pajot O. (2008). Le point sur les carbapénèmes.

[23] MICHEL,B ., MICHEL ,L., HERVE ,A .(1994). MEDICAMENTS-ANTIBIOTIQUES Traité de Chimie Thérapeutique Vol 2, Cours de Pharmacologie 3 ème Edition EL.

[24] Cocito C, D. Gimbattista M. (1990). Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique. Disponible sur: http://www.ipubli.inserm.fr/handle/ 10608/4061.

[25] Boukhatem,L. (2013). Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen, Mémoire de Master. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.

[26] Jean, l., Aboya, M.,(2013). Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de morinda morindoides.Thése de Doctorat. Université de Bretagne occidentale, Bretagne.

[27] Weiss, K. (2002). La résistance bactérienne : la nouvelle guerre froide. Le médecin du Québec, 37(3).

[28] Ouedraogo A.S., Jean-Pierre H., Banuls Anne-Laure, Ouedraogo R., Godreuil S. (2017). Emergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest : facteurs favorisants et évaluation de la menace. Médecine et Santé Tropicales, 27 (2).

[29] Syndia SADIKALAY (2018). Thèse de doctorat : Influence des rejets humains et animaux sur la diffusion de l'antibiorésistance à l'homme, aux animaux et à l'environnement, en Guadeloupe soutenue le 17 avril 2018.

[30] https://www.kartable.fr/ressources/svt/exercice-de-connaissances/connaitre-les-caracteristiques-de-la-transformation-bacterienne/58567/143611

[31] https://www.kartable.fr/ressources/svt/exercice-de-connaissances/connaitre-les-caracteristiques-de-la-conjugaison-bacterienne/58569/146630

[32]https://www.kartable.fr/ressources/svt/exercice-de-connaissances/schematiser-la-transduction-bacterienne/58573/146424

[33] Julie. B. (2014). Utilisation raisonnées des antibiotiques en élevage porcin, démarche d'accompagnement dans sept élevages, science vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort.

[34] Stephanie.F. (2009). Transfert d'un gène de résistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la ore intestinale humaine : inuence d'un traitement antibiotique. Médication. Université Rennes 1. France

[35] GerardJ. Tortora et *al*. (2011) .Introduction à la microbiologie .2eme Edition .Québec. Pearson .Edition du renouveau pédagogique INC

[36] Sylvie Carle (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important Le parrainage des antimicrobiens : Pharmactuel 24 : 249–255.

[37] Cattoen.C. (2015). Persistance du portage de bactéries multi-résistantes après la réanimation.2 p. Disponible sur : link.springer.com/content/PDF/10.1007/s13546-015-1048-4.pdf]

[38] Poly M. (2005). Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques. Immuno-analyse et biologie Spécialisée. 20(6) : 343-352.

[39] Nouri. M .,Ziadi.C. (2015). Étude bactériologique et résistance aux antibiotiques de klebsiella pneumonie. Génétique moléculaire, université des frère Mentouri Constantine.

[40] B.Khiev.B., B. Veber.Patient (2010). BMR + risques de contamination et prévention en pré hospitalier et aux urgences. Service des urgences, CHU Charles-Nicolle.

[41] Vincent. J.( 2000). Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français : bilan en 2000et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN)

[42] O. Meunier et J. Exinger (2016). SARM, ABRI, E.BLSE… ERG et EPC des BMR à l'émergence des BHRe. Laboratoire de Bactériologie F. Kara Référent Antibiothérapie – Service de Médecine Interne Centre Hospitalier de HAGUENAU.

[43] A.Znazen et al. (2004 – 2006). Résistance de streptococcus pneumoniae aux antibiotiques en Tunis : étude multicentrique, Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax. Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'enfant, Tunis. Laboratoire de Microbiologie, CHU Charles Nicolle, Tunis.

[44] Article : L'antibio-résistance , Publié le 24/03/2022 par Santé publique en France . https://www.sante.fr/antibiomalin-pour-savoir-comment-bien-utiliser-les-antibiotiques/lantibioresistance

[45] Rahal, K., Benslimani, A ., Belouni, R .,Bouheraoua, M.,(2008 ):Standardisation de l'antibiogramme 5em édition .p :12-13.

[46] Kahlmeter G., Turnidge J.(2012) Techniques phenotypiques. In: Courvalin P., Leclercq R. Antibiogramme, 3ème édition. Editions Eska.

[47] Jehl F., Chabaud A., Grillon A. (2015). L'antibiogramme: diamètres ou CMI? Journal des Anti-infectieux, 17, 125-139.

[48] https://microbiologie-clinique.com/Bandelettes-CMI-Etest.html

[49] Brahimi L. (2013). Sensibilité aux antibiotique des entérobactéries isolées d′infection urinaire. Thèse de doctorat en pharmacie .Université de Mohammed V –Souissi . Marrakech.

[50] ALLAG H. (2023). Rôle du laboratoire dans la surveillance et suivi du traitement antibiotique. Étude in vitro de la sensibilité aux antibiotiques. 4eme année Pharmacie.

[51] Associations d'antibiotiques ou monothérapie en réanimation chirurgicale et en chirurgie Conférence d'experts 1999 - Texte court. http://www.sfar.org/cexpassomonoab.htm

[52] Berthélémy S. (2016). L′examen cytobactériologie des urines .N°556.Elsevier Masson SAS.

[53] Traig D ., Touati Y. (2017) .Etude Bactériologique des infection urinaire chez l'enfant et le nourisson au laboratoire de microbiologie CHU –Tlemcen .Université Abou Beker Belkaid ,Tlemcen.

[54] Frédéric et al. (2008). Les difficultés d′interprétation de l'examen cytobactériologique des urines. Elsevier Masson SAS .N° 406

[55] Brahimi L. (2013). Sensibilité aux antibiotique des entérobactéries isolées d′infection urinaire. Thèse de doctorat en pharmacie .Université de Mohammed V –Souissi . Marrakech.

[56] Rahal K.(2018) Standardisation de l'antibiogramme en Médecine Humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 8ème édition.

[57] Bassole I. (2012). Profile bactériologique des suppurations post opératoire dans les services de chirugie digestive et traumatologique. Thèse de doctorat en pharmacie .Université d'Ougadougou .Bourkinafaso .

[58] Sédallian A. (1988). Les méthodes de transport des prélèvements pathologiques pour la mise en évidence des anaérobies. Rev. Fr. Lab.

[59] Bourdon TL. et Marchal N. (1973). Techniques Bactériologiques. Dion.

[60] http://ephytia.inra.fr/fr/C/23587/Veg-Di-g-Galeries-API

[61] Djebbari N., Boudjadi Z. et bensuilah M.(2009). L'infestation de l'anguille Anguilla par le parasite + Anguillicolacrassus Kuwahara, Niimi et I tagaki, dans le complexe de Zone humide d'EL Kala(Nord-Est algérien). Université Badji Mokhtar Annaba, Faculté des sciences, Laboratoire d'écologie des milieux marines et littoraux. Annaba.

[62] Joffin J J-N et Leyrol G. (2001). Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques.IIIème éditions. CRDP d'Aquitaine.

[63] http://stl.bgb.liberte.free.fr/microbio_fiches/catalase1.pdf, consulté le [10/04/2024 à 19:48].

[64] http://stl.bgb.liberte.free.fr/microbio_fiches/oxydase1.pdf, consulté le [10/04/2024 à 20 :10].

[65] KIT AU LATEX POUR STAPH PROLEX™ Pour l'identification de Staphylococcus aureus (Réservé à l'usage diagnostic in vitro)

[66] Rahal K.(2005) Standardisation de l'antibiogramme en Médecine Humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 4ème édition.

[67] L.Saad, I.Kooli, Y.Kadri, M.Abdejlil, W.Marrakchi, A. Aouam, et al.(2020). Les bactéries multirésistantes (BMR) chez le diabétique : étude épidémio-clinique. Ann Endocrinol. 81(4): 456

[68] M.Moutachakkir (2015). La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique au CHU de Marrakech Antibiotic resistance of uropathogenic enterobacteriaceae in pediatric wards at the University Hospital of Marrakech.

[69] Lepeule R, Leflon-Guibout V, Vanjak D, Zahar JR, Lafaurie M, Besson C, Lefort A.(2010). Clinical spectrum of urine cultures positive for ESBL-producing Escherichia coli in hospitalized patients and impact on antibiotic use. Médecine et maladies infectieuses. 44(11–12): 530-534. doi :0.1016/j.medmal.2014.09.004

[70] Saïdani M.,Boutiba,I., Ghozzi,R., Kammoun,A.,Ben Redjeb,S. (2005). Profil bactériologique des bactériémies à germes multirésistants à l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis. Médecine et maladies infectieuses. 36 (2006) 163–166.

[71] Sevillano , E., valderrey, C., & Canduela, M. (2006). Resistance to antibiotics in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Pathologie Biologie. 54(8-9):493-7. doi: 10.1016/j.patbio.2006.07.030.

[72] Starteva , T., Ouzouna-Raykova , V., Morkova , B., Todorova , A., et Mateva-Proevska , Y. (2010). Problematic Clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa from the university hospitals in Sofia Current Status of antimicrobial résistance and prevailing resistance mechanisms. Journal of medical Microbiology. 56(7):956-963. doi: 10.1099/jmm.0.46986-0.

[73] Adams M. D, Nickel G. C., Bajaksouzian S., (2009) Resistance to colistin in Acinetobacter baumannii associated with mutations in the PmrAB two component system. Antimicrob Agents Chemother, 53(9):3628-34. doi: 10.1128/AAC.00284-09

# Annexes

**Tableau A** de lecture de la galerie miniaturisée Api 20 E

**TABLEAU DE LECTURE**

| TESTS | COMPOSANTS ACTIFS | QTE (mg/cup.) | REACTIONS/ENZYMES | RESULTATS | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | NEGATIF | POSITIF |
| ONPG | 2-nitrophényl-ßD-galactopyranoside | 0,223 | ß-galactosidase (Ortho-NitroPhényl-ßD-Galactopyranosidase) | incolore | jaune (1) |
| GLU | D-glucose | 1,9 | fermentation / oxydation (GLUcose) (3) | bleu / bleu-vert | jaune / jaune-gris |
| ARA | L-arabinose | 1,9 | fermentation / oxydation (ARAbinose) (3) | bleu / bleu-vert | jaune |
| LDC | L-lysine | 1,9 | Lysine DéCarboxylase | jaune | rouge / orangé |
| ODC | L-ornithine | 1,9 | Ornithine DéCarboxylase | jaune | rouge / orangé |
| CIT | trisodium citrate | 0,756 | utilisation du CITrate | vert pâle / jaune | bleu-vert / bleu (2) |
| $H_2S$ | sodium thiosulfate | 0,075 | production d'$H_2S$ | incolore / grisâtre | dépot noir / fin liseré |
| URE | urée | 0,76 | UREase | jaune | rouge / orangé |
| TDA | L-tryptophane | 0,38 | Tryptophane DésAminase | TDA / immédiat jaune | TDA / immédiat marron-rougeâtre |
| IND | L-tryptophane | 0,19 | production d'INDole | JAMES / immédiat incolore vert pâle / jaune | JAMES / immédiat rose |
| OX | (voir notice du test oxydase) | - | cytochrome-OXydase | (voir notice du test oxydase) | |
| $NO_2$ | (tube GLU) | - | production de $NO_2$ | NIT 1 + NIT 2 / 2-5 min jaune | NIT 1 + NIT 2 / 2-5 min rouge |

(1) Une très légère couleur jaune est également positive.
(2) Lecture dans le cupule (zone aérobie).
(3) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.

**Tableau B** Liste des antibiotiques testés pour chaque espéce bactérienne.

| Entérobactéries | Pseudemonas spp | Acinetobacter spp | Staphylococcus | Enterococcus spp |
|---|---|---|---|---|
| Ampicilline 10µg Amp | Ticracilline (75µg) TIC - TI | Ticracilline (75 µg) TIC | Pénicilline (10 µg) P | Ampicilline (10 µg) APM |
| AM+Ac.clavolanique 20/10**µg** AMC | Trc+Ac.calvulanique (75/10 µg) TTC | Trc+A Ac.calvulanique (75/10 µg) TCC | Oxacilline (1 µg) OX | Gentamycine (120mg) GNH |
| Céfalotine (30**µg)** CF | Pipéracilline (100 µg) PIP | Pipéracilline (100 µg) PIP | Céfoxitine (30 µg) FOX | Streptomycine (300 µg) STREP |
| Céfazolline (30 µg) CZ | Céflazidime (30 µg) CAZ | Céflazidime (30 µg) CAZ | Amikacine (30 µg) AN-AK | Erthromycine (15 µg) E |
| Céfoxitine (30 µg) FOX | Aztréonam (30 µg) ATM | Aztréonam (30 µg) ATM | Gentamicine (10 µg) GN | Furanes (300 µg) FT |
| Céfotaxime (30 µg) CTX | IPM (10 µg) IPM | IPM (10 µg) IPM | Kanamycine (30 µg) K | Tétracycline (30 µg) TE |
| IPM/Méropéneime IPM | Amikacine (30 µg) AN-AK | Amikacine (30 µg) AN-AK | Erythromycine (15 µg) E | Vancomycine (30 µg) VA |
| Amikacine (30 µg) AN-AK | Gentamycine (10 µg) GN | Gentamicine (10 µg) GN | Clindamycine (20 µg) CM-L | Teicoplanine (30 µg) TEI |
| Gentamycine (10 µg) GN | Tobramycine (10 µg) TOM | Tobramycine (10 µg) TOM | Pristinamycine (15 µg) PRI-RP | Lévofloxacine (5 µg) LVX-LE |
| Ciprofloxacine (5 µg) CIP | Netilmicine (30 µg) NET | Netilmicine (30 µg) NET | Ofloxacine (5 µg) OFX | Rifampicine (5 µg) RIF-RA |
| Colistine (10 µg) CS-CT | Ciprofloxacine (5 µg) CIP | Ciprofloxacine (5 µg) CIP | Chloramphénicol (30 µg) C-CHL | Fosfomycine (200 µg) FOS-FF |
| Chloramphénicol (30 µg) C | Lévofloxacine (5 µg) LVX-LE | Doxycycline (30 µg) DO | Vancomycine VA | Quinupristine-dalfopristine (15 µg) QPR-RP |
| SXT(1.25/23.75 µg) COT | Fosfomycine (50 µg) FOS-FF | SXT-COT | Teicoplanine (30 µg) TRI | Chloramphénicol (30 µg) CHL |
| Fosfomycine (200 µg) FF | Colistine (10 µg) CS | Colistine CMI | Rifampicine (5 µg) RIF-RA | |
| Furane FT | | Rifampicine (30 µg) RIF | SXT-COT | |
| | | | Tetracycline (30 µg) TE | |
| | | | Acide fusidique (10 µg) FA | |
| | | | Fosfomycine (50 µg) FOS | |
| | | | Lévofloxacine (5 µg) LVX-LE | |

**Tableau de lecture C** Valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour entérobactéries

| Antibiotiques testes | Charge des disques (µg) | Diamètres critique (mm) | | | CMI critique (µg/ml) | | | commentaires |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | R | I | S | R | I | S | |
| ampicilline | 10 | ≤ 13 | 14-16 | ≥17 | ≥32 | 16 | ≤ 8 | La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline |
| Amoxicilline + Ac clavulanique | 20/10 | ≤ 13 | 14-17 | ≥18 | ≥32/16 | 16/8 | ≤ 8/4 | Les breakpoints des céphasporines et de l'Aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques ainsi, l'application des ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : Céfazolline (2g toutes les 8h) Cefoxilline (2gtoutes les 6h).Céfotaxime (1g toutes 8h) suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire.la réponse R,I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés. A souligner cependant que la délection phénotyque de la BLSE garde tout son intérêt des les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière |
| Céfazolline | 30 | ≤ 19 | 20-22 | ≥23 | ≥8 | 4 | ≤ 2 | |
| Cefoxilline | 30 | ≤ 14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | 15 | ≤ 8 | |
| Céfotaxime | 30 | ≤ 22 | 23-25 | ≥26 | 4 | 2 | ≤ 1 | |
| Céfazolline (infections non-compliquées du tractus urinaire) | 30 | ≤ 14 | ……. | ≥15 | ≥32 | …. | ≤ 16 | Les résultats de la Céfazolline permettent de prédire les résultats pour les céphalosporines orales : céfaclor, céfdinir, céfpodoxime, céfprozil,céfuroxime axétil, céfalexine et loracarbef quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire dues à E. coli ;k pneumoniae et p. mirabilis céfpodoxime, Céfdinir et céfuroxime axétil peuvent être sensibles à ces antibiotiques alors qu'elles sont résistantes à la Céfazolline. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivants ; 1g toute les 12h |
| Aztréonam | 30 | ≤ 17 | 18-20 | ≥21 | ≥16 | 8 | ≤ 4 | Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie 1g toutes les 8h |
| Imipenème | 10 | ≤ 19 | 20-22 | ≥23 | ≥4 | 2 | ≤ 1 | Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques, l'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : impénème : 500mg toutes les 6h ou 1g toutes les 8h, ertapènème : 1g toutes les 24h. La détection phénotypique d'une carbapénèmes par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques |
| méropenème | 10 | ≤ 19 | 20-22 | ≥23 | ≥4 | 2 | ≤ 1 | |
| Ertapènème | 10 | ≤ 18 | 19-21 | ≥22 | ≥2 | 1 | ≤ 0.5 | |
| Amikacine | 30 | ≤ 14 | 15-16 | ≥17 | ≥64 | 32 | ≤ 16 | |
| Gentamicine | 10 | ≤ 12 | 13-14 | ≥15 | ≥16 | 8 | ≤ 4 | |
| Acide nalidixique | 30 | ≤ 13 | 14-18 | ≥19 | ≥32 | … | ≤ 16 | La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'acide nalidixique à l'antibiogramme Valable pour les entérobactéries autres que salmonella Typhi et salmonella spp |
| Ciprofloxacine | 5 | ≤ 21 | 22-25 | ≥26 | ≥1 | 0.5 | ≤ 0.25 | |
| Ciprofloxacine Salmonella spp | 5 | ≤ 20 | 21-30 | ≥31 | ≥0.06 | 0.12-0.5 | ≤ 1 | |
| Chloramphénicol | 30 | ≤ 12 | 13-17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤ 8 | Ne pas reporter en routine pour les souches isolées d'ITU sauf pour les salmonelles. valable pour S.Typhi et salmonella spp. Extra intestinales |
| Colistine | CMI | …… | …… | ….. | ≥2** | …. | ≤ 2** | La détermination de la CMI par microdillution en milieu liquide, CBDE (technique d'élution des disques) et CAT (dilution en milieu gélosé) sont acceptables (voir tests complémentaires). Le disque et le E-test ne doivent pas être utilisés*, pour l'usage thérapeutique des Polymixines se référer à l'international consensus guidelines*** |
| Furanes | 300 | ≤ 14 | 15-16 | ≥17 | ≥128 | 64 | ≤32 | |
| Fosfomycine | 200 | ≤ 12 | 13-15 | ≥16 | ≥256 | 128 | ≤ 64 | Indiqué uniquement pour les souches d'E. coli isolées d'infections urinaires. Le disque de 200 µg contient 50 µg de glucose-6-phosphate. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25 µg/ml de glucose 6-phosphate |
| Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole | 1.25/23.75 | ≤ 10 | 11-15 | ≥16 | ≥4/76 | …. | ≤ 2/38 | |

**Tableau de lecture D :** Valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour staphylocoque aureus

| Antibiotiques testes | Charge des disques (µg) | Diamètres critique (mm) | | | CMI critique (µg/ml) | | | Commentaires |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | R | I | S | R | I | S | |
| Pénicilline | 10 UI | ≤ 28 | ..... | ≥29 | ≥0.25 | ..... | ≤ 0.12 | Le test de la B-lactamase confirme les cas douteux.Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les B-lactamases (ampicilline. |
| Oxacilline (s,aureus et s,lugdunensis ) | ..... | ..... | ..... | ..... | ≥32/16 | ..... | ≤ 2 | Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfoxitine 30 ug pour détecter la résistanceà la méticilline de S.aureus et des staphylocoques à coagulase négative. Pour les staphylocoques (autre que S.lugdunensis, S.epidermidis, S. pseudintermedlus et S.sch/eiferi) les isolats dont la CMi à l'oxacilline est comprise entre 0.5et 2pg/ml peuvent êtreMecA négatif.Pour les infeions sévères, ces souches peuvent être testées pour le MecA ou êtreMecA négatif.Pour les infelons sévéres, ces souches peuvent être testées pour le MecA ou laPLP2a, si le résultat est négatif elles peuvent etre reportées sensibles à l'oxacilline. |
| Oxacilline (s,aureus et s,lugdunensis ) | 30 | ≤ 21 | ..... | ≥22 | ≥8 | ..... | ≤ 4 | |
| Oxacilline(S.C.N.SAUF s,lugdunensis ) | ..... | ..... | ..... | ..... | ≥0.5 | ..... | ≤ 0.25 | |
| Céfoxitine (S.C.N. SAUF s,lugdunensis.s,pseudimintermeduis et s , schlefeifer ) | 30 | ≤ 24 | ..... | ≥25 | ..... | ..... | ..... | |
| Gentamicine | 10 | ≤ 12 | 13-14 | ≥15 | ≥16 | 8 | ≤ 4 | |
| Amikacine(s) | 30 | ≤ 16 | ..... | ≥18 | ≥16 | .... | ≤ 8 | Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine. La détermination de la résistance à l'amikacine est mieux détectée avec la kanamycine (30 pg): R 18 mm pour Saureus, R 22 mm pour les SCN |
| Amikacine (s.c.n) | 30 | ≤ 19 | ..... | ≥22 | ≥16 | ..... | ≤ 8 | Détecter la résistance inductible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque declindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre Résistance à l'èrythromycine el àla clindamycine » |
| Erythromycine<br>Clindamycine | 15<br>2 | ≤ 13<br>≤14 | 14-22<br>15-20 | ≥23<br>21 | ≥8<br>4 | 1-4<br>1-2 | ≤ 0.5<br>0.5 | Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vanco S et I» deStaphyiococcus aureus, ni de différencier les souches vanco S>, 1 et R de S.C.N., car lesdiamétres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de la vancomycine est obligatoire. |
| Vancomycine | CMI | ..... | ..... | ..... | ≥16 | 4-8 | ≤ 2 | |
| Vancomycine | CMI | ..... | ..... | ..... | ≥32 | 8-16 | ≤ 4 | |
| Teicoplanine | CMI | ..... | ..... | ..... | ≥32 | 16 | ≤ 8 | |
| Ofloxacine | 5 | ≤ 14 | 15-17 | ≥18 | ≥4 | 2 | ≤ 1 | |
| ciprofloxacine | 5 | ≤ 15 | 16-20 | ≥21 | ≥4 | 2 | ≤ 1 | |
| Lévofloxacine | 5 | ≤ 15 | 16-18 | ≥19 | ≥4 | 2 | ≤ 1 | |
| Triméthoprime-sulfaméthoxazole | 1.25/23.75 UG | ≤ 10 | 11-15 | ≥16 | ≥4/76 | ..... | ≤ 2/38 | |
| Rifampicine | 5 | ≤ 16 | 17-19 | ≥20 | ≥4 | 2 | ≤ 1 | |
| Tetracycline | 30 | ≤ 14 | 15-18 | ≥19 | ≥16 | 8 | ≤ 4 | Les souches sensibles A la tétracycline, sont sensibles à la doxycyciine et à la minocycline, |
| Chloramphénicol | 30 | ≤ 12 | 13-17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤8 | |
| Quinupristine-dalfopristine | 15 | ≤ 15 | 16-18 | ≥19 | ≥4 | 2 | ≤ 1 | A reporter pour les souches de S. aureus méticiilino-sansibles,Interprétation valable pour ja pristinamycine. |
| Acide fusidique | 10 | ≤ 24 | ..... | ≥24 | ≥1 | .... | ≤ 1 | |
| Fosfomycine | 200 UG | ≤ 23 | ..... | ≥23 | ≥32 | | ≤ 32 | La méthode de référence pour la détermination de la CMi est la dilution en milieugólosé en prósonce de glucose-6phosphate (25 mg/l |

**Tableau de lecture E :** valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Pseudomonas aeruginosa

| Antibiotique testés | Charge des disques (µg) | Diamètre critique (mm) | | | CMI critique (µg/ml) | | | Commentaires |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | R | I | S | R | I | S | |
| Ticarcilline | 75 | ≤15 | 16-23 | ≥24 | ≥128 | 32-64 | ≤16 | Les valeurs critique pour la Pipéracilline (avec ou sans tazobactam) et la Ticarcilline (avec ou sans ac clavulanique), sont basées sur une posologie d'au moins 3g toutes les 6h<br>Délecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque deCAZ et le disque d'ATM<br>L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies p.ecises.<br>Céflazidime et Aztréonam : 1g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h |
| Ticarcilline+ ac. Clavulanique | 75/10 | ≤15 | 16-23 | ≥24 | ≥128/2 | 32/2-64/2 | ≤16/2 | |
| Pipéracilline | 100 | ≤14 | 15-20 | ≥21 | ≥128 | 32-64 | ≤16 | |
| Pipéracilline+tazobactam | 100/10 | ≤14 | 15-20 | ≥21 | ≥128/4 | 32/4-64/4 | ≤16/4 | |
| Céflazidime | 30 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤8 | |
| Aztréonam | 30 | ≤15 | 16-21 | ≥22 | ≥32 | 16 | ≤8 | |
| Impénème | 10 | ≤15 | 16-18 | ≥19 | ≥8 | 4 | ≤2 | En cas des diamètres Rou I, faire une délection de carbapénèmases<br>Valeurs critique basées sur une posologie de 1g toutes les 8h ou 500mg toutes les 6h |
| Meropénème | 10 | ≤15 | 16-18 | ≥19 | ≥8 | 4 | ≤2 | |
| Amikacine | 30 | ≤14 | 15-16 | ≥17 | ≥64 | 32 | ≤16 | |
| Gentamicine | 10 | ≤12 | 13-14 | ≥15 | ≥16 | 8 | ≤4 | |
| Nétilmicine | 30 | ≤12 | 13-14 | ≥15 | ≥32 | 16 | ≤8 | |
| Tobramycine | 10 | ≤12 | 13-14 | ≥15 | ≥16 | 8 | ≤4 | |
| Ciprofloxacine | 5 | ≤18 | 19-24 | ≥25 | ≥2 | 1 | ≤0.5 | |
| Lévofloxacine | 5 | ≤14 | 15-21 | ≥22 | ≥4 | 2 | ≤1 | |
| Fosfomycine | … | …. | ….. | …. | …. | ….. | ….. | Des observations cliniques suggèrent que les infections dues à des souches pour lesquelles la CMI de la fosfomycine est ≤128mg/L(ECOFF) pourraient être traitées avec de la fosfomycine |
| Colistine | CMI | …. | ….. | …. | ≥4**** | ….. | ≤2*** | La détermination de la CMI par microdillution en milieu liquide, CBDE (technique d'élution des disques) et CAT (dilution en milieu gélosé) sont acceptables (voir tests complémentaires)<br>Le disque et l'E-test ne doivent pas être utilisés<br>Pour l'usage thérapeutique des Polymixines se referer à l'international consensus guidelines **** |

**Tableau de lecture F :** valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Acinetobacter spp.

| Antibiotiques testes | Charges des disques (µg) | Diamètres critique (mm) | | | CMI critique (µg/ml) | | | Commentaire |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | R | I | S | R | I | S | |
| Ticarcilline | 75 | ≤14 | 15-19 | ≥20 | ≥128 | 32-64 | ≤16 | Le disque de TCC doit être placé à coté du disque de CAZ.une synergie entre les 2 disques indique la présence d'une BLSE. Les critères D'interprétation pour l'impénème sont basés sur la posologie de 500mg toutes les 6h |
| Ticarcilline+ ac. Clavulanique | 75/10 | ≤14 | 15-19 | ≥20 | ≥128/2 | 32/2-64/2 | ≤16/2 | |
| Pipéracilline | 100 | ≤17 | 18-20 | ≥21 | ≥128 | 32-64 | ≤16 | |
| Pipéracilline+tazobactam | 100/10 | ≤17 | 18-20 | ≥21 | ≥128/4 | 32/4-64/4 | ≤16/4 | |
| Céflazidime | 30 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤8 | |
| Imipenème | 10 | ≤18 | 19-21 | ≥22 | ≥8 | 4 | ≤2 | |
| Méropenème | 10 | ≤14 | 15-17 | ≥18 | ≥8 | 4 | ≤2 | |
| Amikacine | 30 | ≤14 | 15-16 | ≥17 | ≥64 | 32 | ≤16 | |
| Gentamicine | 10 | ≤12 | 13-14 | ≥15 | ≥16 | 8 | ≤4 | |
| Tobramycine | 10 | ≤12 | 13-14 | ≥15 | ≥16 | 8 | ≤4 | |
| Nétilmicine | CMI | … | ….. | …. | ≥32 | 16 | ≤8 | |
| Ciprofloxacine | 5 | ≤15 | 16-20 | ≥21 | ≥4 | 2 | ≤1 | |
| Lévofloxacine | 5 | ≤13 | 14-16 | ≥17 | ≥8 | 4 | ≤2 | |
| Doxycycline | 30 | ≤9 | 10-12 | ≥13 | ≥16 | 8 | ≤4 | Si résistance à Doxycycline, réponse valable pour tétracycline |
| Triméthoprime+sulfaméthoxazole | 1.25/23.75 | ≤10 | 11-15 | ≥16 | ≥4/76 | ….. | ≤2/38 | |
| colistine | CMI | … | …. | …. | ≥4**** | …… | ≤2**** | La détermination de la CMI par microdillution en milieu liquide est la seule méthode approuvée. Le CBDE (technique d'élution des disques), le CAT (dilution en milieu gélosé), le disque et le E-test ne doivent pas être utilises*.pour l'usage thérapeutique des Polymixines se referer à l'international consensus guidelines |