

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de La Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/ Option : Santé, Eau, Environnement : Microbiologie de l'environnement

Département : Ecologie et génie de l'environnement

Thème :

La résistance des bactéries aux Antibiotiques dans l'hôpital de OuedZenati

Présenté par :

BRAHMIA Rima

MEDAREG NAROU Sarra

TOLBA Ilham

Devant le jury composé de :

Président :	ROUIBI Abdelhakim	M.C.B	Université de Guelma
Examineur :	AISSAOUI Riad	M.C.B	Université de Guelma
Encadreurs :	HOUHAMDI Moussa	Professeur	Université de Guelma
	ROUAIGUIA Meriem	Docteur	Université de Guelma

Juin 2016



Remerciement

En préambule à ce mémoire, nous veu^x exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude, avant tout à ALLAH qui nous avons donnés le courage, l'aide, la patience et la force pour mener à bout ce modeste travail et durant ces longues années d'étude.

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude à Monsieur **ROUIBI Abdelhakim**, Maître de conférences B, d'avoir bien accepté de présider ce jury. Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour vos précieux conseils et remarques.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude à Monsieur **AISSAOUI Riad**, Maître de conférences B pour avoir exprimé son entière disponibilité à participer à ce jury et examiner ce mémoire.*

*Nos sincères remerciements et nos respects vont à notre encadreur le professeur **HOUHAMDI Moussa**, pour nous avoir faits l'honneur d'accepter de diriger ce travail, votre modestie, vos qualités scientifiques et pédagogiques, votre rigueur et votre dynamisme font de vous un maître tant apprécié. Cher maître, permettons-nous de vous renouveler l'expression de nous vive reconnaissance et de notre profond respect.*

*A notre maître et codirecteur de mémoire M^{elle} **ROUAIGUIA Meriem**. Avec gentillesse, patience, compétence et une grande disponibilité, vous avez guidé ce travail. Vos qualités d'endurance et de rigueur font de vous un maître à admirer et à suivre l'exemple. Veuillez trouver ici l'expression de nous vive reconnaissance.*



Nos reconnaissances, nos vives gratitudes et nos sincères remerciements vont aussi aux personnels de l'hôpital Elamir Abdelkader de Oued Zenati Guelma : Mr Djaloul A, M^{me} Maatlia CH qui nous a aidés pendant la période de la collecte des souches bactériennes.

Nos reconnaissances, nos vives gratitudes et nos sincères remerciements vont aussi aux personnels de la DSP de Guelma : Mr. Géradi A, M^{elle} Handaoui A qui nous a aidés pendant la période de la manipulation.

Nos remerciements vont également à tous les professeurs et les enseignants qui nous beaucoup encouragé et soutenu depuis le début de nos premier cycle d'étude jusqu'à la fin de cinquième année universitaire.

Enfin, nous exprimons mes vives et profondes reconnaissances à tous ceux qui de près ou de loin se sont associés pour l'élaboration de ce modeste travail.



Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale 01

Première partie : Etude bibliographique

**Chapitre I : Les infections nosocomiales et caractères de certaines bactéries
d'importance clinique..... 03**

1. Généralité sur les infections nosocomiales 03

1.1. Définition 03

1.2. Classification..... 04

1.3. Transmission..... 04

1.3.1. Modes de transmission 05

1.3.1.1. Auto-infection..... 05

1.3.1.2. Hétéro-infection..... 05

1.3.1.3. Xéno-infection..... 05

1.3.1.4. Exo-infection..... 05

1.4. Les facteurs favorisant les infections nosocomiales 06

1.4.1 Facteurs liés à l'état du patient..... 06

1.4.2. Facteurs liés à un processus aigu..... 06

1.4.3. Facteurs liés à une intervention invasive 06

1.4.4. Facteurs liés au traitement 06

1.6. Causes des infections nosocomiales..... 06

1.7. Symptômes..... 06

1.8. Traitement possible..... 07

1.9. Prévention 07

2. Caractères généraux de Certaines bactéries d'importance clinique.....	09
2.1. Les bailles Gram négatifs.....	09
2.1.1. Les Entérobactéries.....	09
2.1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
2.1.2.1. Pouvoir pathogène	11
2.1.2.2. Facteurs de virulence.....	12
2.1.2.3. Traitement	14
2.1.2.4. Prophylaxie	15
2.2. Les Cocci Gram positifs.....	15
2.2.1. Les Staphylocoques.....	15
2.2.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.2.2. Les Streptocoques.....	16
Chapitre II. La résistance des bactéries aux antibiotiques.....	18
1. Généralité sur les antibiotiques.....	18
1.1. Historique.....	18
1.2. Définition.....	18
1.3. Classification des Antibiotiques.....	19
1.4. Mode d'action des antibiotiques.....	19
1.4.1. Sur la paroi bactérienne	20
1.4.2. Sur la membrane plasmique.....	21
1.4.3. Sur la synthèse des protéines.....	21
1.4.4. Sur les acides nucléiques.....	21
2. Résistance aux antibiotiques.....	22
2.1. Définition.....	22

2.2. Modes de résistance des antibiotiques.....	22
2.2.1. Résistance naturelle.....	22
2.2.2. Résistance acquise.....	22
2.3. Mécanisme de résistance	22
2.3.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	22
2.3.2. Modification de la cible.....	22
2.3.3. Imperméabilité membranaire	23
2.3.4. Efflux actif	23
2.4. Résistance d'Entérobactérie aux antibiotiques	23
2.4.1. Résistance aux β lactamine	23
2.4.2. Mécanisme de résistance aux aminosides	24
2.4.3. Mécanisme de résistance aux macrolides et apparentés	24
2.4.4. Mécanisme de résistance au sulfamide et aux trimethoprimé	25
2.4.5. Mécanisme de résistances aux fluoroquinolones.....	26
2.5. Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques.....	26
2.5.1. Mécanisme de résistance aux β - lactamines.....	26
2.5.1.1. Résistance naturelle.....	26
2.5.1.2. Résistance acquise	26
2.5.2. Résistance aux fluoroquinolones	27
2.5.3. Résistance aux aminosides.....	27
2.6. La résistance de Staphylocoque aux antibiotiques.....	28
2.6.1. Résistance à la pénicilline.....	28
2.6.2. Résistance à la méticilline.....	28
2.6.3. Résistance aux aminosides	29
2.6.4. Résistance aux glucopeptides.....	29

2.6.5. Résistance aux Macrolides, Lincosamide, Streptogramine (MLS).....	30
2.6.6. Résistance aux fluoroquinolones	30
2.6.7. Autres résistances.....	31
2.7. La résistance de Streptocoques aux antibiotiques	31
2.7.1. Notion de résistance	31
2.7.1.1. Résistance naturelle.....	32
2.7.1.2. Résistance acquise.....	32
2.7.2. Notion de sensibilité	33

Deuxième partie : Etude expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes.....	34
1. Collecte des bactéries d'intérêt clinique	34
2. Isolement et purification des souches	34
3. Identification des souches purifié	36
3.1. Caractéristiques morphologiques.....	36
3.2. Examen microscopique.....	36
3.2.1. Examen à l'état frais	36
3.2.2. Coloration de Gram	36
3.3. Etude des caractères biochimiques	37
3.3.1. Identification des Entérobactéries	37
3.3.2. Identification des Pseudomonas	39
3.3.3. Identification des Staphylocoques	40
3.3.4. Identification des Streptocoques.....	42
4. Etude de la sensibilité aux Antibiotiques.....	44
4.1. Préparation de l'inoculum	44

4.2. Ensemencement de la gélose de l'antibiogramme	44
4.3. Application des disques d'antibiotiques	44
4.4. Lecture interprétative	45
Chapitre IV: Résultats et discussion.....	46
1. Résultats de vérification de la pureté des souches collectées.....	46
1.1. Résultats d'isolement :.....	46
1.2. Aspect macroscopique des colonies.	46
1.3. Aspect microscopique des colonies	47
1.4. Résultats de l'identification biochimique.....	48
1.4.1. Résultats des tests d'identification des souches Entérobactéries.....	48
1.4.2. Résultats des tests d'identification des souches des Pseudomonas	48
1.4.3. Résultats des tests d'identification de Staphylocoque.....	48
1.4.4. Résultats des tests d'identification des souches des Streptocoques	49
2.1. Résultats de l'antibiogramme	50
2.1.1. Les Entérobactéries	50
2.1.1.1. <i>Klebsiella oxytoca</i>	50
2.1.1.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	51
2.1.2. Pseudomonas	52
2.1.2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52
2.1.3. Les Staphylocoques.....	53
2.1.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	53
2.1.3.1 <i>Staphylococcus lentus</i>	55
2.1.4. Streptocoque	58
2.1.4.1. <i>Lactococcus cremoris</i>	58
Discussion	61

Conclusion et perspectives..... 67

Références bibliographiques

Résumé

Annexes

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Le pourcentage des principaux germes des infections nosocomiales	3
Figure 2	Récapitulatif de la transmission de l'infection	4
Figure 3	Facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
Figure 4	Mode d'action des antibiotiques	20
Figure 5	Le protocole expérimental de l'étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries d'importance clinique	35
Figure 6	La plaque de la galerie API 20 E	38
Figure 7	La plaque de la galerie API 20 NE	39
Figure 8	La plaque de la galerie API 20 Staph	41
Figure 9	La plaque de la galerie API 20 Strep	42
Figure 10	Observation microscopique après coloration de Gram des souches bactériennes étudiées (x 100)	47
Figure 11	Résultat de la recherche des enzymes respiratoires	47
Figure 12	Profil biochimique de la souche <i>Klebsiella oxytoca</i> (K1)	48
Figure 13	Profil biochimique de la souche <i>Klebsiella pneumoniae</i> (K2)	48
Figure 14	Profil biochimique de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P1)	49
Figure 15	Profile biochimique de <i>Staphylococcus aureus</i> (S2)	50
Figure 16	Profile biochimique de <i>Staphylococcus aureus</i> (S4)	50
Figure 17	Profile biochimique de <i>Staphylococcus lentus</i> (S1)	50
Figure 18	Profil biochimique de <i>Staphylococcus aureus</i> (S3)	51
Figure 19	Profil biochimique que de <i>Lactococcus cremoris</i> (L1)	51
Figure 20	Profil biochimique que de <i>Lactococcus cremoris</i> (L2)	52

Figure 21	Profil biochimique que de <i>Lactococcus cremoris</i> (L3)	52
Figure 22	Résultat de l'antibiogramme de la souche de <i>Klebsiella oxytoca</i> (K1)	52
Figure 23	Taux de résistance de <i>Klebsiella oxytoca</i> (K1)	53
Figure 24	Résultat de l'antibiogramme de la souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (K2)	53
Figure 25	Taux de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (K2)	54
Figure 26	Résultat de l'antibiogramme de la souche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P1)	55
Figure 27	Taux de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P1)	55
Figure 28	Résultat de l'antibiogramme de la souche de <i>Staphylococcus aureus</i> (S2)	56
Figure 29	Taux de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> (S2)	56
Figure 30	Résultat de l'antibiogramme de la souche de <i>Staphylococcus aureus</i> (S4)	57
Figure 31	Taux de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> (S4)	57
Figure 32	Résultat de l'antibiogramme de la souche de <i>Staphylococcus lentus</i> (S1)	58
Figure 33	Taux de résistance de <i>Staphylococcus lentus</i> (S1)	58
Figure 34	Résultat de l'antibiogramme de la souche du <i>Staphylococcus lentus</i> (S3)	59
Figure 35	Taux de résistance de <i>Staphylococcus lentus</i> (S3)	59
Figure 36	Résultat de l'antibiogramme de la souche du <i>Lactococcus cremoris</i> (L1)	60
Figure 37	Taux de résistance de <i>Lactococcus cremoris</i> (L1)	60
Figure 38	Résultat de l'antibiogramme de la souche du <i>Lactococcus cremoris</i> (L2)	61
Figure 39	Taux de résistance de <i>Lactococcus cremoris</i> (L2)	61
Figure 40	Résultat de l'antibiogramme de la souche du <i>Lactococcus cremoris</i> (L3)	62
Figure 41	Taux de résistance de <i>Lactococcus cremoris</i> (L3)	62

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Prélèvement des souches bactériennes	34
Tableau 2	Recherche des enzymes respiratoire	37
Tableau 3	Liste des antibiotiques utilisés pour l'évaluation de l'antibiorésistance	45
Tableau 4	Résultat de la culture dans les différents prélèvements	46
Tableau 5	L'aspect macroscopique des colonies isolées	46
Tableau 6	Résultats de l'état frais et la coloration de Gram et les enzymes respiratoires	47
Tableau 7	Résultats de l'identification par l'API20E	48
Tableau 8	Résultats de l'identification par l'API20NE	49
Tableau 9	Résultat du test staphylocoagulase	49
Tableau 10	Résultats de l'identification par l'API20Staph	50
Tableau 11	Résultats de l'identification par l'API20Strep	51
Tableau 12	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Klebsiella oxytoca</i> dans le Paillasse (K1)	52
Tableau 13	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Klebsiella pneumoniae</i> dans le Charriot (K2)	53
Tableau 14	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans le Paillasse (P1)	54
Tableau 15	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Staphylococcus aureus</i> dans le masque de bébé (S2)	56
Tableau 16	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Staphylococcus aureus</i> dans le Lit (S4)	57
Tableau 17	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Staphylococcus lentus</i> dans le Charriot (S1)	58
Tableau 18	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Staphylococcus lentus</i> dans le Matelas (S3)	59
Tableau 19	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Lactococcus cremoris</i> dans le Masque de bébé (L1)	60

Tableau 20	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Lactococcus cremoris</i> dans le Matelas (L2)	61
Tableau 21	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Lactococcus lactus</i> dans le Lit (L3)	62

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ANAES : Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (voir HAS)

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ATP : Adénosine triphosphate

BLSE : Beta-lactamase à spectre élargi

BMR : Bactéries Multi Résistantes

BN : Bouillon Nutritif

CLIN : Comité de lutte contre les infections nosocomiales

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra acétique

ERM : Érythromycine ribosome méthylation

G : Gram

GN : Gélose nutritive

HAS : Haute autorité de santé

HIP: Acide hippurique

Ig: Antigène

IN: Infection nosocomiale

IND: Indol

LPS : Lipo Polysaccharides

MH : Mueller Hinton

MLS : Macrolides, Lincosamides et la Streptogramines de type B

MLSB : Macrolides Lincosamides Streptogramines

NaCl : Chlorure de sodium

NIT : Nitrate réductase

PAL : Phosphatase alcaline

pH : Potentielle Hydrogène

PLP : Protéines liant la pénicilline

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

TDA : Tryptophane désaminase

TRI : TEM Béta lactamas, résistantes aux inhibiteurs

TRP: Tryptophane

VP : Réaction de Vogues Proskauer

INTRODUCTION

Depuis leur découverte au début du vingtième siècle, les antibiotiques ont permis de grandes avancées en thérapeutique et ont contribué à l'essor de la médecine moderne. L'introduction et l'utilisation en clinique des premières classes d'antibiotiques ont considérablement réduit la mortalité imputable à des maladies autrefois incurables **(Guinoiseau, 2010)**.

L'efficacité de l'antibiothérapie dans le contrôle et la limitation de la dissémination des agents pathogènes a ainsi fait naître l'espoir de pouvoir éradiquer l'ensemble des maladies infectieuses. Sans ces médicaments il y aurait beaucoup plus de morts et de nombreuses chirurgies seraient impossibles à effectuer, à cause du risque d'infection postopératoire [01]. Malheureusement, l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques a mis un terme à cette vague d'optimisme **(Guinoiseau, 2010)**.

La montée des résistances est due à la prescription immodérée et souvent inappropriée des antibiotiques. Administrés à titre curatif ou préventif, les antibiotiques favorisent l'élimination des bactéries sensibles et la sélection des plus résistantes. Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est général et concerne toutes les espèces bactériennes **(Guinoiseau, 2010)**.

La cause principale de l'évolution et de l'extension des résistances aux antibiotiques est leur prescription à grande échelle en thérapeutique humaine **(Goossens et al., 2006)**. Ces prescriptions sont souvent mal ciblées, comme dans les cas d'infections virales, ou incorrectement dosées **(Yagupsky, 2006)**. La transmission d'éléments génétiques mobiles, comme les plasmides et les transposons, favorise également l'acquisition des résistances par les bactéries **(Yagupsky, 2006)**.

L'impact de cette multi-résistance aux antibiotiques est important au niveau clinique, en termes de morbidité et de mortalité, mais aussi sur le plan économique car les infections liées aux bactéries multi-résistantes engendrent des coûts d'hospitalisation élevés **(Cosgrove et al., 2005 ; Maragakis et al., 2008)**.

L'extension géographique des résistances se produit au niveau international **(Afset et Maeland, 2001 ; Boras et al., 2001)** mais aussi dans le milieu de vie. Les infections causées par les bactéries résistantes et multi résistantes, autrefois cantonnées au milieu hospitalier, deviennent communautaires (extrahospitalières). Ainsi, le nombre de personnes, susceptibles

d'être exposées aux bactéries résistantes et multi-résistantes, est continuellement démultiplié (Crum, 2005 ; Maltezou et Giamarellou, 2006).

En Algérie comme dans le monde entière, l'infection à *P. aeruginosa* occupent une place importante au sein des infections nosocomial avec une fréquence estimée entre 20 et 30% et possèdent un pronostic sévère ces bactérie causent des problèmes préoccupant dans les Hôpitaux [02]. Aux Etat Unis environ de 5% de population mondiale, l'organisation de sante estime le nombre 23000 des décès des personnes infectées par des microorganismes les germes les plus fréquemment identifiés lors d'une infection nosocomiale [03].

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

La résistance des bactéries aux antibiotiques est un sujet émergent depuis que le découvert de nouveaux antibiotiques, et que les bactéries pathogène résistance aux antibiotiques ne cessent de croitre. Cette situation nous a amené à étudier l'état actuel de ces microorganismes présentant au sein de l'hôpital de Oued Zenati wilaya de Guelma.

Nous avons structurés notre démarche en quatre chapitres interdépendants :

Le premier et le second, strictement théoriques, rassemblent d'une part des généralités sur les infections nosocomiales, les facteurs favorisants et les principaux germes impliquées dans les infections nosocomiales avec la présentation des différents types des antibiotiques et leur action sur les bactéries.

Le troisième chapitre est consacré aux méthodes et aux techniques employées pour la réalisation de ce travail, la recherche et l'identification des bactéries dans le milieu hospitalier.

Le quatrième chapitre analytique traite les différents résultats obtenus au cours de notre étude pratique suivis d'une discussion dans laquelle nous essayerons d'interpréter nos résultats. On termine par une conclusion générale qui fera la synthèse des résultats tirés de l'ensemble des chapitres.

Chapitre II :

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

1. Généralités sur les infections nosocomiales

1.1. Définition

Une infection nosocomiale est une infection contractée dans un établissement de santé. Le terme nosocomial vient du grec *nosos*, maladie et de *komein* soigner, qui forment le mot *nosokomeion*, hôpital (**Brucker, 1998**).

L'infection nosocomiale est donc habituellement définie par sa survenue au delà de quarante huit heures (48h) après l'admission à l'hôpital, ce qui signifie qu'elle n'est ni en incubation ni présente à l'admission, si l'infection survient avant 48 heures, mais est directement en rapport avec une procédure invasive mise en place après l'admission, l'infection est aussi considérée comme nosocomiale. Une infection survenant dans les 48 heures après la sortie de l'hôpital est aussi nosocomiale.

Ce délai est étendu à 30 jours pour les infections du site opératoire après chirurgie et à un an si un matériel prothétique a été mise en place (**Brucker, 1998**).

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

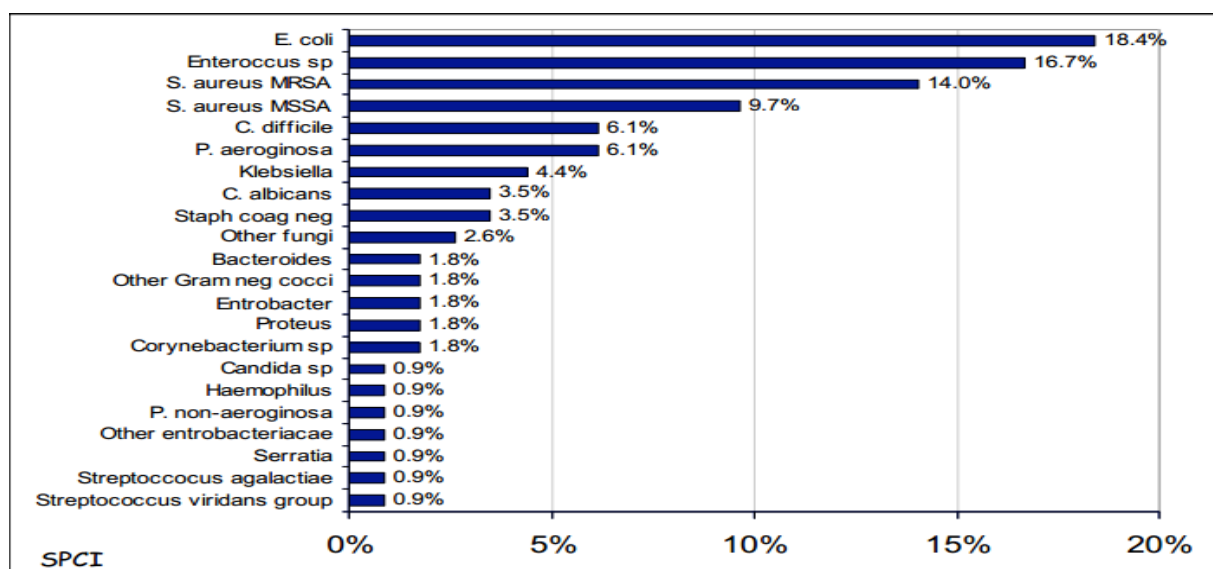


Figure 01 : Pourcentage des principaux germes des infections nosocomiales (Brucker, 1998).

1.2. Classification

Les infections nosocomiales sont nombreuses et variées. Dont la répartition est la suivante :

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

1.3. Transmission

Elle se fait soit de manière directe d'un individu à un autre individu, les mains étant le plus souvent les premiers responsables (c'est le manu portage); soit de manière indirecte autrement dit par un intermédiaire : un objet, un matériel souillé.

Le manu portage est un facteur déterminant dans la transmission de l'infection. On peut donc dire que 60 à 80 % des infections intra hospitalières sont manu portées. D'où l'importance primordiale, comme nous verrons plus loin, du lavage des mains effectué selon une technique correcte. Le reste des infections est essentiellement transmis par l'aérobio contamination, autrement dit par l'air (Giot et al., 2002).

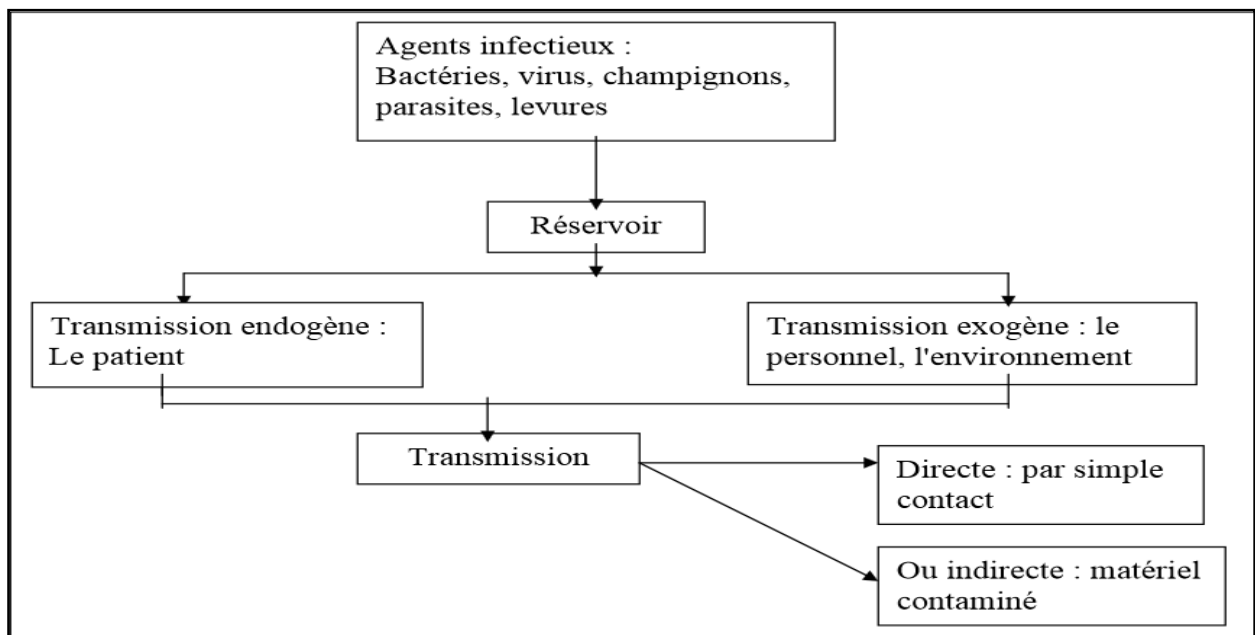


Figure 02 : Récapitulatif de la transmission de l'infection (Giot et al., 2002).

1.3.1. Mode de transmission

1.3.1.1. Auto-infection

Le malade s'infecte avec ses propres germes, les " portes d'entrée " sont les lésions des muqueuses, les lésions cutanées. Les germes seront ceux de la peau, des muqueuses, du tractus digestif, etc.

Ce mécanisme est favorisé par différents facteurs, la dissémination des germes du patient dans son environnement (lit...), par l'utilisation de traitement pouvant altérer l'immuno-compétence (corticoïdes, immunosuppresseurs.....), par l'administration de traitement sélectionnant certaines bactéries (antibiothérapie à spectre étroit ...) [04].

1.3.1.2. Hétéro-infection

Dans ce cas, le germe responsable de l'infection provient d'un autre malade, la transmission étant le plus souvent manu portée, par le personnel soignant intervenant au près de plusieurs patients, disséminant ainsi les germes d'une personne à l'autre. Ces infections sont dites croisées. C'est le mode de contamination le plus fréquemment retrouvé lors d'épidémie.

Cependant certains germes, comme celui de la tuberculose, sont transmis par voie aérienne. Il peut en outre arriver plus rarement que les germes soient transmis par contact direct entre deux patients [04].

1.3.1.3. Xéno-infection

Ce mode de transmission est un peu à part, dans ce cas les agents pathogènes sont transmis par des personnes venants de l'extérieur, et présentant eux- même une pathologie infectieuse déclarée ou en incubation.

Ce mode de transmission n'est cependant pas à négliger, car il peut être dévastateur pour les patients particulièrement fragiles. Ainsi, les professionnels de santé sont de plus encouragés à se faire vacciner contre la grippe [04].

1.3.1.4. Exo-infection

Ce mode de transmission est due soit à un dysfonctionnement technique d'un matériel (filtre à air , autoclave ...) destiné à la protection des patients qui ne remplissent plus son office, les laisser en contact des germes qui ne devraient , en principe pas faire l'objet d'une infection , en vu des mesures prises pour les prévenir (*aspergillose* , *Légionelle* ...); soit à une erreur commise dans des procédures de traitement du matériel médicochirurgical [04].

1.4. Les facteurs favorisant l'infection nosocomiale

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

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

1.4.2. Facteurs liés à un processus aigu : Traumatisme, brûlures.

1.4.3. Facteurs liés à une intervention invasive : Intervention chirurgicale, intubation endotrachéale ou nasale, cathétérisation veineuse centrale, dialyse, drains chirurgicaux, tube nasogastrique, trachéotomie, cathéter urinaire.

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

1.5. Causes des infections nosocomiales

Pour développer une infection nosocomiale, il faut que trois éléments soient réunis : un agent infectieux, un mode de transmission et un sujet réceptif [05].

Il existe des facteurs favorisants dont ; manque d'hygiène éventuellement faute de salles de bain ou douches, le comportement du personnel hospitalier qui parfois sous estime le risque ou le comprend mal, ou encore la mobilité des patients fréquemment transférés d'un établissement ou service à l'autre [05].

1.6. Les symptômes

Les signes d'apparition d'une telle infection sont les symptômes de la maladie infectieuse qui se déclare et varient donc suivant sa localisation dans l'organisme. Nous aborderons ici les infections nosocomiales les plus fréquentes évoquées précédemment. Ainsi, les infections urinaires se traduisent par des douleurs lors de la miction, des envies d'uriner plus rapprochées que d'habitude, parfois du sang dans les urines. Elles sont plus fréquentes après la pose d'une sonde urinaire ou lors d'une chirurgie des voies urinaires [05].

Les pneumonies ont des signes inconstants, principalement une toux, un essoufflement, une fièvre parfois élevée, des frissons, une douleur thoracique. Les personnes à risque sont les patients atteints d'une maladie chronique des voies aériennes, intubés ou sous ventilation mécanique [05].

Les symptômes d'une infection au niveau de la zone opérée sont très variés et dépendent de l'intervention et de l'organe en cause. Pêle-mêle, on peut retrouver des signes d'inflammation, d'écoulements liquidiens ou de pus, d'abcès, une fièvre, des douleurs [05].

Enfin, la septicémie a des symptômes eux aussi peu spécifiques. Elle se traduit par des accès de fièvre élevée alternant avec des périodes d'hypothermie, des frissons, de la sueur, une tachycardie, une fréquence respiratoire élevée [05].

1.7. Le traitement possible

Comme nous l'avons vu, une grande partie des infections nosocomiales sont dues à des bactéries : le traitement de choix est le recours aux antibiotiques, médicaments s'attaquant spécifiquement à un type de bactéries ou à un groupe particulier. Ils agissent en bloquant leur croissance ou en les détruisant. Certaines infections, notamment au niveau d'une zone opérée, peuvent nécessiter une réintervention chirurgicale en vue de drainer et de traiter le foyer infectieux [05].

1.8. La prévention

La prévention des infections est une des missions du Comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) et un des objectifs clairement affichés par agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé l'ANAES dans les critères de l'accréditation des établissements de santé. C'est la réunion des efforts de tous les acteurs de soins qui permettra d'aboutir à un résultat de diminution d'au moins 30% de ces infections [06].

La part d'implication du personnel dévolu à l'hygiène est au premier plan pour faire appliquer la politique d'hygiène décidée et programmée par le CLIN. Cette prévention repose quelle que soit la spécialité médicale ou chirurgicale concernée sur quatre grands types de mesures :

- Mesures d'hygiène de base.
- Mesures d'hygiènes spécifiques en fonction de type d'activité.
- Prévention de la sélection des bactéries multi-résistance (BMR) par une politique rationnelle d'utilisation des antibiotiques, empirique et curative.
- Prévention de la diffusion des bactéries multi résistance le plus souvent impliquées dans les infections.

Les mesures de base sont essentielles, logiques, faciles à réaliser et cependant leur observance sur le terrain est très difficile à obtenir. Parmi elles, deux sont primordiales : le lavage des mains et la tenue vestimentaire du personnel soignant.

Le lavage des mains vient en première position car la très grande majorité des agents infectieux nosocomiaux sont transmis par voie manu portée. Trois types de lavages des mains :

- Chirurgical pour les chirurgiens, antiseptique avant et après tout acte invasif et lors des soins d'un patient infecté et enfin simple dans tous les autres cas.
- L'utilisation d'une désinfection des mains par friction avec une solution hydro alcoolique est aujourd'hui une alternative intéressante.
- Le port des gants est ou non associé au lavage des mains suivant les circonstances mais les gants seront impérativement retiré dès la fin de l'acte.

La tenue vestimentaire du personnel soignant est également très importante : tenue stérile ou non stérile, comportant une blouse, les cheveux courts ou attachés ou revêtus d'une calotte, une sur blouse, un masque dans certains cas. Les ongles doivent être courts et sans vernis [06].

2. Les caractères généraux de certaines bactéries d'importance clinique

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

Ces bactéries sont surtout remarquables dans les infections nosocomiales par ce que sont très souvent résistantes aux antibiotiques, les mécanismes de cette anti-biorésistance sont très nombreux, liés à la pression de sélection qui existe en milieu hospitalier.

2.1. Les bacilles Gram négatifs

2.1.1. Les Entérobactéries

Les Enterobacteriaceae ou Entérobactéries sont une vaste famille de bactéries qui sont rencontrées tous les jours en bactériologie médicale. Sont pour la plupart des bactéries qui colonisent l'intestin, en dehors du tube digestif, elles peuvent être transitoirement présentes sur différentes parties du vêtement cutanéomuqueuse (Nauciel et Masson, 2000).

La famille des Enterobacteriaceae est définie par des caractères bactériologiques et non par des caractères écologiques. Les Enterobacteriaceae sont des bacilles à Gram négatif qui :

- Pousent sur milieux ordinaires en aérobiose et en anaérobiose.
- S'ils sont mobiles, sont péritriche.
- Ont une réaction d'oxydase négative.
- Utilisent le glucose par voie fermentative et réduisent le nitrate en nitrite.
- Ils possèdent au niveau de leur paroi un lipopolysaccharide qui pose sur sa partie polysaccharidique des antigènes appelés O.
- Les flagelles portent des spécificités immunologiques appelées H.
- Certaines espèces possèdent aussi des antigènes capsulaires de nature polysaccharidique (antigène K) (Jean et al., 2002).

Cette définition permet d'exclure de la famille des Enterobacteriaceae d'autres bacilles à Gram négative, par exemple les *Pseudomonas* (Jean et al., 2002).

Certains bactéries de la famille rencontrés en pathologie humaine : *E. coli*, des bactéries des genres *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia*. Les autre bactéries de la famille des Entérobactéries se comportent généralement comme des bactéries opportunistes souvent impliquées dans les infections nosocomiales : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* ; la plupart de ces bactéries produisent des béta lactamases et sont résistantes à des nombreux antibiotiques (Nauciel et Masson, 2000).

2.1.2. Le genre *Klebsiella*

Est un germe très répandu dans la nature (l'eau, le sol, la poussière) est un commensale du tube digestif (l'oropharynx). Il peut être présent sur les mains du personnel et sur les objets de l'environnement hospitalier (Jean et al., 2002).

Les principaux caractères biochimiques : Lact (+), ONPG (+), VP (+), Indol (+/-), Urée (+), *Klebsiella* présente une pouvoir glucidolytique intense, sont attaqués le glucose avec production du gaz, lactose, saccharose et mannitol (Pilet et al., 1987).

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

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

Le portage digestif de *Klebsiella* est plus important chez les malades hospitalisés que dans la population normale, sur les mains du personnel et sur les objets de l'enveniment dans les services hospitaliers. Donc la transmission des *Klebsiella* d'un malade à l'autre est habituellement manuelle (Nauciel et Masson, 2000).

2.1.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est l'espèce type du genre *Pseudomonas* et la famille est Pseudomonadaceae. Elle est connue depuis longtemps sous le nom de bacille pyocyanique ou agent du pus bleu des plaies surinfectées (**Chaker, 2006**), le mot issu du grec pseudo (s'simili ou imitation) et monas (unité) désignait les germes du début de la microbiologie. Le mot *aeruginosa*, qui signifie vert de gris en latin, fait référence au pigment contenu par la bactérie. Qui donne à la colonie sa couleur caractéristique (**Yétérian, 2010**). Cette bactérie est caractérisée par une vitalité et résistance importantes dans l'eau y compris l'eau distillée.

2.1.3.1. Pouvoir pathogène

P. aeruginosa est une espèce classée dans les pathogènes opportunistes. Elle provoque de nombreuses infections parmi ceux-ci :

A. Infections pulmonaire

Patients de réanimation souvent colonisés par *P. aeruginosa* au niveau bronchique, évolution rare mais grave vers une pneumopathie mono ou bilatérale nécrosante et une septicémie avec choc septique (plus de 30% de mortalité) [07].

Patients atteints de mucoviscidose colonisés à plus de 80 % par la bactérie au niveau bronchique, facteur d'inflammation locale et de détérioration de la fonction pulmonaire [07].

B. Septicémies

Elle représente 10 à 20 % des septicémies à bacilles Gram négatif. L'immunosuppression favorise leur survenue et elles sont décrites avec une fréquence élevée au cours du sida. Elles ne présentent pas des caractères cliniques particuliers si ce n'est la présence exceptionnelle de manifestation cutanée, faites de vésicules riches en bacilles, entourées d'un halo violacé, évoluant vers l'ulcération nécrotique, traduisant la dissémination par voie artérielle. La leucopénie et l'hypothermie sont inconstantes.

Le pronostic est grave (mortalité voisine de 50 %) lié à maladie sous jacente, à la localisation primitive, à l'accessibilité ou non du foyer à un geste chirurgical [08].

C. Infections superficielles

- Surinfections de plaies, d'escarres, de brûlures.
- Folliculites et otites externes bénignes après baignade.

- Conjonctivites et kératites chez les porteurs de lentilles.
- Fonte purulente de l'œil après chirurgie (exceptionnelle) [07].

D. Infections diverses

- Infections urinaires chez les personnes porteuses d'une sonde [07].

2.1.3.2. Facteurs de virulence

A. Exotoxine A

La plus toxique des protéines de *Pseudomonas aeruginosa* possède plusieurs effets :

- Diminution de la production d'interleukine 1 avec inhibition de l'immunité à médiation cellulaire (lymphocytes T).
- Inhibition directe de la phagocytose, effet cytotoxique induisant une augmentation de la perméabilité membranaire et libération des enzymes lysosomiaux.

Sa production dépend de la teneur en fer de l'environnement, dont l'excès peut en inhiber la synthèse [08].

B. Exo-enzyme S

Elle joue un grand rôle dans la pathogénicité pulmonaire. Elle possède une action directe cytotoxique et indirecte, par formation d'anticorps et d'immuns complexes. Elle stimule aussi l'immunité, permettant chez le sujet sain, d'aboutir à une élimination par opsonisation [08].

C. Phospholipase C

Composée de deux types d'enzymes, elle est cytotoxique et détruit les lécithines, ce phénomène est particulièrement important au niveau du surfactant pulmonaire, favorisant la survenue d'atélectasies, elle provoque aussi une hémolyse par destruction de la membrane du globule rouge [08].

D. Protéases

Il existe quatre protéases, collagénase, fibrinolysine, élastase et protéase alcaline, les deux dernières étant prédominantes. La protéase alcaline active la phospholipase C et l'élastase. Ces deux enzymes, outre leur effet sur le collagène, compromettent la réponse immunitaire par inhibition du système du complément, des lymphocytes T et par clivage, des IgA et des IgG. L'élastase et la alcaline diminuent la réponse des polynucléaires. Cela se

traduit en clinique par une colonisation plus facile par *Pseudomonas aeruginosa*, une réaction inflammatoire importante et des lésions du tissu pulmonaire [08].

E. Pyoverdine et pyocyanine

Ces pigments, essentiels à la virulence, transportent le fer indispensable à la croissance et la prolifération bactérienne. En même temps, le fer stimule la production par les polynucléaires neutrophiles de radicaux oxygènes qui possèdent une action bactéricide sur les autres espèces bactériennes, favorisant l'émergence de *P. aeruginosa*.

La Pyocyanine, spécifique de *P. aeruginosa*, possède plusieurs propriétés : inhibition de l'interleukine 2 et immunité cellulaire, libération d'élastase, inhibition des antagonistes des protéases et diminution de la clairance bactérienne par action sur le battement ciliaire.

En bloquant la libération de prostacyclines, à partir des cellules endothéliales, elle rend compte de la vascularité observée lors de pneumopathies à *P. aeruginosa*. Les macrolides possèdent in vitro un effet d'inhibition des Exoenzyme [07].

F. Rhamnolipides et leucocidines

Ils interviennent surtout dans la colonisation et l'infection de l'expectoration des malades atteints de mucovixidose. Ces enzymes inactivent le système ciliaire bronchique et augmentent la libération de mucus [08]

G. Adhésine

Il s'agit d'une propriété essentielle dans les différentes étapes conduisant au processus infectieux. On l'observe au cours des infections chroniques (mucoviscidose, dilatation des bronches), quand les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* acquièrent des caractères mucoides.

La bactérie produit un exopolysaccharide, l'alginate, composé d'acides polyuroniques. La biosynthèse de l'alginate ion est soumise à une régulation extrêmement complexe sous la dépendance de l'environnement. Il confère à la bactérie des propriétés d'adhésion au support (cellules bronchiques, cathéter) mais la rend aussi très virulence par la formation de microcolonies, inhibition de la phagocytose, suppression de la réponse immunitaire et résistance aux antibiotiques.

A côté de l'alginate, deux éléments interviennent pour faciliter l'adhésion du bacille : les pili (fimbriae) sont des filaments responsables de l'adhésion des souches non mucoides de *P. aeruginosa* dans le tractus respiratoire, les flagelles, en libérant une protéine de nature encore inconnue, facilitent l'adhésion aux mucines trachéobronchiques. Expérimentalement, le dextran inhibe l'adhésion de la bactérie aux cellules épithéliales [08].

H. Exotoxine

De nature lipopolysaccharidique, elles proviennent de la paroi bactérienne et portent l'antigène O (somatique) au niveau de la partie polysaccharidique. Cet antigène est spécifique permettant le stéréotypage de la bactérie. L'exotoxine est peu toxique, mais elle contribue à la réaction inflammatoire et à la formation d'anticorps permettant d'envisager la fabrication de vaccins [08].

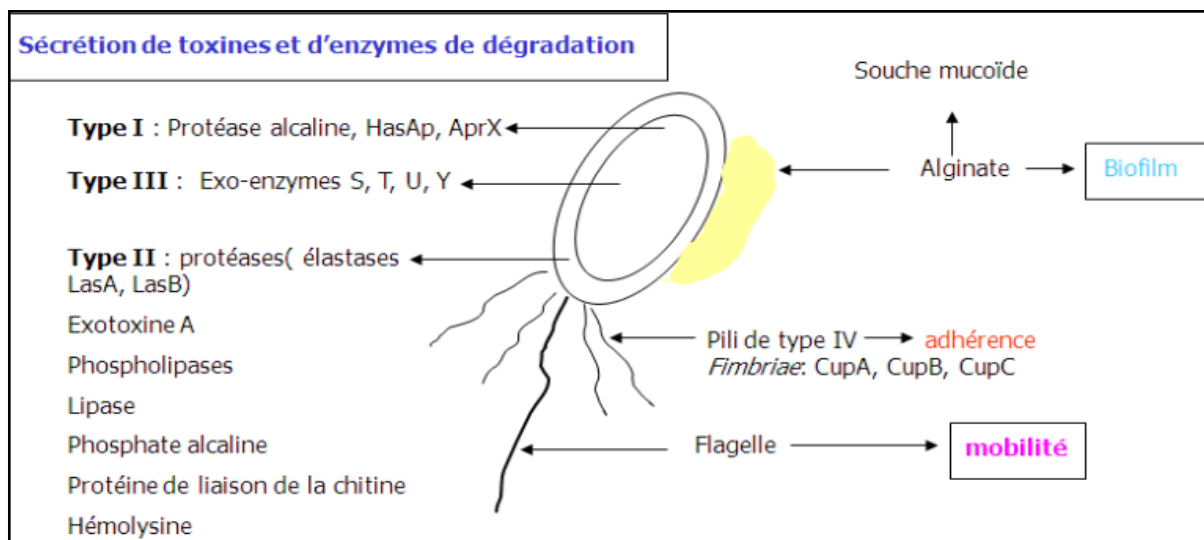


Figure 03: Facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* [08].

2.1.3.3. Traitement

P. aeruginosa est une bactérie robuste, naturellement très résistante aux antibiotiques et s'adaptant rapidement aux attaques médicamenteuses, elle ne sera souvent sensible qu'à quelques antibiotiques : Ticarcilline avec Acide clavulanique, Gentamicine, Ciprofloxacine, Ceftazidime, et Pipéracilline seule ou avec ajout de Tazobactam et Acide borique.

En 2008, les Fluoroquinolones, la Gentamicine ou l'Impénem sont encore efficaces, mais uniquement sur quelques souches bactériennes. Si le patient a récemment reçu plusieurs antibiotiques, la bactérie sera vraisemblablement encore plus résistante et d'autant plus dangereuse.

2.1.3.4. Prophylaxie

A. Collective

- Mesures générales d'hygiène hospitalière (lavage des mains...)
- Désinfection des lieux humides à l'eau de javel (lavabos, douches...)
- Suppression des sources potentielles de contamination (systèmes clos de sondage urinaire, interdiction des pots de fleurs et des vases, des légumes et fruits crus, désinfection des endoscopes...).

B. Individuelle

- Dépistage systématique des patients porteurs de *P. aeruginosa* à l'admission en réanimation.
- Vaccin à l'essai chez les patients atteints de mucoviscidose et non encore colonisés par le bacille pyocyanique.

2.2. Les Cocci Gram positifs

2.2.1. Les Staphylocoques

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des bactéries parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*. Selon la neuvième édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif (**Prescott et al., 2010 ; Rebiahi, 2012 ; Dolarras, 2007**).

2.2.1.1. *Staphylococcus aureus*

C'est un germe ubiquitaire retrouvé dans le sol, l'air et l'eau et un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. On le trouve à l'état normal dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles, au niveau de périnée ou des aisselles (**Giot et al., 2002**).

Des épidémies de caractère nosocomial peuvent survenir, donc *S. aureus* est un agent majeur d'infection nosocomiale (**Giot et al., 2002**). Les manifestations pathologiques dues à *S. aureus* sont très nombreuses. Elles sont suppuratives, nécrotiques ou entériques.

A. Les suppurations localisées : on peut distinguer

- Les infections cutanées : furoncles, abcès, panaris, anthrax.
- Les infections ORL diverses : sinusites, otites, mastoïdites.

- Les infections des séreuses : arthrites, pleurésie, péritonite.
- Les infections osseuses : ostéomyélite, spondylodiscite, infection sur prothèse.
- Les infections viscérales : abcès du poumon, abcès du cerveau.

B. Les septicémies et les endocardites

- L'incidence des endocardites à *S. aureus* s'est accrue avec les prothèses valvulaires intracardiaques, signalons la gravité des endocardites du cœur droit chez les héroïnomanes.
- Les septicémies sont caractérisées par la fréquence des métastases.

C. Les manifestations digestives

Les toxi-infections alimentaires surviennent deux à six heures après l'ingestion d'un aliment contaminé contenant l'entérotoxine Staphylocoque thermostables. Ils sont caractérisés par des vomissements (**Jean et al., 2002**).

D. Le syndrome du choc toxique

Ce syndrome associé une fièvre éruption scarlatiniforme, les hypotensions et des atteintes cérébrales, rénales, hépatiques et musculaires (**Jean et al., 2002**).

2.2.2. Les Streptocoques

La famille des Streptococaceae regroupe les genres : *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*. Rassemblant des cocci Gram (+) souvent disposés en chaînettes. Les caractères biochimiques sont particulièrement intéressants :

- L'absence de catalase : cette particularité permet de différencier *Staphylococcus* de *Streptococcus*.
- L'étude de la croissance en milieu hostile : pour l'identification de certaines espèces à l'intérieur du genre *Streptococcus*.
- La fermentation des glucides : de nombreux sucres fermentés sans production de gaz.
- Les bactéries du genre *Streptococcus*: sont fragiles, sensibles à l'acidité et nécessitent de nombreux facteurs de croissance.
- Les bactéries du genre *Enterococcus*: antérieurement classées comme Streptocoque du groupe D, sont les plus résistantes, ils sont moins sensibles aux antibiotiques.

Les bactéries du genre *Lactococcus*: étaient antérieurement classés comme Streptocoque du groupe N (**Jean et al., 2002**). Ils sont responsables de plusieurs infections humaines entre autres :

- Des infections localisées : des angines, des affections cutanéomuqueuses variées, des adénites, des néphrites, des pleurésies purulentes dues à des Streptocoques des groupes variés.
- Des septicémies au premier rang des quelles figurent les endocardites il faut distinguer à leur propos :
 - Les endocardites aiguës (Streptocoque A, B, C, D).
 - Les endocardites chroniques dues classiquement à des Streptocoques non groupables (Mitis ou Sanguis) ou plus rarement à des Streptocoques des groupes D et H.
- Des maladies particulières à certains Streptocoques A : scarlatine, érysipèle, rhumatisme articulaire aigu, glomérulonéphrite post-angineuse, chorée aiguë de l'enfant (**Pilet et al., 1987**).

Chapitre III :

La résistance des bactéries aux antibiotiques

1. Généralités sur l'antibiotique

1.1. Historique

- Dès 1877, Pasteur et Joubert mettent en évidence la notion d'antagonisme microbien (antibiose) : des cultures de bactéries charbonneuses poussent mal lorsqu'elles sont souillées par certaines bactéries saprophytes.
- En 1889, Vuillemin crée le terme d'antibiose (anti=contre, biose =vie) action exercée par les substances antibiotiques.
- En 1912, Vandenner montra que les extraits obtenus à partir de *Aspergillus fumigatus* avaient une activité anti-staphylococcique.
- En 1928, Fleming découvre la pénicilline.
- Entre 1938-1942, la pénicilline G est purifiée et utilisée en clinique par H. Florey, E. Chain.
- En 1940, le terme d'antibiotique a été proposé par R. Dubos.
- En 1940, Waksman isole l'actinomycète produite par un streptomyces et il découvre la streptomycine active en particulier sur le bacille de Koch.
- A partir de cette date, de nombreux antibiotiques sont découverts : Chloramphénicol, Tétracyclines en 1949, Aminosides en 1950, Macrolides en 1952, Glycopeptides en 1958, Streptogramines en 1962, Triméthoprim en 1970 et Oxazolidinones en 2000 (**Boulaahbal, 2009**).

1.2. Définition

Les antibiotiques sont des molécules à activité antibactérienne. Ils sont soit d'origine biologique (β lactamines, aminosides, macrolides, polypeptides) semi synthétique (sulfamides, quinolones). Ils agissent spécifiquement sur des cibles moléculaires perturbant une étape essentielle du métabolisme des bactéries (synthèses protéiques, synthèse des acides nucléiques, réplication, transcription, transport transmembranaire...) (**Boulaahbal, 2009**).

Qu'ils soit d'origine biologique ou de synthèse chimique, ces agents antimicrobiens doivent posséder les mêmes propriétés, à savoir :

- Avoir une activité antibactérienne.
- Etre actifs en milieu organique puisqu'ils doivent atteindre les microorganismes dans les tissus de l'hôte (sang, poumons, os etc...).
- Etre de toxicité sélective (contre les cellules bactériennes et non les cellules de l'hôte).
- Etre de bonne absorption et de bonne diffusion.

Il existe deux catégories d'antibiotiques, les antibiotiques à effet bactériostatiques qui inhibent la croissance bactérienne en ralentissant puis arrêtant la multiplication et les antibiotiques bactéricides qui lysent les bactéries (**Boulaïbal, 2002**).

La notion de bactériostase est actuellement remise en cause à la suite de diverses expériences ayant démontré qu'en augmentant la dose, un antibiotique bactériostatique peut avoir des effets bactéricides. Mais pour ces antibiotiques, *in vitro*, la dose toxique sont peu éloignée, leur utilisation en médecine humaine ne peut se contenter que de leur effet bactériostatique (**Boulaïbal, 2002**).

1.3. Classification des antibiotiques

1.3.1. Critère de classification

Selon (**Duval et Soussy, 1990 ; Fontaine, 1992**) les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères (Tableau (01) Annexe):

- Leur origine (biosynthétisés par des champignons, des bacilles ou Streptomyces, issus du génie chimique).
- Leur composition chimique (dérivés d'acides aminés, hétérosidiques ou polycyclique).
- Leur effet (Antibiotiques bactéricides, Antibiotiques bactériostatiques).
- Spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).
- Mode d'action.
- Modalité d'action (**Duval et Soussy, 1990 ; Maur, 1990**).

1.4. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques bloquent de manière spécifique les processus métaboliques vitaux des bactéries sensibles et arrêtent ainsi leur développement, le plus souvent seulement temporairement (effet bactériostatique) mais parfois définitivement (effet bactéricide).

Il existe différents types d'antibiotiques capables d'agir sur les bactéries selon différents mécanismes (Fig.04) :

- Antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.
- Antibiotiques qui altèrent la perméabilité de la membrane plasmique.
- Antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique.

- Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs (in Meziani, 2012 ; Mammeri, 2013).

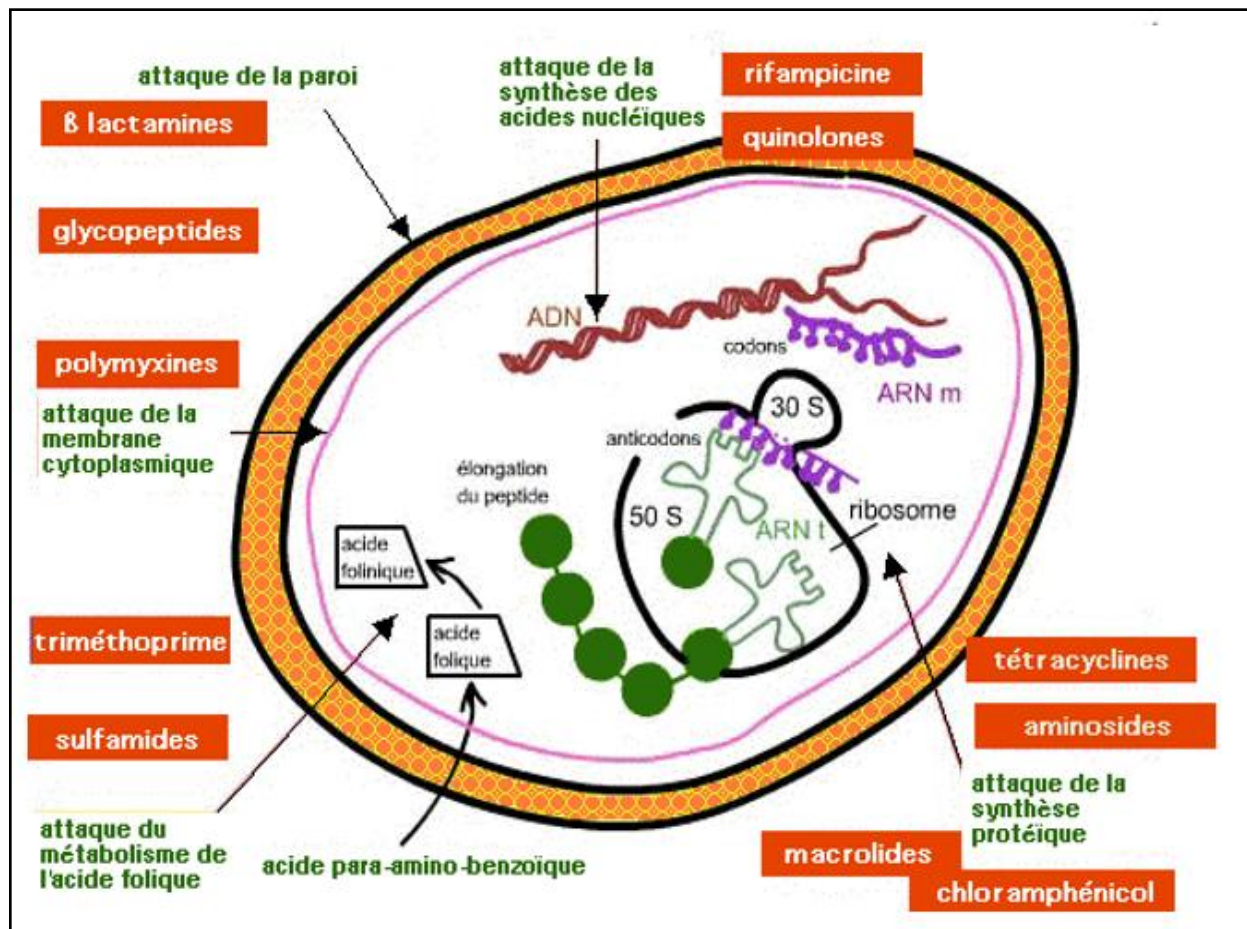


Figure 04 : Mode d'action des antibiotiques (in Meziani, 2012 ; Mammeri, 2013).

1.4.1. Sur la paroi bactérienne

Ces antibiotiques agissent sur des cibles extracellulaires et ne sont actifs que sur les germes en croissance. Les cellules au repos ne sont pas perturbées par l'action de ces molécules. Les antibiotiques bloquent la synthèse de la paroi, la cellule s'allonge sans faire de paroi (cloison) et elle explose sous l'effet de la pression osmotique interne. Si on ajoute un stabilisant osmotique, on obtient un protoplaste [09].

➤ Exemple

- Les β -lactamines, qui inhibent la transpeptidase intervenant dans la synthèse de la paroi.
- Les glycopeptides, qui se lient à un intermédiaire de synthèse du peptidoglycane.
- La fosfomycine inhibe la synthèse de précurseurs de la paroi [10].

1.4.2. Sur la membrane plasmique

L'antibiotique a des propriétés de surfactant qui lui permettent de s'insérer parmi les phospholipides de la membrane externe. Cela perturbe la perméabilité membranaire (augmentation anormale) et permet la diffusion de substances hydrosolubles hors de la bactérie ce qui entraîne sa destruction [11].

➤ Exemple

Les polymyxines ; agissent comme des détergents cationiques : grâce à leur caractère amphipathique, elles pénètrent dans la cellule bactérienne et s'insèrent parmi les phospholipides de la paroi, perturbant la perméabilité membranaire [09].

1.4.3. Sur la synthèse des protéines

De nombreux antibiotiques inhibent la synthèse protéique en se fixant sur le ribosome procaryote. Comme ces agents distinguent les ribosomes procaryotes des ribosomes eucaryotes, leur indice thérapeutique est relativement élevé mais moins favorable que celui des inhibiteurs de la synthèse de la paroi. Certains agents se fixent sur la petite sous unité 30S, alors que d'autres s'attachent à la grande sous-unité 50S du ribosome.

Plusieurs étapes différentes du mécanisme de la synthèse protéique peuvent être affectées, la fixation de l'aminoacyl-ARNt, la formation de la liaison peptidique, la lecture de l'ARNm et la translocation (**Prescott et al., 2010**).

➤ Exemple

- Macrolides, lincosamides, streptogramines, phénicolés, oxazolidinones : inhibent la sous-unité 50S.
- Tétracyclines, aminoglycosides : inhibent la sous-unité 30S [10].

1.4.4. Sur les acides nucléiques

Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques agissent en inhibant l'ADN polymérase, et l'ADN hélicase ou l'ARN polymérase, en bloquant de ce fait respectivement la réplication ou la transcription (**Prescott et al., 2010**).

➤ Exemple

- Ansamycines : Inhibe l'ARN polymérase.
- Quinolones et fluoroquinolones : Inhibent l'ADN Gyrase et de la topoisomérase IV [10].

2. Résistance aux antibiotiques

2.1. Définition

La résistance aux antibiotiques est la capacité d'un microorganisme de résister aux effets des antibiotiques. Elle se développe via sélection naturelle par une mutation aléatoire ou échange des gènes de résistance (transfère horizontal) entre les bactéries. Si une bactérie est porteuse de plusieurs gènes de résistance pour différent antibiotique, elle est appelée multirésistante [09].

2.2. Mode de résistance des antibiotiques

La résistance aux antibiotiques peut se manifester de deux manières distinctes : résistance naturelle et acquise.

2.2.1. Résistance naturelle

On parle de la résistance naturelle lorsque toutes les souches de la même espèce sont résistance à un antibiotique donné (**in Meziani, 2012**).

2.2.2. Résistance acquise

La résistance acquise survient lorsque quelque souche d'une même espèce normalement sensible devient résistante. Cette résistance peut être acquise par métagenèse : c'est une résistance chromosomique [09].

Les bactéries ont la capacité de transférer l'information génétique, la plupart de ces cas de résistance se rencontre à l'hôpital. C'est une information génétique exogène qui est récupérée par la bactérie [09].

2.3. Mécanisme de résistance

2.3.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Il existe de nombreuses enzymes produits par certaines bactéries qui détruisent l'antibiotique par divers mécanismes chimique (hydrolyse, acétylation, phosphorylation).

2.3.2. Modification de la cible

Les cibles subissent des mutations entraînant l'apparition d'une nouvelle cible non reconnue par l'antibiotique (**Rahal, 2013**).

2.3.3. Imperméabilité membranaire

Par diminution quantitative ou modification des porines (caveaux de pénétration des antibiotiques à travers la membrane externe des bactéries provoquant la résistance par défaut de pénétration passive de l'antibiotique (**Rahal, 2013**).

2.3.4. Efflux actif

Ce sont des protéines qui agissent comme des pompes, incérées dans la membrane cytoplasmique externe, elles expulsent les antibiotiques dans le milieu extérieur en utilisant l'énergie produite par la membrane cytoplasmique (**Rahal, 2013**).

2.4. Résistance des Entérobactéries aux antibiotiques

2.4.1. Résistance aux β -lactamine

Dans le cas des Entérobactéries, la résistance aux β -lactamine est due à une inactivation de l'antibiotique par l'acquisition d'enzyme. Trois principaux types d'enzymes doivent être connus :

2.4.1.1. Les pénicillinases

Qui sont plasmatique, elles peuvent être de bas niveau et donc responsables d'une résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et aux uréidopénicillines, ou de haute niveau et donc responsable d'une résistance non seulement aux trois antibiotiques cités mais aussi aux molécules possédant des inhibiteurs de β -lactamases ainsi qu'aux céphalosporines de première et deuxième génération (**Zahar et Moumil, 2013**).

2.4.1.2. Une enzyme dite TRI (TEM Béta lactamases, résistantes aux inhibiteur)

Qui hydrolyse non seulement le cycle β -lactames mais aussi l'inhibiteur des β -lactamases et qui sera donc responsable d'une résistance aux aminopénicillines, aux uréidopénicillines aux carboxypénicillines et aux inhibiteurs de β -lactamase (**Zahar et Moumil, 2013**).

2.4.1.3. Les céphalosporinase

Les entérobactéries possèdent une céphalosporinase chromosomique. Toutes les Entérobactéries peut acquérir une céphalosporinase plasmatique appelée β les (β -lactamase à spectre étendu) qui est responsable d'une résistance à toutes les β -lactamines à l'exception de l'imipénème (**Zahar et Moumil, 2013**).

Toutefois concernant le céfepim et la céfepirome une activité de ces deux antibiotiques reste possible mais le microbiologiste dans son interprétation rendra ces deux molécules comme inactives (**Zahar et Moumil, 2013**).

2.4.2. Mécanisme de résistance aux aminosides

2.4.2.1. Altération de la cible

Le changement d'un seul acide aminé dans une protéine ribosomale entraîne une diminution de l'affinité du ribosome pour un antibiotique. Ces mutants résistants ne constituent pas un problème thérapeutique : ils sont rares en clinique et impliquent pour la plupart des mutations multiples pour atteindre un haut niveau de résistance. Et enfin, du fait de l'absence de chevauchement de site de fixation de divers aminosides sur les ribosomes, ils ne présentent pas une résistance croisée envers les autres membres de la famille (**Seck, 2005**).

2.4.2.2. Modification du transport de l'antibiotique

La pénétration des aminosides dans les bactéries est un phénomène de :

- Diffusion passive à travers les porines de la membrane externe.
- Transport actif requérant de l'énergie au niveau de la membrane interne.
- Les CMI sont faiblement augmentés et ce type de résistance est de détection délicate.
- Les mutations qui affectent le système actif de transport entraînent une diminution de l'accumulation d'antibiotique dans la cellule (**Seck, 2005**).

2.4.2.3. Détoxification enzymatique des antibiotiques

La modification enzymatique des aminosides méditée par les plasmides constitue le mécanisme de résistance à ces antibiotiques le plus fréquemment rencontrés en clinique. Ce troisième mécanisme d'origine plasmidique prédominant chez l'entérocoque qui est responsable de l'apparition de souches hautement résistantes aux aminosides (**Seck, 2005**).

2.4.3. Mécanisme de résistance aux macrolides et apparentés

2.4.3.1. Résistance intrinsèque ou naturelle

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

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

2.4.3.2. Résistance acquise

Il existe trois mécanismes de résistance acquise aux macrolides : la modification de la cible, par l'inactivation de l'antibiotique et par l'inactivation de l'efflux [12].

✓ Résistance par modification de la cible (gènes ERM)

Le mécanisme le plus fréquent à ce niveau est méthylation de l'adénine au niveau de l'ARN 23 Se la sous-unité ribosomale 50S. La production de l'enzyme responsable de cette méthylation (méthylase) se fait se le contrôle des gènes ERM (érythromycine ribosome méthylation). Cette méthylation confère une résistance croisée vis-à-vis non seulement de tous les macrolides mais aussi de deux autres classes d'antibiotiques qui agissent en se liant en partie à ce même site, à savoir les lincomasides (clindamycine et lincomycine) et la Streptogramine de type B d'où le nom de résistance MLSB [12].

✓ Résistance par l'inactivation de l'antibiotique

Ce mécanisme, assez rare (décrit chez les entérobactéries, *P. aeruginosa* et exceptionnellement chez *S.aureus*), implique la production d'enzymes (estérases et phosphotransférases) modifiant les macrolides au point de réduire fortement leur affinité pour le ribosome. Ce type de résistance est également transmis par des plasmides [12].

✓ Résistance par efflux de l'antibiotique

Ce mécanisme confère la résistance aux macrolides à 14 et 15 atomes et repose sur l'acquisition d'un gène MEF (A) porté par un transposon. Les macrolides à 16 atomes et les lincosamides restent donc actif sur la souche possédant un mécanisme d'efflux actif [12].

2.4.4. Mécanisme de résistance au sulfamide et aux trimethoprime

Le mécanisme le plus décrit ici concerne la cible de l'antibiotique celle-ci est substituée et donc n'est plus reconnue par l'antibiotique. L'autre mécanisme mis en évidence aux cours de la résistance aux sulfamides et aux trimethoprimes concerne lui, la perméabilité de la bactérie à ces molécules (Seck, 2005).

2.4.5. Mécanisme de résistances aux fluoroquinolones

Les mécanismes de résistance d'Entérobactérie aux fluoroquinolones sont de deux types :

- Altération de la cible des fluoroquinolones
- Efflux avec diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique c'est excrétion d'une protéine Acr R par mutation du gène qui entrain cet effet.

2.5. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

2.5.1. Mécanisme de résistance aux β -lactamines

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

2.5.1.1. Résistance naturelle

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

2.5.1.2. Résistance acquise

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

✓ Résistance enzymatique

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

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

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

✓ Résistance non enzymatique

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

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

2.5.2. Résistance aux fluoroquinolones

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

2.5.3. Résistance aux aminosides

P. aeruginosa contient des enzymes de modification des aminoglycosides AAC (6'), APH (2''), APH (3')-Viet AAC (3')-II. Considérant que, chez *P. aeruginosa* la pompe d'efflux MexXY est décrite comme principale manifestation de la résistance aux aminosides, la modification de la cible (ARNr 16S) a également représenté plusieurs cas de résistance aux aminosides (Sohidul, 2008).

2.6. La résistance des Staphylocoques aux antibiotiques

2.6.1. Résistance à la pénicilline

Pratiquement toutes les souches de *S. aureus* étaient sensibles à la pénicilline G, mais en 1944, la première preuve de résistance de *S. aureus* à la pénicilline avait déjà paru. Aujourd'hui presque toutes les souches de *S. aureus* sont résistantes aux pénicillines naturelles, celle-ci implique aussi une résistance à l'ampicilline, l'amoxicilline, la ticracilline, la pipéracilline, et à l'aminopénicilline (Chaalal, 2013).

Le mécanisme de résistance à la pénicilline repose sur la synthèse par les bactéries d'une enzyme appelée β -lactamase ou pénicillinase. Cette enzyme plasmidique inductible hydrolyse le cycle β -lactame des pénicillines A et G les rend inactive. La production de cette enzyme est inactivée par les inhibiteurs de pénicillinase (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) (Chaalal, 2013).

2.6.2. Résistance à la méticilline

La méticilline, l'oxaciline et d'autres pénicillines résistantes à l'action de la pénicillinase sont introduites dès débuts des années 1960 pour le traitement des infections causées par les *staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline. Cependant, au fil du temps des souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) commencent à apparaître et à se répandre au sein du milieu hospitalier et plus récemment au sein de la communauté. La résistance à la méticilline est croisée vis à vis de l'autre β -lactamine, ce qui implique que les souches méticillino résistantes doivent toujours être considérées comme résistantes à toutes les β -lactamines y compris aux céphalosporines de troisième génération.

La résistance des *S. aureus* à la méticilline est principalement due à la modification de la cible des β -lactamines enzyme appelée aussi protéine liant la pénicilline (PLP). Les PLP interviennent dans la synthèse de la paroi bactérienne en catalysant la formation des ponts peptidiques entre les chaînes glycaniques. Les β -lactamines se fixent à ces enzymes et bloquent la polymérisation de la paroi bactérienne, altérant ainsi sa structure et provoquant la lyse de la bactérie.

S. aureus produit naturellement 4 PLP, les β -lactamines doivent en inhiber plus d'une pour obtenir une activité anti bactérienne efficace les SARM synthétisent une 5^{ème} PLP modifiée appelée PLP2a, qui a une faible affinité pour les β -lactamines (Chaalal, 2013).

2.6.3. Résistance aux aminosides

La résistance aux aminosides est rarement due à des mutations affectant les cibles ribosomale des antibiotiques. Le principal mécanisme de résistance aux aminosides (kanamycine, amikacine, tobramycine, gentamycine, nétilmicine) est surtout dû à la production par les staphylocoques d'enzyme modifiant la cible ribosomal. Il existe trois enzymes de résistance, chacune d'entre elles conférant un phénotype de résistance spécifique aux aminosides. Ces enzymes (acétyltransférase, nucléotidyl-tracférase et phosphotransférases) sont codées par des gènes plasmidiques ou transposable. Les trois phénotypes de résistance sont :

- Aminoglycoside et phosphotransférase(3')-III : cette enzyme confère la résistance à la anamycine l'amikacine (phénotype K). cette enzyme est présente chez moins de 10% des souches méticillino sensible.
- Aminoglycoside nucléotidyltransférase (4'-4'') : cette enzyme confère la résistance à la kanamycine, l'amikacine, la tobramycine (phénotype KT). Cette résistance est présente chez environ 1/3 des souches résistantes à la méticilline.
- Aminoglycoside acétyltransférase(6') aminoglycoside phosphotransférase (2'') : Cette enzyme bi fonctionnelle confère la résistance à la Kanamycine, L'amikacine, la tobramycine, la nétilmicine et à la gentamicine (phénotype KTG). Cette enzyme est détectée chez 2/3 ou plus des souches méticillino résistantes (**Chaalal, 2013**).

2.6.4. Résistance aux glucopeptides

Les glycopeptides (teicoplanine et vancomycines), sont utilisés en alternative aux béta-lactamines dans le traitement des infections à staphylocoques dorés méticilino résistance.

Le mécanisme de résistance à la vancomycine est lié à un épaissement de la paroi bactérienne qui piège les glycopeptides dans les couches superficielles en les empêchant d'atteindre la membrane cytoplasmique ou le péptidoglycane est synthétisé.

Cette résistance est du à des mutations de S-aureus, obtenues après transfert conjucatif de l'opéron de gènes *vanA* codant pour la résistance à la vancomycine chez les entérocoques résistants aux glycopeptides (**Chaalal, 2013**).

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

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

2.6.5.1. La modification de la cible des antibiotiques

Qui est le mécanisme le plus répandu et confère un spectre de résistance croisé entre macrolides, lincosamides et streptogramines B. d'où son nom de MLSB, car ces antibiotiques ont des sites de fixation communs.

2.6.5.2. Les mécanismes d'efflux actif

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

2.6.5.3. L'inactivation enzymatique

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

2.6.6. Résistance aux fluoroquinolones

Les fluoroquinolones (ofloxacin, pefloxacin, ciprofloxacin) inhibent la croissance Bactérienne par arrête de la synthèse de l'ADN. La résistance aux fluoroquinolones est due à une modification de la cible, soit la topo- isomirase IV par mutation des gènes chromosomique *griA* ou *griB* soit les sous unités de la gyrase par une mutation des gènes *griA*

ou *grlB* cette résistance touche essentiellement les staphylocoques hospitaliers, en particulier le staphylocoque doré résistant à la méthicilline (**Chaalal, 2013**).

2.6.7. Autres résistances

- La résistance aux sulfamides est de nature chromosomique, liée à une hyperproduction d'acide para-aminobenzoïque.
- La résistance aux tétracyclines est due soit à un mécanisme d'efflux par une protéine membranaire codée par les gènes *tetK* ou *tetL* d'origine plasmidique soit une protection de la cible par une protéine codée par le gène transposable *tetM* (**Chaalal, 2013**).
- La résistance à la rifampicine est liée à la sélection de mutation résistante au niveau de la sous-unité β de l'ARN polymérase ADN dépendant (**Rebiahi, 2012**).
- La résistance à la phosphomycine est due à la sélection de mutants au niveau du système de transport de la molécule dans la bactérie (gènes *glgT* et *uhp*) (**Rebiahi, 2012**).
- La résistance à l'acide fusidique est secondaire soit à la sélection de mutants résistances au niveau du facteur d'élongation intervenant dans la synthèse protidique soit à une modification de la perméabilité d'origine plasmidique (**Chaalal, 2013**).

2.7. La résistance des Streptocoques aux antibiotiques

2.7.1. Notion de résistance

La capacité pour une souche bactérienne de supporter une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe la majorité des autres souches de la même espèce définit la résistance.

Cette capacité fait appel à de nombreux mécanismes biochimiques mettant en jeu les interactions entre l'antibiotique et les voies métaboliques de la bactérie. Pour un antibiotique, les deux conditions de l'activité sont la pénétration et l'accès au site d'action. Les sites ou les enzymes responsables de la pénétration d'un produit au niveau de la membrane, les molécules protéiques ou l'action s'exerce sont autant d'éléments dont la présence est codée par l'ADN bactérien. L'ADN conditionne la sensibilité ou la résistance.

Les bactéries possèdent l'ADN sous deux formes : chromosomique et extra-chromosomique (plasmidique), deux types de résistance peuvent donc être enregistrés. Au même titre que l'homme présente une immunité, les bactéries peuvent posséder une antibiorésistance naturelle. En d'autres termes, cette résistance peut être naturelle ou acquise.

2.7.1.1. Résistance naturelle

C'est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Les Streptocoques sont tous résistants à l'acide de sodium, au cristal violet, à l'acide nalidixique, aux polymyxines et aux aminosides (résistance naturelle de bas niveau). Cette résistance est due à un défaut de pénétration à travers la paroi cellulaire streptococcique. Les aminosides n'atteignent pas alors leur cible, c'est-à-dire les sous unités ribosomiques 30S. La résistance de naturelle de bas niveau des aminosides rend compte de l'inefficacité de ces produits en monothérapie. La résistance naturelle serait alors sous la dépendance d'un gène. L'ADN de la bactérie résistance ne code pas un des éléments intervenant dans le mécanisme d'action, au niveau de la paroi ou du cytoplasme (**Perez et al., 2001**).

2.7.1.2. Résistance acquise

Elle apparait chez certaines souches d'une espèce considérée habituellement sensible. Elle intervient soit lors d'une mutation chromosomique, soit lors d'une acquisition de gène par transfert génétique (plasmide ou transposon) (**Perez et al., 2001**).

La mutation chromosomique entraîne la modification des structures cellulaires préexistantes qui rend la bactérie indifférente à un ou plusieurs antibiotiques par diminution de la perméabilité ou du transposon soit les cibles intracellulaires de ces antibiotiques, insensibles à la présence du ou des antibiotiques (**Perez et al., 2001**).

L'acquisition d'un plasmide ou d'un transposon entraîne la synthèse de protéines nouvelle par la bactérie réceptrice. La résistance peut alors être due à :

- L'altération de la cible de l'antibiotique
- La modification du transport de l'antibiotique (diminution de l'import actif ou mise en œuvre d'un export actif)
- L'inactivation de l'antibiotique
- La substitution de la cible de l'antibiotique

Les mécanismes de cette résistance sont en relation avec une diminution d'affinité (10 à 500 fois) d'une ou de plusieurs PLP (protéines de liaison à la pénicilline) à la suite de mutation nécessitant plus d'antibiotiques. Cette affinité modifiée peut s'accompagner d'une nette augmentation de production de la PLP (**Perez et al., 2001**).

La résistance est quelque fois en rapport avec l'apparition d'une nouvelle PLP "essentielle" inductible et de très faible affinité comme la PLP 5 chez les entérocoques résistance à la pénicilline (**Perez et al., 2001**).

L'apparition de cette nouvelle PLP de faible affinité prenant le relais des autres a pour conséquence une résistance entre toutes les bêta-lactamines. C'est le cas de *Enterococcus faecalis* et *faecium* (**Perez et al., 2001**).

La résistance liée à la présence des plasmides R généralement due à une synthèse de protéines. Elle concerne la quasi-totalité des antibiotiques. Les plasmides R peuvent conférer la résistance à un ou plusieurs antibiotiques appartenant à des familles différentes.

D'une manière générale, la résistance a beaucoup évolué. On a pu cependant remarquer durant ces dernières années que les streptocoques avaient développé certaines résistances aux antibiotiques autres que les bêta-lactamines. Ces résistances sont par ordre décroissant :

- La résistance aux tétracyclines.
- La résistance aux macrolides.
- La résistance au chloramphénicol.
- La résistance aux sulfamides et au triméthoprim (**Perez et al., 2001**).

2.7.2. Notion de sensibilité

Les streptocoques en générale présentent une très grande sensibilité à la pénicilline. Cependant, du fait de l'apparition des phénomènes allergiques à ce médicament, les auteurs substituent cette thérapeutique à une autre dont le choix est fonction du comportement in vitro des streptocoques envers les autres antibiotiques.

Les streptocoques sont également sensibles à l'ampicilline, aux macrolides, aux lincosamides, aux streptogramines A et B, au chloramphénicol et à la vancomycine.

Les CMI sont variables d'un antibiotique à un autre, d'où la nécessité de faire un antibiogramme standard sur toute souche de streptocoque isolée d'infection généralisée (**Perez et al., 2001**).



Deuxième partie

Étude expérimentale

Chapitre III :

Matériel et Méthodes

Notre travail dont l'objectif a porté sur l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries d'importance clinique. Ce travail a été effectué au niveau de laboratoire d'hygiène de la direction de la santé et de population (DSP) dans la wilaya de Guelma.

1. Collecte des bactéries d'intérêt clinique

Nous avons collecté dix prélèvements bactériens au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Oued Zenati Elamir Abdelkader (wilaya de Guelma). Pour cette étude deux prélèvements ont été effectués par écouvillonnage dans les deux mois février et mars 2016 (Tableau 01).

Tableau 01: Prélèvement des souches bactériennes.

Date isolement	Nature de prélèvement	Milieu d'isolement	Bactérie a recherché
– Le 09 février 2016	– Charriot	– Chapman	–Staphylocoques
	– Masque de bébé	– Gélose nutritive	–Streptocoques
– Le 01mars 2016	– Matelas	– Hektoen	–Entérobactéries
	– Lit	– Cétrimide	– <i>Pseudomonas</i>
	– Paillasse		

2. Isolement et purification des souches

A partir de ces prélèvements on ensemence par écouvillonnage sur les milieux suivants: la gélose nutritive, la gélose Chapman, la gélose Hektoen, et la gélose Cétrimide. Les boites ont été codées puis incubées à 37°C pendant 24 heures (**Bourdon et al., 1973**).

Le choix de ces bactéries s'est basé sur leur importance dans le domaine médical : *Pseudomonas*, Entérobactéries, Staphylocoques et Streptocoques, qui sont des bactéries pyogènes et toxigène responsable de nombreuses infections nosocomiales et communautaires qui représentent un problème de santé publique (**Singleton, 2008**).

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

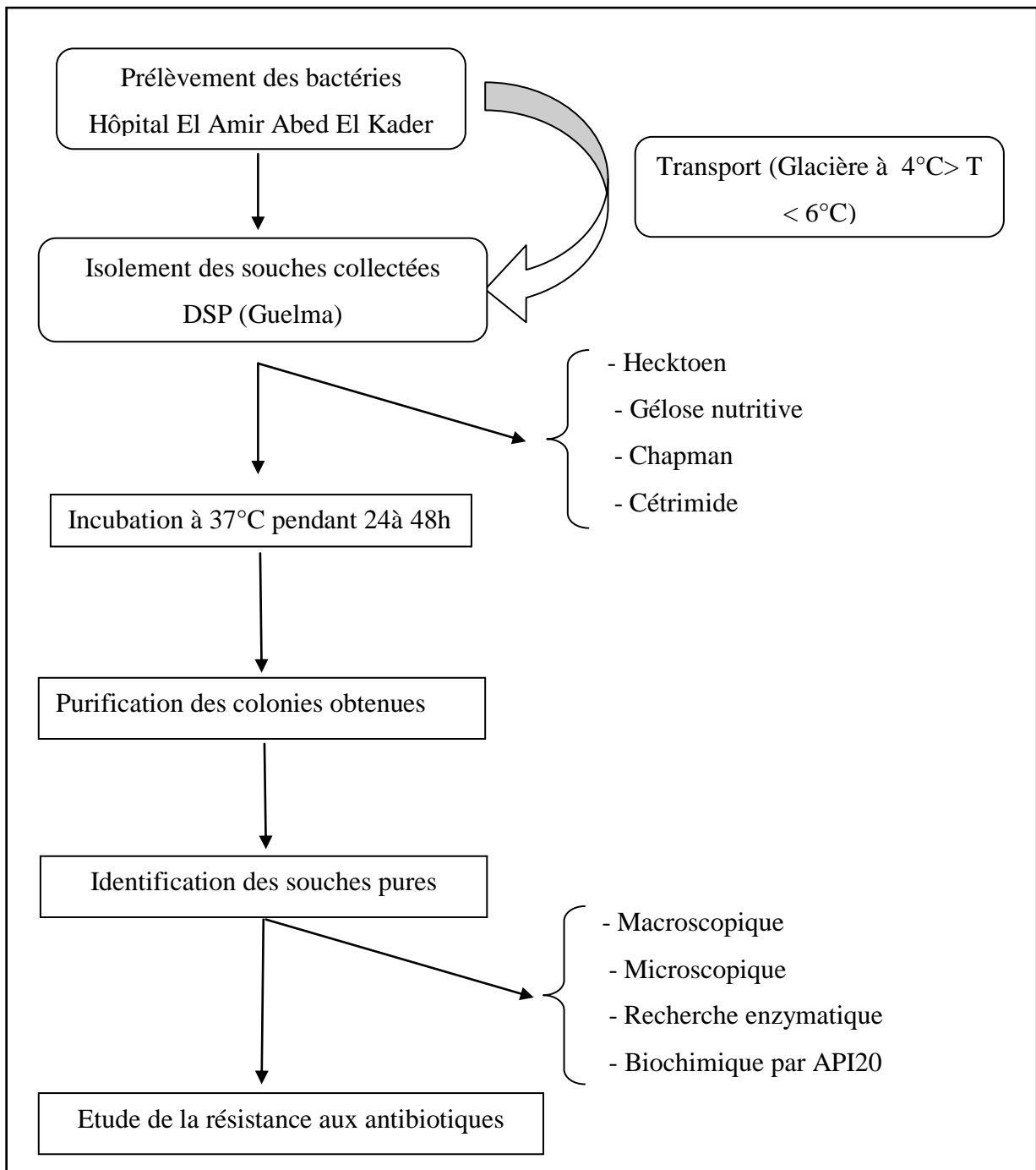


Figure 05 : Protocole expérimental suivi pour étudier la résistance aux antibiotiques des bactéries d'importance clinique.

3. Identification des souches purifiées

3.1. Caractères macroscopiques

L'identification des germes est basée sur l'observation de l'aspect macroscopique des colonies obtenues à partir des différents milieux d'isolement. Dans les conditions données, chaque espèce bactérienne développe une colonie de taille, de forme, de couleur et de consistance caractéristique (**Singleton, 2008**).

3.2. Examen microscopique

Il est basé sur l'observation microscopique qui permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce microbienne. A partir des colonies poussées sur les différents milieux gélosés on réalise un examen à l'état frais et coloration de Gram.

3.2.1. Examen à l'état frais

Permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de regroupement, et de leur mobilité (**Delarras et al., 2003**).

- Déposer aseptiquement sur une lame porte objet propre une goutte d'eau physiologique.
- Prélever à l'aide d'une anse de platine stérile une colonie à partir du milieu gélosé, la dissocier dans la goutte d'eau, puis recouvrir d'une lamelle en évitant la formation des bulles d'air.
- Observer à l'objectif x 10 puis x 40 (**Delarras et al., 2003**).

3.2.2. 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 (**Bourdon et Marchal, 1973 ; Amira, 2008**).

- Préparer la lame et l'échantillon comme pour un état frais.
- Étaler 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 brûler.

- Recouvrir le frottis par le violet de Gentiane, laissé agir une minute ; rincer à l'eau distillée.
- **Fixation et mordantage** : 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) (**Bourdon et Marchal, 1973 in Amira, 2008**).

3.3. Etude des caractères biochimiques

3.3.1. Identification des Entérobactéries

❖ Recherche de l'Oxydase

Ce test est la base de l'identification des bactéries Gram (-) et permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyle paraphénylène diamine.

❖ Recherche de nitrate réductase

En absence d'oxygène, certaines bactéries peuvent obtenir leur énergie par respiration anaérobie. Cette respiration anaérobie est liée à l'activité d'enzymes localisées dans la membrane plasmique bactérienne.

Tableau 02: Recherche des enzymes respiratoire.

Test	Réaction	Résultats	
		Positif	Négatif
Oxydase	Oxydation de cytochrome c réduit	Coloration violette	Aucune coloration
Nitrate réductase	Réduction de nitrite en nitrate	Le milieu devient rouge	Aucune coloration

❖ La galerie miniaturisée API 20 E

La galerie API20E est une version miniaturisée des tests biochimiques classiques destinée à l'identification des Enterobacteriaceae, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés.



Figure 06: Plaquette de la galerie API 20 E.

✓ Mode opératoire

- Réunir fond et couvercle d'une boîte 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 boîte d'incubation, coder et placer à 37C° pendant 18-24 h (**Djebbari et al., 2009**).

✓ Lecture

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées. Si le glucose est positif et/ou si trois tests ou plus sont positifs, 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 foncée indique une réaction positive.

Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kowacs. Un anneau rouge obtenu en 2 min indique une réaction positive (**Dolarras, 2007**).

✓ Identification

Sur la fiche de résultats, les tests sont en groupe de 3 et une valeur (1, 2 ou 4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre de 7 chiffres qui sert de code d'identification.

Chercher le code numérique obtenu dans le catalogue analytique de l'API20E ou avec le logiciel d'identification afin de connaître le nom de l'espèce identifiée (**Djebbari et al., 2009**).

3.3.2. Identification des Pseudomonas

L'identification biochimique des Pseudomonas a été réalisée par la galerie API20NE dont les tests d'identifications sont réalisés comme ceux déjà effectués pour les Entérobactéries.



Figure 07 : Plaque de la galerie API 20 NE

✓ La préparation de l'inoculum

- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé (Cétrimide).
- Faire une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans une ampoule API 20 NE Medium (**Djebbari et al., 2009**).

✓ Inoculation de la galerie

- Introduire la suspension dans les tubes de la galerie en évitant la formation des bulles.
- Pour les tests soulignés mettre la suspension dans les tubes et remplir les cupules d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte et incuber à 37°C pendant 24 heures.

✓ Lecture de la galerie API 20 NE

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire après addition de réactifs aux tests suivants :

Test NO₃

- Ajouter une goutte de réactifs NIT₁ et NIT₂ dans la cupule NO₃.
- Après 5 mn, une couleur rouge indique une réaction positive, à noter sur la fiche de résultats.
- Une réaction négative peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) ; ajouter 2-3 mg de réactif Zn dans la cupule NO₃.
- Après 5 mn, une cupule restée incolore indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule devient rose-rouge, la réaction est négative car les nitrates encore présents dans le tube ont alors été réduits en nitrites par le zinc.

La réaction utilisée pour l'identification de la bactérie est la réduction des nitrates ; elle est positive si l'une ou l'autre des deux réactions précédentes (production de NO₂ ou de N₂) est positive. La production de N₂ peut cependant être utilisée seule comme test complémentaire dans le Catalogue Analytique.

Test TRP

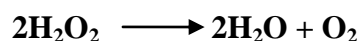
- Ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive.

❖ Identification

- La détermination du code numérique sur la fiche de résultats est obtenue par la même méthode décrite pour l'API 20 E.
- Chercher le code numérique obtenu dans le catalogue analytique de l'API 20 NE ou avec le logiciel d'indentification afin de connaître le nom de l'espèce identifiée.

3.3.3. Identification des Staphylocoques**❖ Recherche de catalase**

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeux selon la réaction suivante :



- Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée, à l'aide d'une pipette pasteur, ajouter l'inoculum, observé immédiatement (**Joffin et al, 2001**).
- Résultat positive : apparition des bulles, dégagement gazeux d'oxygène (O₂).
- Résultat négatif : absence des bulles de gaz (**Délarrras, 2008**).

❖ Recherche de la Staphylocoagulase

La coagulase libre est une enzyme libérée dans le milieu au cours de la culture par *Staphylococcus aureus*. Cette enzyme est capable in vitro de coaguler le plasma du lapin. Sa mise en évidence permet seule, d'affirmer la présence de *S. aureus*.

- Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 0.5 ml de plasma oxalaté, puis ajouté 0.5 ml d'une culture de 18 heures de la souche à étudier et placer le mélange à 37C°.
- Examiner les tubes 2 h, 6 h puis 24 h après
- Prise en masse du mélange : présence de la Staphylocoagulase.
- Le milieu reste liquide : absence de la Staphylocoagulase.

❖ Etude des caractères biochimiques (API 20 Staph)

A fin d'étudier les caractères biochimiques des souches, nous avons utilisé la galerie miniaturisé API20 Staph.



Figure 08 : Plaque de la galerie API 20 Staph.

✓ La préparation de la galerie

- Mettre l'eau distillée sur le fond de la boîte (partie alvéolée), toutes les alvéoles doivent être remplies, puis éliminer l'excès d'eau.
- Placer la galerie sur le fond de la boîte, elle doit être manipulée avec la pince.
- Recouvrir la boîte avec son couvercle.
- Incrire nom, référence souche, date et température d'incubation sur la languette latérale de la boîte.

✓ La préparation de l'inoculum

- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé (Chapman).
- Faire une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans une ampoule APIStaph Medium (Djebbari et al., 2009).

✓ Inoculation de la galerie

- Introduire la suspension dans les tubes de la galerie en évitant la formation des bulles.
- Pour les caractères ADH, URE, remplir les cupules d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte et incuber à 37°C pendant 24 heures (Djebbari *et al.*, 2009).

✓ Lecture de la galerie API 20 Staph

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant (Tableau de Lecture (03) Annexe) après addition de réactifs aux tests suivants :

Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 min. Une couleur violette ou rose indique une réaction positive.

Test NIT : ajouter une goutte de réactif NIT1 et NIT2. Attendre au minimum 10 min. Une couleur rouge indique une réaction positive.

Test PAL : (phosphatase alcaline) ajouter une goutte de réactif ZIM A et ZIM B. Attendre au minimum 10 min. Une couleur violet indique une réaction positive (Dolarras, 2007).

✓ Identification

- La détermination du code numérique sur la fiche de résultats est obtenue par la même méthode décrite pour l'API 20 E.
- Chercher le code numérique obtenu dans le catalogue analytique de l'API 20 Staph ou avec le logiciel d'indentification afin de connaître le nom de l'espèce identifiée.

3.3.4. Identification des Streptocoques

Afin d'étudier les caractères biochimiques des souches, nous avons utilisé la galerie miniaturisée API 20 Strep.



Figure 09: Plaque de la galerie API Strep.

✓ La préparation de l'inoculum

- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé (GN).
- Faire une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans une ampoule API 20 Strep Medium (**Djebbari et al., 2009**).

✓ Inoculation de la galerie

- Dans la première moitié de la galerie, répartir la suspension précédente en évitant la formation de bulles (pour le test ADH, remplir uniquement le tube).
- Dans la deuxième moitié de la galerie, mettre 0,5 ml dans une ampoule API 20Strep Medium. Ensuite répartir cette suspension dans les tubes uniquement.
- Mettre de l'huile de paraffine dans les cupules d'ADH à GLYG.
- Fermer la boîte d'incubation et l'incuber à 35-37°C pendant 24 heures.

✓ Lecture de la galerie API 20 Strep

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire après addition de réactifs aux tests suivants :

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 HIP : ajouter une goutte de réactif NIN, jusqu'à 10min .Une couleur bleu foncée /violet indique une réaction positive.

Test PAL (phosphatase alcaline) : ajouter une goutte de réactif ZIM A et ZIM B. Attendre au minimum 10 min. Une couleur violet indique une réaction positive (**Dolarras, 2007**).

✓ Identification

- La détermination du code numérique sur la fiche de résultats est obtenue par la même méthode décrite pour l'API 20 E.
- Chercher le code numérique obtenu dans le catalogue analytique de l'API 20 Strep ou avec le logiciel d'indentification afin de connaître le nom de l'espèce identifiée (Tableau (04) Annexe).

4. Etude de la sensibilité aux Antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme) a été réalisée par la méthode classique de diffusion des disques d'antibiotiques en milieu Mueller-Hinton selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2013).

4.1. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Mettre les colonies isolées dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Ferland (in Meziani, 2012).

4.2. Ensemencement de la gélose de l'antibiogramme

La gélose utilisée est la gélose Muller Hinton (MH), son ensemencement a été effectué dans les 15 minutes qui ont suivi la préparation de l'inoculum selon les étapes suivantes :

- Couler la gélose MH en boîtes de pétri, laisser sécher et solidifier avant utilisation.
- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum préparé.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la gélose 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 par la périphérie de la gélose (Courvaline et Leclercq, 2012 ; in Meziani, 2012).

4.3. Application des disques d'antibiotiques

- Les disques sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée, en appuyant doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu.
- Les boîtes sont ensuite laissées à la température ambiante pendant 30 minutes sur la paille pour permettre la diffusion de l'antibiotique dans la gélose (Courvaline et Leclercq, 2012 ; in Meziani, 2012).

- L'incubation s'est faite à l'étuve à 37C° pendant 18 à 24 heures (Courvaline et Leclercq, 2012 ; in Meziani, 2012).

Les antibiotiques qui ont été testés pour chaque souche bactérienne étudiée dans les deux mois (février et mars) sont représentés dans le tableau (03).

Tableau 03 : Liste des antibiotiques utilisés pour l'évaluation de l'antibiorésistance (CA-SFM, 2013).

Antibiotique	Famille	Code	Charge du disque
Chloramphenicole	Phenicole	C	30µg
Tetracycline	Tetracycline	TE	10µg
Ampicilline	β-lactamine	AMP	10µg
Cefoxitine	β-lactamine	CX	30µg
Gentamicine	Aminoside	GEN	10µg
Erythromycine	Macrolide	E	15µg
Vancomycine	Glycopeptide	VA	30µg
Penelline G	β-lactamine	P	10µl/6µg
Oxacilline	β-lactamine	OX	1µg
Fosfomycine	Diver	FO	200µg
Kanamycine	Aminoside	K	30µg
Amoxiciline	β-lactamine	AMX	25µg
Cefozaline	Polypeptide	CZ	30µg
Streptomycine	Aminoside	S	10µl
Colistine	Polymyxines	CL	10µg
Sulphametho- Oxazole/ Triméthoprim	Sulfamide Triméthoprim	SXT	1.25 / 23.75µg
Acide-fusidique	Diver	FA	10µg
Amikacine	Aminoside	AK	30µg

4.5. Lecture interprétative

Les diamètres d'inhibition autour des disques sont mesurés puis ils sont comparés aux diamètres critiques conformément aux normes CASFM (Comité de l'Antibiogramme de la société française de Microbiologie) (Tableaux (06) Annexe).

Il convient de noter toute fois, qu'une souche dont la sensibilité aux antibiotiques est ainsi évaluée peut être déclarée sensible, intermédiaire ou résistante (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Meziani, 2012).

Chapitre IV :

Résultats et discussion

1. Résultats de vérification de la pureté des souches collectées

1.1. Résultats d'isolement

A partir l'isolement de différents prélèvements dans les deux mois (février, mars) sur milieux appropriés "Chapman, Gélose nutritive, Hektoen, Cétrimide", on a obtenu les résultats mentionnés dans le tableau (04).

Tableau 04: Résultat de la culture dans les différents prélèvements.

Nature de prélèvement	Février				Mars			
	Chapman	GN	Hektoen	Cétrimide	Chapman	GN	Hektoen	Cétrimide
Charriot	+	+	-	-	-	-	+	-
Masque de bébé	+	+	-	-	-	+	-	-
Matelas	+	+	-	-	-	+	-	-
Lit	-	+	-	-	-	+	-	-
Paillasse	-	-	+	-	-	-	-	+

A partir des boîtes positives, nous avons choisi les colonies suspectes ou désirées et les repiquées dans de nouvelles boîtes afin de vérifier la pureté des souches. A partir des cultures pures, nous avons fait l'observation macroscopique et microscopique.

1.2. Aspect macroscopique des colonies

Le repiquage successif utilisé dans le seul but de purifier les souches nous a permis de distinguer les caractères de toutes les colonies sur leurs milieux préférentiels d'isolement. Ces données sont résumées dans le Tableau (05).

Tableau 05 : L'aspect macroscopique des colonies isolées.

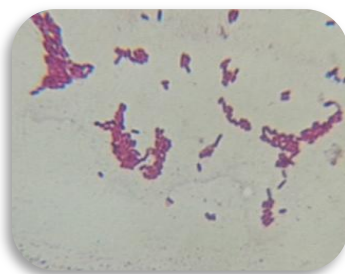
Prélèvement	Milieu	L'aspect des colonies
Février	Chapman	– Petites colonies de couleur jaune (doré), rondes, bombées et lisses à contour régulier, filantes sous l'anse avec un virage de couleur du milieu vers le jaune.
	GN	
	Hektoen	– Colonies moyennes, saumonées, arrondies, bombées à contour régulier.
Mars	Hektoen	– Colonies moyennes, saumonées, arrondies, bombées à contour régulier.
	GN	– Petites colonies, grisâtres, arrondie, à bord irréguliers.
	Cétrimide	– Colonies moyennes, transparentes, arrondies, aplaties et lisses à contour régulier avec virage de couleur du milieu vers / bleu.

1.3. Aspect microscopique des colonies

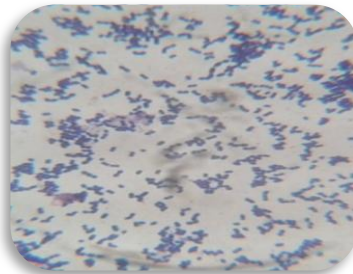
L'examen microscopique (état frais et coloration de Gram) a été fait pour toutes les cultures, les résultats sont représentés dans le tableau (06).

Tableau 06 : Résultats de l'état frais et la coloration de Gram et les enzymes respiratoires.

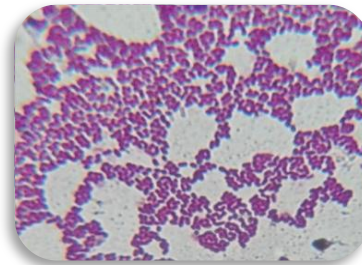
	Milieu	L'état frais	Coloration de Gram	Enzyme
Février	Chapman	Cocci en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chainettes, immobiles	Cocci de couleur violette (Gram+).regroupées en amas, en grappe de raisin.	Catalase positive
	Hektoen	Bacilles fins et allongés, immobiles.	Bacilles Gram négative.	Oxydase négative
Mars	GN	Cocci en petits chainettes, immobiles.	Cocci Gram positive en chainettes plus ou moins longues.	Catalase négative
	Cétrimide	Bacilles fins, très mobiles.	Bacilles Gram négative.	Oxydase positive
	Hektoen	Bacilles fins et allongés, immobiles.	Bacilles Gram négative.	Oxydase négative



Bacille Gram (-)



Cocci Gram (+) en chaîne



Cocci Gram (+) en amas

Figure10 : Observation microscopique après coloration de Gram des souches bactériennes étudiées (x 100) (Photos personnelles (PP)).



(-)

(+)

Test de catalase



(-)

(+)

Test d'oxydase

Figure 11 : Résultat de la recherche des enzymes respiratoires (pp).

1.4. Résultats de l'identification biochimique

1.4.1. Résultats de l'identification des Entérobactéries

L'étude biochimique des Entérobactéries nous a permis d'identifier *Klebsiella oxytoca* (Fig. 12) et *Klebsiella pneumoniae* (Fig. 13) par la galerie API 20 E pour les deux prélèvements des mois de février et de mars.

Tableau 07 : Résultats de l'identification par l'API20E.

Galerie biochimique	Souches identifiées	Nature de prélèvement	Mois de prélèvement
API 20E	<i>Klebsiella oxytoca</i> (K1)	Paillasse	mars
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (K2)	Charriot	février



Figure 12 : Profil biochimique de la souche *Klebsiella oxytoca* (K1) (PP).



F

Figure 13 : Profil biochimique de la souche *Klebsiella pneumoniae* (K2) (PP).

1.4.2. Résultats des tests d'identification des souches des *Pseudomonas*

Les résultats de l'identification biochimique de *Pseudomonas aeruginosa* pour les deux mois, sont représentés dans la figure (14).

Tableau 08 : Résultats de l'identification par l'API20NE.

Galerie biochimique	Souches identifiées	Nature de prélèvement	Mois de prélèvement
API 20 NE	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P1)	Paillasse	mars

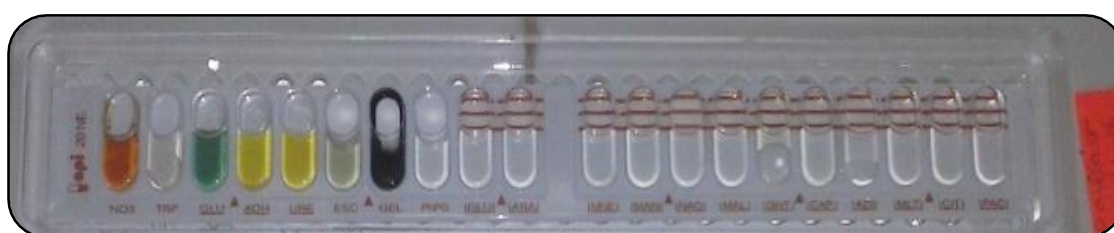


Figure 14 : Profil biochimique de la souche *Pseudomonas aeruginosa* (P1) (PP).

1.4.3. Résultats des tests d'identification de Staphylocoque

Les résultats de l'identification des staphylocoques sont présentés dans le tableau (07).

Tableau 09: Résultat du test staphylocoagulase.

Galerie biochimique	Nature de prélèvement	Test staphylocoagulase	
		Février	Mars
API 20 Staph	- Charriot	-	-
	- Masque de bébé	+	-
	- Matelas	-	-
	- Lit	+	-

Les souches des *Staphylococcus* pour les deux mois ont été identifiées par l'API Staph, les résultats sont illustrés dans les figures ci-dessous.

Tableau 10 : Résultats de l'identification par l'API20Staph.

Galerie biochimique	Souches identifiées	Nature de prélèvement	Mois de prélèvement
API 20Staph	<i>Staphylococcus aureus</i> (S2)	Masque de bébé	février
	<i>Staphylococcus aureus</i> (S4)	Lit	février
	<i>Staphylococcus lentus</i> (S1)	Charriot	février
	<i>Staphylococcus lentus</i> (S3)	Matelas	février



Figure 15: Profil biochimique de *Staphylococcus aureus* (S2).



Figure 16: Profil biochimique de *Staphylococcus aureus* (S4).



Figure 17 : Profile biochimique de *Staphylococcus lentus* (S1).



Figure 18 : Profil biochimique de *Staphylococcus lentus* (S3).

1.4.4. Résultats des tests d'identification des souches des Streptocoques

Les résultats des différents tests effectués sur les *Lactococcus cremoris* pour les deux mois, sont représentés dans les figures ci-dessous.

Tableau 11 : Résultats de l'identification par l'API20Strep.

Galerie biochimique	Souches identifiées	Nature de prélèvement	Mois de prélèvement
API 20Strep	<i>Lactococcus cremoris</i> (L1)	Masque de bébé	mars
	<i>Lactococcus cremoris</i> (L2)	Matelas	mars
	<i>Lactococcus cremoris</i> (L3)	Lit	mars



Figure 19 : Profil biochimique de *Lactococcus cremoris* (L1).

NB : Photos personnelles



Figure 20 : Profil biochimique de *Lactococcus cremoris* (L2) (PP).



Figure 21 : Profil biochimique de *Lactococcus cremoris* (L3) (PP).

2.1. Résultats de l’antibiogramme

2.1.1. Les Entérobactéries

2.1.1.1. *Klebsiella oxytoca*

Le tableau ci-après présent les résultats de l’antibiogramme pour la souche de *Klebsiella oxytoca* (K1).

Tableau 12: Résultat de l’antibiogramme pour *Klebsiella oxytoca* prélevé à partir de la Paillasse (K1).

Antibiotique	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Diamètre	35	13	00	22	13	11	00	00	00	30	11	00	00	00	14	00	00	22
Catégorie Clinique	S	I	R	S	I	I	R	R	R	S	R	R	R	R	I	R	R	S

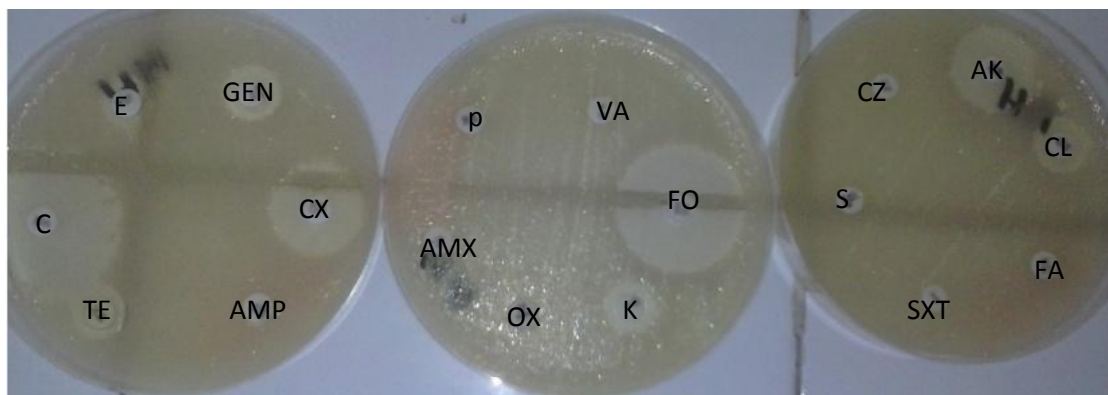


Figure 22 : Résultat de l’antibiogramme de la souche de *Klebsiella oxytoca* (K1) (PP).

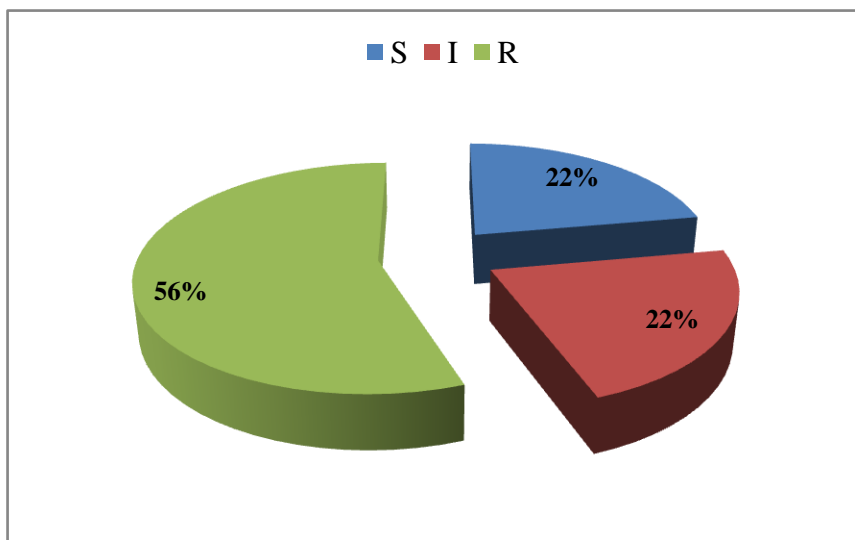


Figure 23 : Taux de résistance de *Klebsiella oxytoca* (K1).

La souche de *Klebsiella oxytoca* (K1) identifiée est sensible à 22% aux antibiotiques testés tels que : la Chloramphenicol, la Cefoxitine, Fosfomycin, Amikacine et elle présente une résistance intermédiaire de 22% à la Tetracycline, Gentamicine, Erythromycine, Colistine et elle présente aussi une résistance de 56% pour les autres antibiotiques.

2.1.1.2. *Klebsiella pneumoniae*

Le tableau ci-après présent les résultats de l’antibiogramme pour la souche de *Klebsiella pneumoniae* (K2).

Tableau 13: Résultat de l’antibiogramme pour *Klebsiella pneumoniae* prélevé à partir le Charriot (K2).

Antibiotique	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Diamètre	23	12	00	21	25	17	22	00	00	25	15	21	16	00	12	00	00	25
Catégorie Clinique	S	I	R	S	S	I	S	R	R	S	I	S	R	R	I	R	R	S

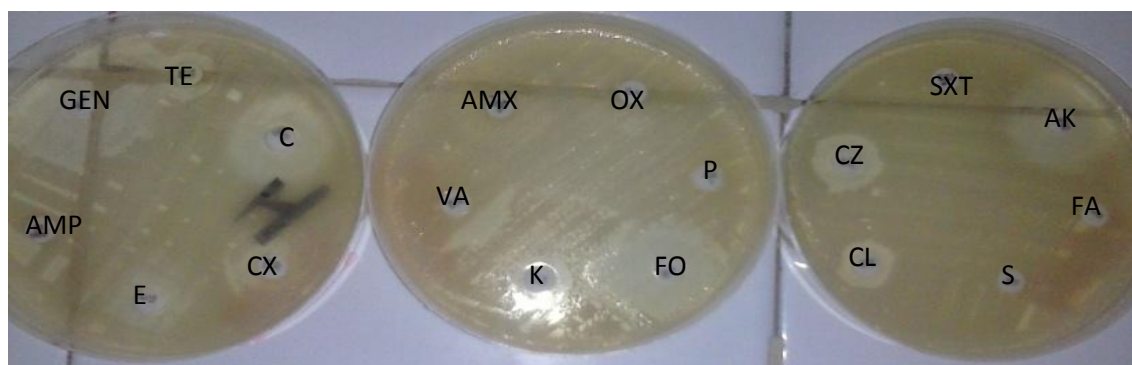


Figure 24 : Résultat de l’antibiogramme de la souche de *Klebsiella pneumoniae* (K2) (PP).

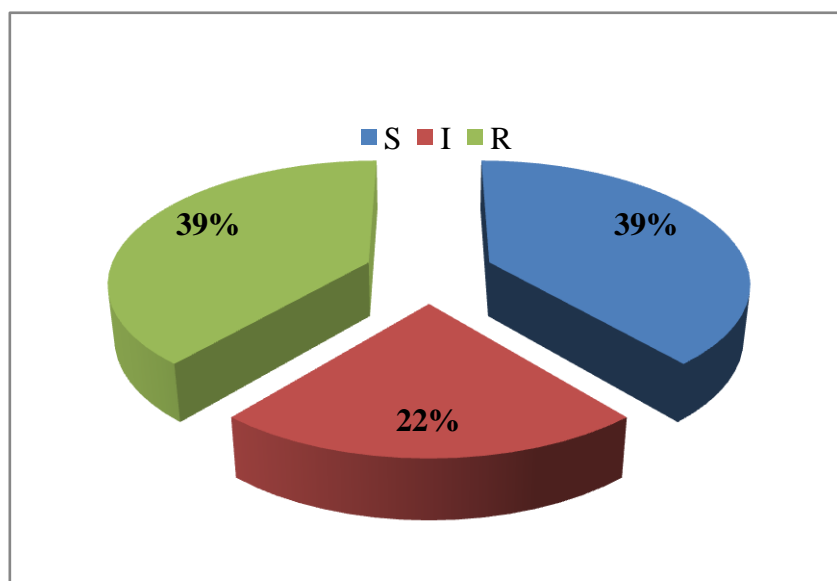


Figure 25 : Taux de résistance de *Klebsiella pneumoniae* (K2).

La souche de *Klebsiella pneumoniae* (K2) identifiée est sensible à 39% aux antibiotiques testés tels que : la Chloramphenicole, la Cefoxitine, Gentamicine, Vancomycine, Fosfomycine, Amoxiciline, Amikacine et elle présente une résistance intermédiaire de 22% à la Tetracycline, Erythromycine, Colistine, Kanamycine et elle présente aussi une résistance de 39% pour le reste des antibiotiques.

2.1.2. Identification des *Pseudomonas*

2.1.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Le tableau ci-après présente les résultats de l'antibiogramme pour la souche de *Pseudomonas aeruginosa* (P1).

Tableau 14: Résultat de l'antibiogramme pour *Pseudomonas aeruginosa* dans le Paillasse (P1).

Antibiotique	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Diamètre	00	18	00	00	30	14	00	00	00	20	17	00	00	15	17	00	00	29
Catégorie Clinique	R	I	R	R	S	I	R	R	R	S	I	R	R	I	S	R	R	S

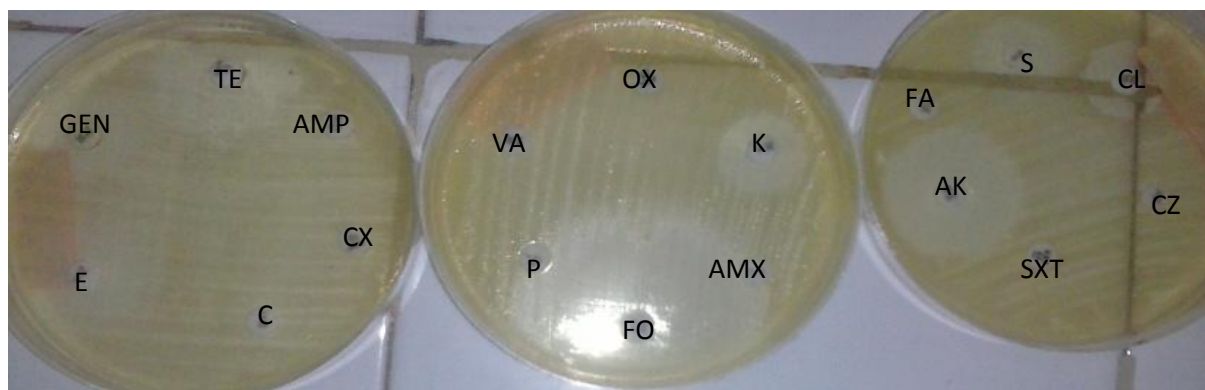


Figure 26 : Résultat de l'antibiogramme de la souche de *Pseudomonas aeruginosa* (P1) (PP).

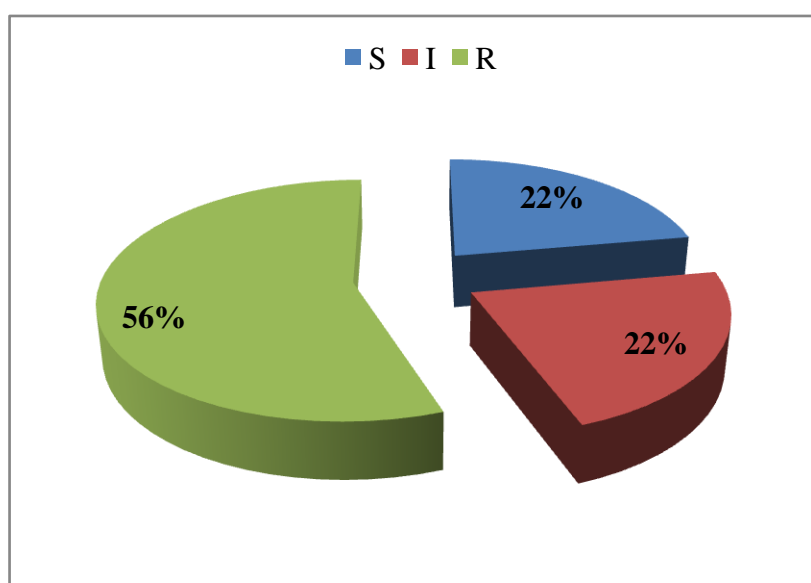


Figure 27 : Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* (P1).

La souche de *Pseudomonas aeruginosa* (P1) identifiée est sensible à 22% aux antibiotiques testés tels que : la Gentamicine, Fosfomycine, Amikacine, Colistine et elle présente une résistance intermédiaire de 22% à la Tétracycline, Erythromycine, Kanamycine, Streptomycine et elle présente aussi une résistance de 56% pour les autres antibiotiques.

2.1.3. Les Staphylocoques

2.1.3.1. *Staphylococcus aureus*

Les tableaux ci-après présentent les résultats de l'antibiogramme pour les souches de *Staphylococcus aureus* dans le Masque de bébé L et le Lit.

Tableau 15: Résultat de l'antibiogramme pour *Staphylococcus aureus* dans le masque de bébé (S2).

Antibiotique	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Diamètre	30	27	31	24	25	23	22	30	26	24	32	20	21	31	15	21	23	38
Catégorie Clinique	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	R	S

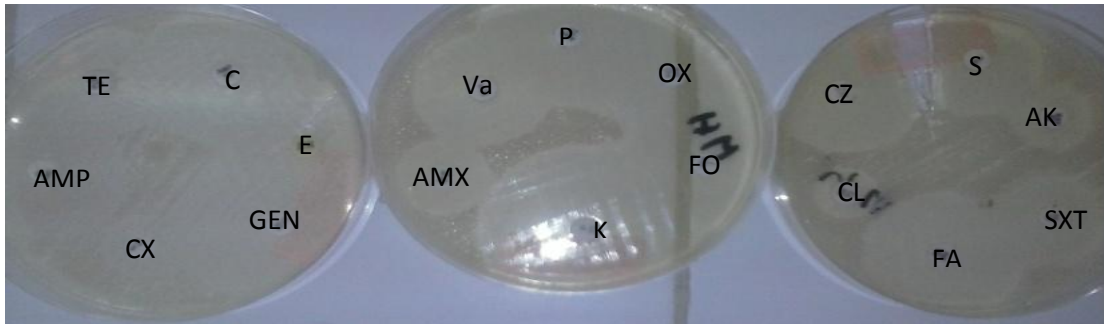


Figure 28 : Résultat de l'antibiogramme de la souche de *Staphylococcus aureus* (S2) (PP).

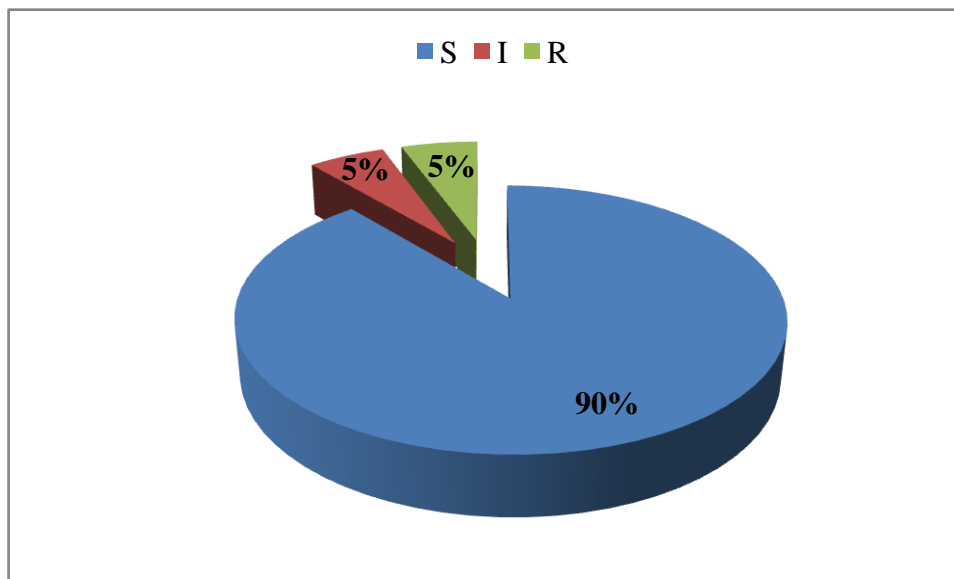


Figure 29 : Taux de résistance de *Staphylococcus aureus* (S2).

La souche de *Staphylococcus aureus* (S2) identifiée est résistante à 5% aux antibiotiques testés tels que : l'Acide Fusidique et elle présente une résistance intermédiaire de 5% à la Colistine et elle est sensible à 90% pour les autres antibiotiques.

NB : Photos personnelles

Tableau 16: Résultat de l’antibiogramme pour *Staphylococcus aureus* dans le Lit (S4).

Antibiotique	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Diamètre	24	26	23	23	19	28	23	27	29	18	20	26	22	32	13	28	34	32
Catégorie Clinique	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S

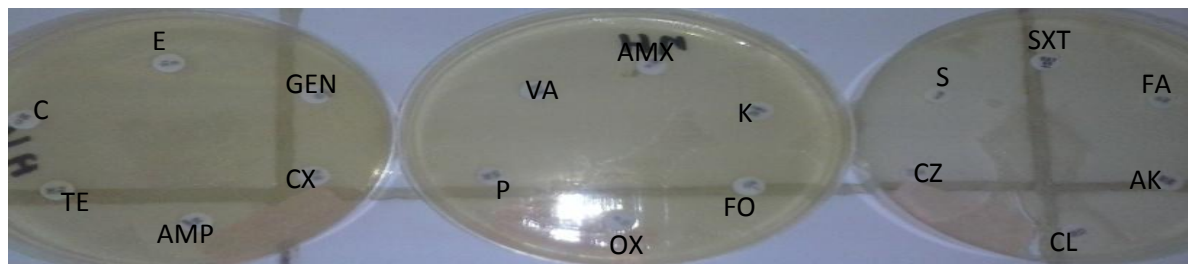


Figure 30 : Résultat de l’antibiogramme de la souche de *Staphylococcus aureus* (S4) (PP).

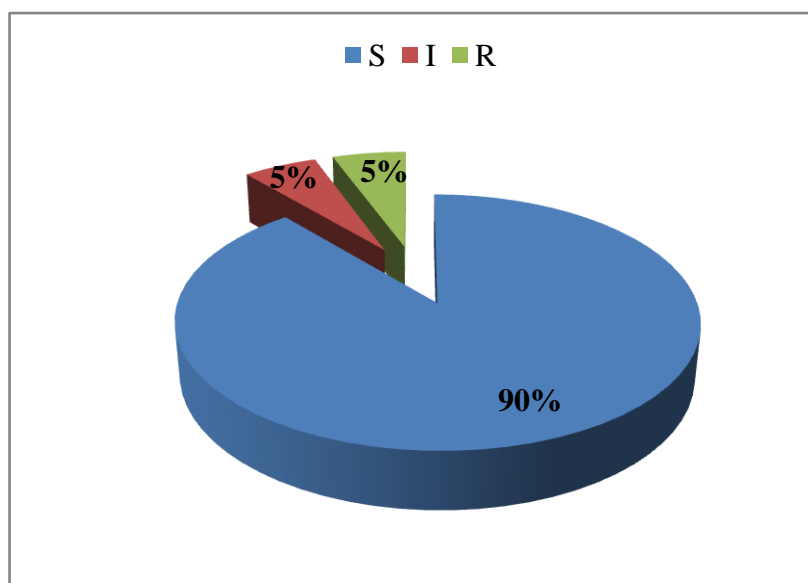


Figure 31: Taux de résistance de *Staphylococcus aureus* (S4).

La souche de *Staphylococcus aureus* (S2) identifiée est résistante à 5% aux antibiotiques testés tels que : la Ampicillineet elle présente une résistance intermédiaire de 5% à la Colistine et elle est sensible à 90% pour les autres antibiotiques.

2.1.3.1. *Staphylococcus lentus*

Les tableaux ci-après présents les résultats de l’antibiogramme pour les souches de *Staphylococcus lentus* dans le Charriot et Matelas.

Tableau 17: Résultat de l'antibiogramme pour *Staphylococcus lentus* dans le Charriot (S1).

Antibiotique	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Diamètre	25	30	00	00	20	18	30	00	00	27	00	00	00	29	13	00	12	27
Catégorie Clinique	S	S	R	R	S	R	S	R	R	S	R	R	R	S	I	R	R	S

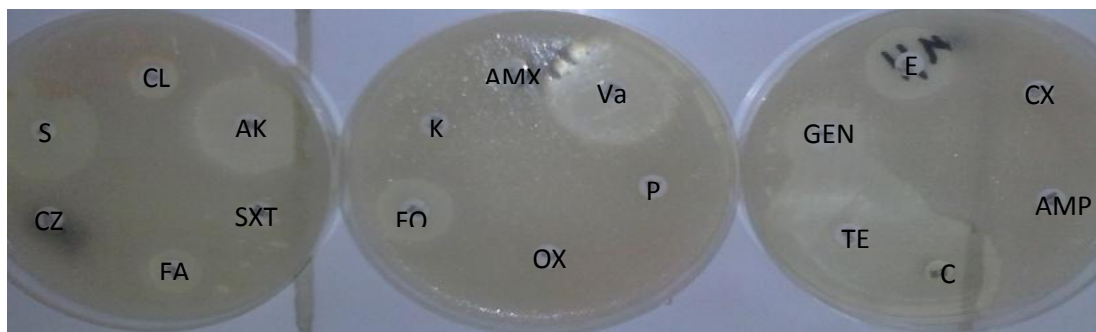


Figure 32 : Résultat de l'antibiogramme de la souche de *Staphylococcus lentus* (S1) (PP).

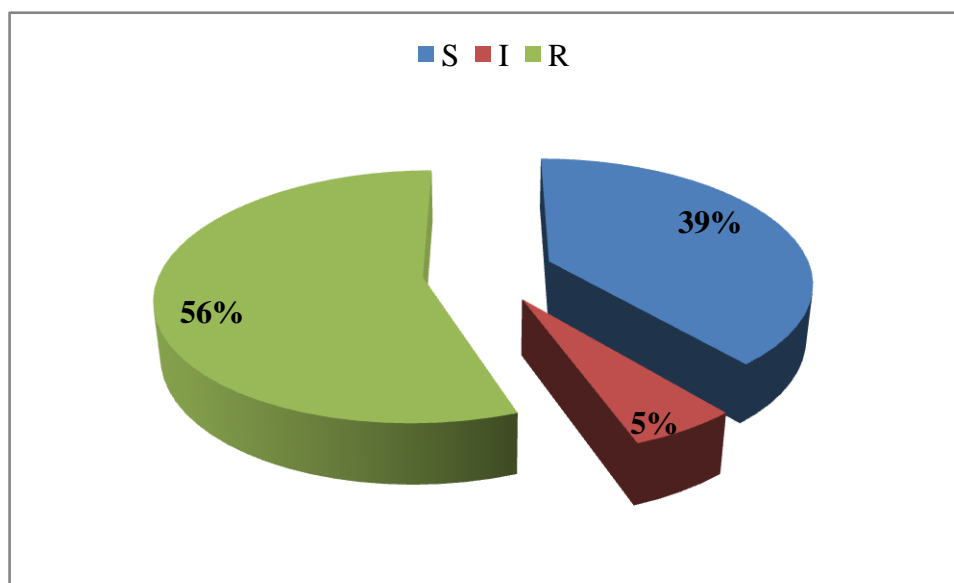


Figure 33 : Taux de résistance de *Staphylococcus lentus* (S1).

La souche de *Staphylococcus lentus* (S1) identifiée est sensible à 39% aux antibiotiques testés tels que : la Chloramphenicole, Tétracycline, Gentamicine, Vancomycine, Fosfomycine, Streptomycine, Amikacine et elle présente une résistance intermédiaire de 5% à la Colistine et elle présente aussi une résistance de 56% pour les autres antibiotiques.

Tableau 18: Résultat de l'antibiogramme pour *Staphylococcus lentus* dans le Matelas (S3).

Antibiotique	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Diamètre	25	26	00	00	35	19	21	26	00	19	22	21	00	25	18	32	16	24
Catégorie Clinique	S	S	R	R	S	I	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	R	S

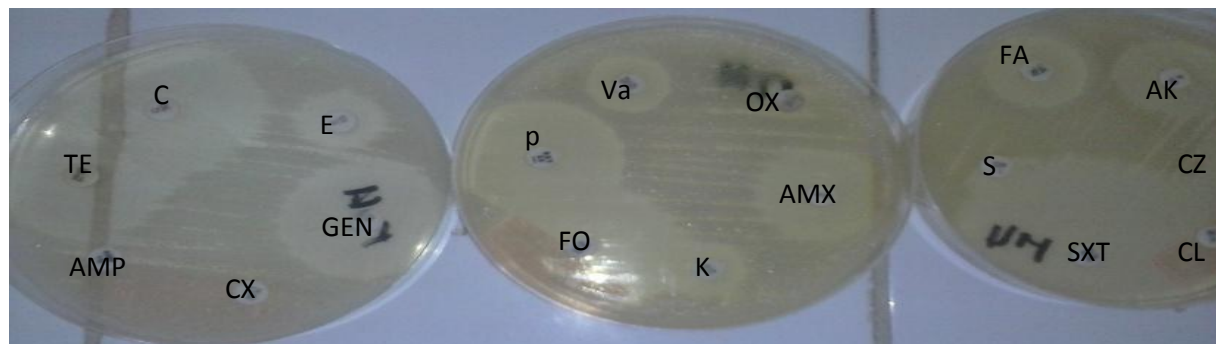


Figure 34 : Résultat de l'antibiogramme de la souche du *Staphylococcus lentus* (S3) (PP).

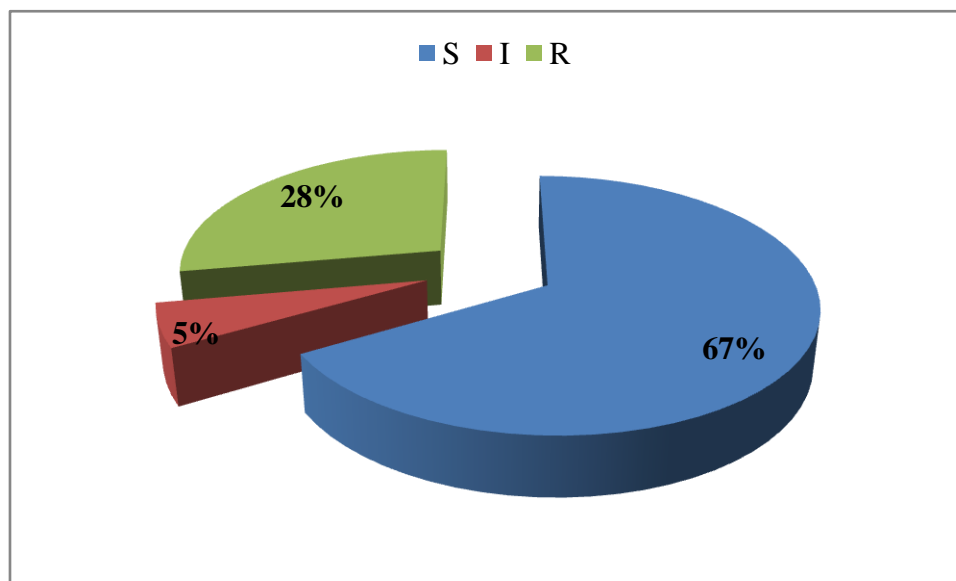


Figure 35 : Taux de résistance de *Staphylococcus lentus* (S3).

La souche de *Staphylococcus lentus* (S3) identifiée est résistante à 28% aux antibiotiques testés tels que : Ampicilline, Cefoxitine, Oxacilline, Cefazoline, Acide Fusidique et elle présente une résistance intermédiaire de 5% à la Erythromycine et elle présente aussi une sensibilité de 67% pour les autres antibiotiques.

2.1.4. Streptocoque

2.1.4.1. *Lactococcus cremoris*

Les tableaux ci-après présentent les résultats de l'antibiogramme pour les souches de *Lactococcus cremoris* dans le Masque de bébé, Matelas et le Lit.

Tableau 19: Résultat de l'antibiogramme pour *Lactococcus cremoris* dans le Masque de bébé(L1).

Antibiotique	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Diamètre	22	19	20	23	19	24	18	22	21	28	16	20	21	15	18	21	18	24
Catégorie Clinique	S	R	I	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S

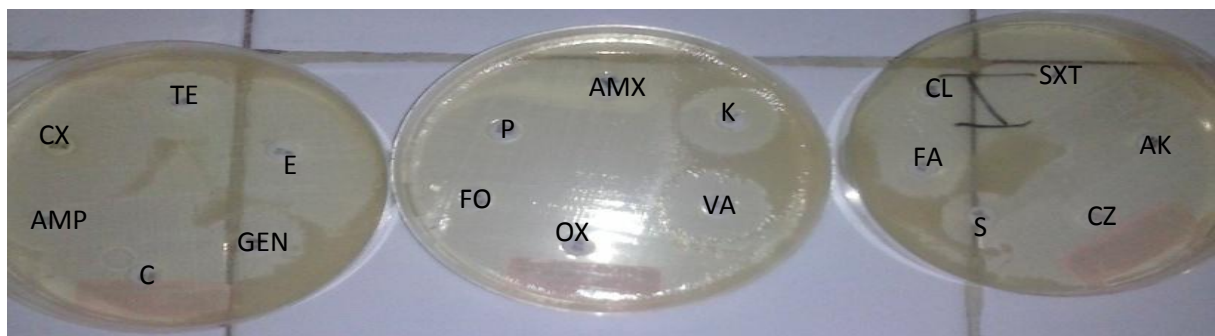


Figure 36 : Résultat de l'antibiogramme de la souche du *Lactococcus cremoris* (L1) (PP).

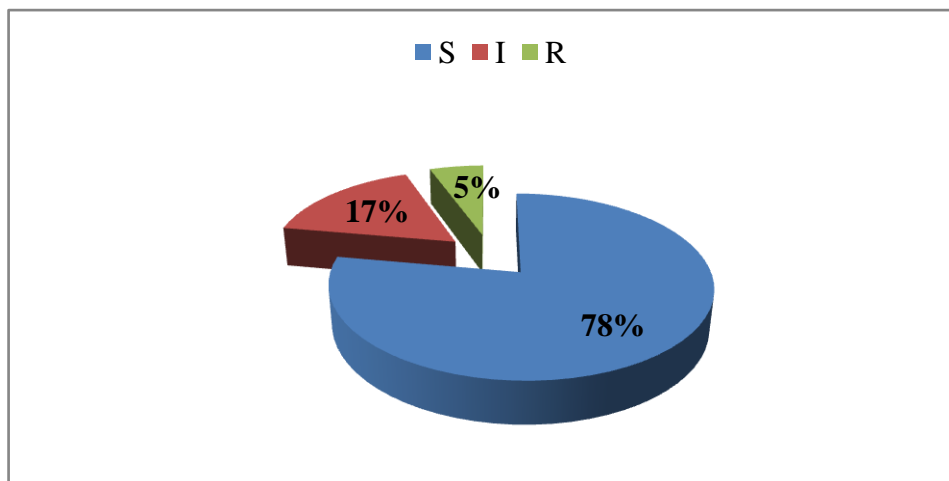


Figure 37 : Taux de résistance de *Lactococcus cremoris* (L1).

La souche de *Lactococcus cremoris* (L1) identifiée est résistante à 5% aux antibiotiques testés tels que : Tétracycline et elle présente une résistance intermédiaire de 17% à la Ampicilline, Penicilline, Colistine et elle présente aussi une sensibilité de 78% pour les autres antibiotiques.

Tableau 20: Résultat de l'antibiogramme pour *Lactococcus cremoris* dans le Matelas (L2).

Antibiotique	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Diamètre	30	25	18	20	19	00	28	23	16	29	30	16	21	17	11	22	16	27
Catégorie Clinique	S	S	R	S	S	R	S	I	I	S	S	I	S	S	R	S	I	S

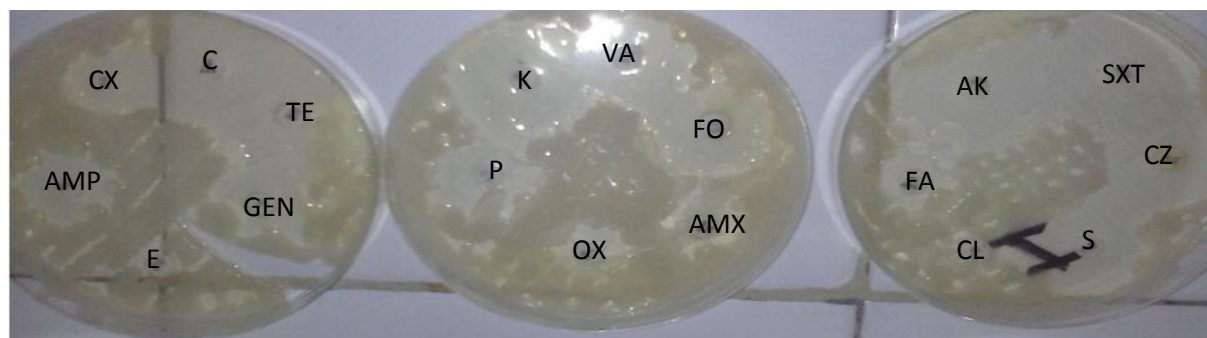


Figure 38 : Résultat de l'antibiogramme de la souche du *Lactococcus cremoris* (L2) (PP).

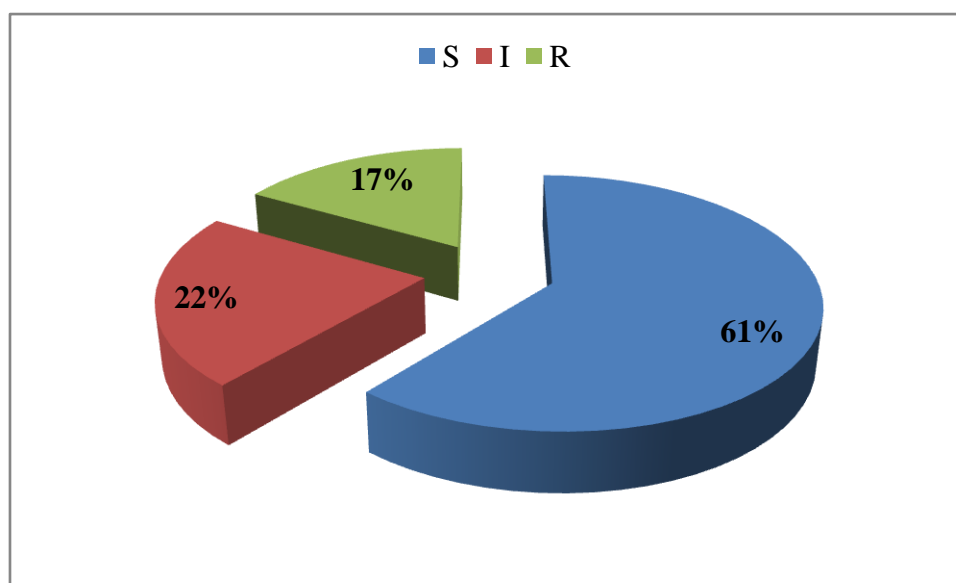


Figure 39 : Taux de résistance de *Lactococcus cremoris* (L2).

La souche de *Lactococcus cremoris* (L2) identifiée est résistante à 17% aux antibiotiques testés tels que : Ampicilline, Erythromycine, Colistine et elle présente une résistance intermédiaire de 22% à la Penicilline, Oxacilline, Amoxyciline, Acide Fusidique et elle présente aussi une sensibilité de 61% pour les autres antibiotiques.

Tableau 21: Résultat de l'antibiogramme pour *Lactococcus cremoris* dans le Lit (L3).

Antibiotique	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Diamètre	22	29	00	29	34	00	24	14	17	30	30	18	14	18	00	00	20	34
Catégorie Clinique	S	S	R	S	S	R	S	R	I	S	S	I	R	S	R	R	S	S

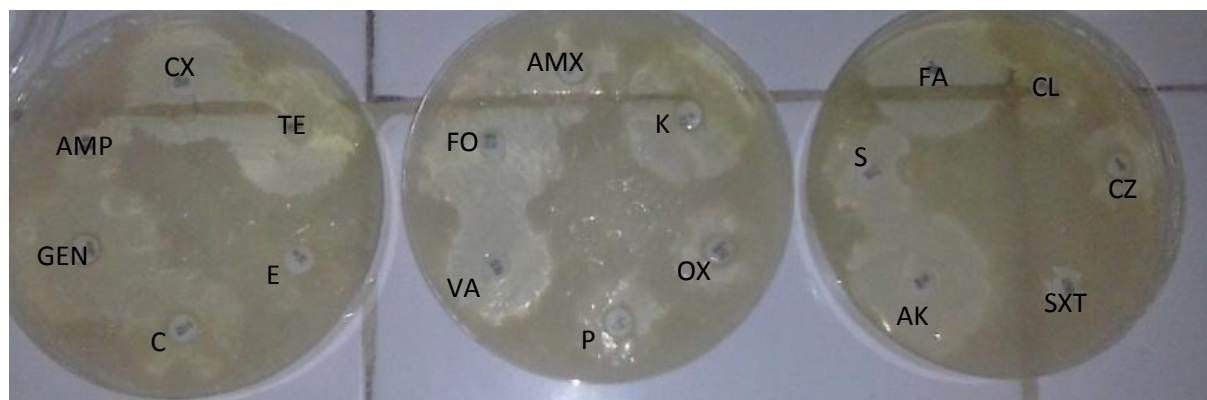


Figure 40 : Résultat de l'antibiogramme de la souche du *Lactococcus cremoris* (L3) (PP).

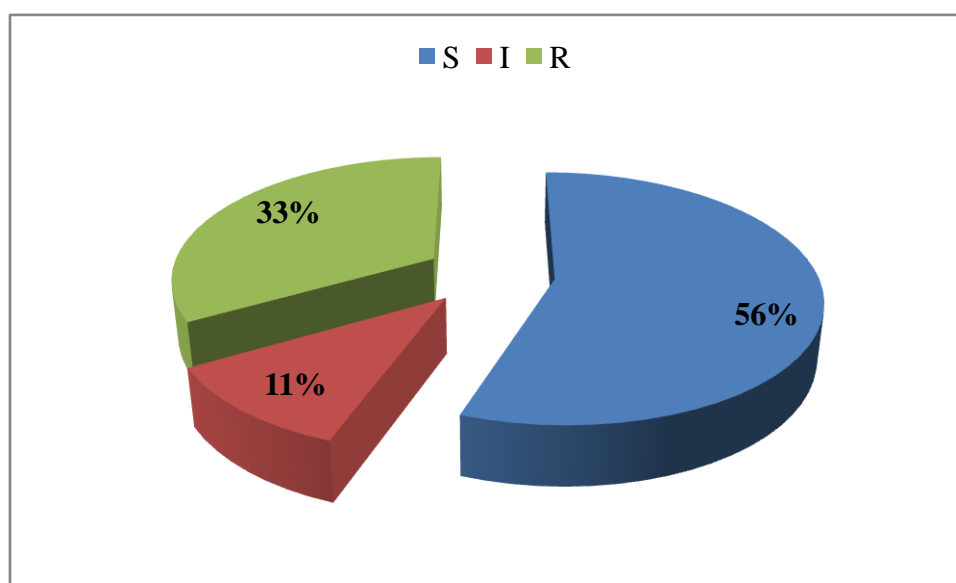


Figure 41: Taux de résistance de *Lactococcus cremoris* (L3).

La souche de *Lactococcus cremoris* (L3) identifiée est résistante à 33% aux antibiotiques testés tels que : Ampicilline, Erythromycine, Penicilline, Cefozaline, Colistine, Sulphametho-Oxazole/Triméthoprim et elle présente une résistance intermédiaire de 11% à la, Oxacilline, Amoxyciline, Acide Fusidique et elle présente aussi une sensibilité de 56% pour les autres antibiotiques.

Conclusion

Ce présent travail a été présenté en vue de la réalisation d'un mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de master sur la résistance des bactéries aux antibiotiques dans les milieux hospitaliers. Le but voulu à travers la réalisation de cette étude consiste à identifier les bactéries pathogènes impliquées dans les infections nosocomiales et l'évaluation de leurs antibiorésistances.

En effet, dans cette contribution nous avons déterminés plusieurs espèces bactériennes : *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. lentus* et *Lactococcus cremoris*, qui sont bien désignées comme des agents cliniques et épidémiologiques. L'identification de ces bactéries par les méthodes conventionnelles a permis de confirmer la pureté de ces souches et d'étudier leurs antibiorésistance par la méthode de diffusion sur la gélose Muller Hinton.

Sous un autre angle, nous avons étudié la résistance aux antibiotiques de ces souches bactériennes à plusieurs antibiotiques. Nos résultats ont montré qu'en plus de leur résistance naturelle toutes les souches étudiées présentent une résistance acquise au moins à un antibiotique testé.















Aussi, au vu de la propagation du phénomène de résistance et du nombre limité d'antibiotiques en cours de développement, la découverte de nouveaux agents antibactériens, est devenue plus qu'indispensable. Pour être innovants et contourner les mécanismes de résistance bactériens, les antibiotiques de demain devront viser de nouvelles « cibles » d'action chez les bactéries. Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles apparaît comme des plus prometteuses car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives.

En perspective, il serait préférable de :

- Etudier une population bactérienne plus importante, pendant une période plus longue.
- Surveiller les différentes pathologies survenues surtout chez les patients à risque dans les services à haute prévalence par une étude épidémiologique.
- Effectuer le génotypage des souches à résistance acquise pour avoir une image plus exacte de la situation épidémiologique.
- Mettre en place un réseau de surveillance des bactéries antibiorésistantes.

Références bibliographiques






1. Livre

-  **Afset JE., Maeland JA. (2001).** [Erythromycin and ciprofloxacin resistant *Campylobacter jejuni*]. *Tidsskr. Nor. Laegeforen.* 121: 2152-2154.
-  **Alekshun MN. and Levy SB. (2007).** Molecular mechanism of antibacterial multidrug resistance. *Cell.* **128**: 1037-1050.
-  **Amira W. (2008).** Degré de contamination de l'eau de la mare Redjla (Tahar) par les nitrates : Détermination de la qualité physicochimique et microbiologique de l'eau. Mémoire de Magister. Université de Jijel.
-  **Baudrand H. (1984).** Pneumopathie communautaire abcédée à *Klebsiella pneumoniae*. Revue des maladies respiratoires. Masson, Paris, France.
-  **Boras A., Bozinovic D., Tenover FC., Popovic T. (2001).** First report of *Neisseria meningitidis* intermediately resistant to penicillin in Croatia. *J. Clin. Microbiol.* 39: 823.
-  **Boulahbal F. (2002).** Microbiologie S1 clinique. Office des publications universitaires. Alger. P : 126-145 ,150 -166, 167-173.
-  **Boulahbal F. (2009).** Manuel de Microbiologie à l'usage des étudiants en 3 années de Médecines. Edition : 1.04.5042 Office des Publications Universitaires 10-2009 .P 91.
-  **Bourdon TL. et Marchal N. (1973).** Techniques Bactériologiques. *Dion.* 335p.
-  **Brucker Gilles. (Novembre 1998).** Infections nosocomiales et environnement hospitalier. Page : 6-12-22-23-24.
-  **Cattoir V. (2004).** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie.*52(10) P : 607-616.
-  **Cavallo JD., Plesiat P., Couetdie G., F.Leb Blanc. et Fabre R. (2002).** Mechanisme of β -lactam resistance in *pseudomonase aeruginosa*: prevalence of OprM-overproducing strains in a French multicentre study .J antimicrobchemother.P :1039.
-  **Chaalal W. (2013).** Occurrence de profile d'antibiorésistance. Des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires. Mémoire de magister. Université d'Es-Senia d'Oran.P: 24
-  **Chaker H. (2006).** Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane.Thèse de doctorat .Grenoble .P :3.
-  **Cosgrove SE., Qi Y., Kaye KS., Harbarth S., Karchmer AW., Carmeli Y. (2005).** The impact of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia on patient outcomes: mortality, length of stay, and hospital charges. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 26: 166-174.

- 📖 **Courvaline P. et Leclercq R. (2012).** AntibioGramme. 3^{ème} édition. ESKA. Paris. P: 48, 49.
- 📖 **Coykendall A.L., Wesbecker P.M., Gustafson K.B. (1987).** Genetic similarities among four species of *Streptococcus*: *S. milleri*, *S. anginosus*, *S. constellatus*, and *S. intermedius*. *Int J Syst Bacteriol*, 37: 222-228.
- 📖 **Crum NF. (2005).** The emergence of severe, community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Scand. J. Infect. Dis.* 37: 651-656.
- 📖 **Delarras C. et Trebaol B. (2003).** Surveillance Sanitaire Et Microbiologique Des Eaux: Réglementation - Prélèvements - Analyses. *TEC & DOC.* 269p.
- 📖 **Djebbari N., Boudjadi Z. et Bensuilah M. (2009).** L'infestation de l'anguille *Anguilla anguilla* par le parasite + *Anguillicolacrossus 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 marins et littoraux. Annaba. P : 45-50.
- 📖 **Dolarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Tec et Doc. Paris .P : 289,476.
- 📖 **Duval J., Soussy C. J. (1990).** Antibiothérapie. Masson, 4^{ème} édition.
- 📖 **Faucher JL., JAEN-Loup. (2002).** Bactériologie générale et médicale. page :199,214-239,244-249-252-260-298-306-307.
- 📖 **Fontaine M. (1992).** Vade mecum du vétérinaire, formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène, 15^{ème} édition, 106-119. Volume 1.
- 📖 **Giot S., Gomila H., Le Heurt M., Pividori I. (2002).** Nouveau cahier de l'infirmier (hygiène). 2^{ème} ed, page : 9-20-25-73-53
- 📖 **Goossens H., Guillemot D., Ferech M, Schlemmer B., Costers M., van Breda M., Baker LJ., Cars O., Davey PG. (2006)** National campaigns to improve antibiotic use. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 62: 373-379.
- 📖 **Guinoiseau E. (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat. Université de Corse-Pasquale Paoli.
- 📖 **Higgins PG., Fluit AC., Milatovic D., Verho et J., Schmitz FJ. (2003).** Mutation in GyrA, ParC, Mex, and NfxB in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agent.* 21: 490-13.

- 📖 **Joffin J JN. et Leyrol G. (2001).** Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques. 3^{ème} éditions. CRDP d'Aquitaine. 320p
- 📖 **Lahlou A I., Salord H., Gille Y., Roure C., Tigaud S., Bajou T., Ratbi N., Kassmi H-L. (2008).** *Pseudomonas aeruginosa* et résistance isolée à l'imipénème: clone émergent en milieu hospitalier. Les techniques de laboratoire. 11: 4-9.
- 📖 **Leminor. et Veron. (1989).** Bactériologie Médicale. Flammarion Médecine Sciences. 845p.
- 📖 **Liazid A. (2012).** Eude de la résistance aux antibiotique des bacteries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de magister. Université Abou BekrBelkaid-Tlemcen. P : 12-17.
- 📖 **Maltezou HC., Giamarellou H. (2006)** Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 27: 87-96.
- 📖 **Mammeri H. (2013).** Mode d'action des antibiotiques. Service de bactériologie, CHU Amiens.P : 2.
- 📖 **Maragakis LL., Perencevich EN, Cosgrove SE. (2008)** Clinical and economic burden of antimicrobial resistance. *Expert. Rev. Anti. Infect. There.* 6: 751-763.
- 📖 **Maur N. (1990)** .Vade-mecum des antibiotiques, 5^{ème} édition, page 13-73.
- 📖 **Mérens A., Aurélie S. (2010).** Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones en 2010. La résistance aux anti-infectieux. Revue francophone des laboratoires.422 P:33-41.
- 📖 **Meziani M. (2012).** Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas .Mémoire de Magister .Université Mentori.Constantine P : 30 ,32 Microbial. Infect. 10:12-13.
- 📖 **Moudewhenou E. M. (2000).** Place des germes non exigeant et les bactéries anaérobies dans les infections respiratoires basses à Dakar. The Pharm, Dakar, n° 90.
- 📖 **Nancy.** Année universitaire 2005/20 *Droit Privé* faculté de medecine www.memoireonline.com.
- 📖 **Nauciel C., Masson P. (2000)**-Bactériologie médicale .page : 83-86-65,68-125-203
- 📖 **Noble WC., Virani Z., Cree RG. (1992)** Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 72: 195-198.

- 📖 **Perez-Trallero E., Vicente D., Montes M. (2001).** High proportion of pharyngeal carriers of commensal streptococci resistant to erythromycin in Spanish adults. *Antimicrobial Chemother*, 48 (2): 225-9.
- 📖 **Philippon A. et Arlet G. (2006).** β -actamin de bacille à Gram négatif : le mouvement perpétuel. *Annales de biologie clinique*. 64 (1) P : 37-51.
- 📖 **Philippon. et Arlet. (2006).** β -Lactamases de bacilles à Gram négatif: le mouvement perpétuel. *Annales de Biologie Clinique*. Volume 64, Revue générale. 1: 37-51.
- 📖 **Pilet C., JL. Bourdon., b. toma., n. marchal., c. balbastre. (1987).** Bactériologie médicale et vétérinaire page : 38-53-55-152-166-167-190-170-171-230-248.
- 📖 **Poirel Laurent. (2006).** Nouveaux mécanismes de résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* : quelles perspectives. XVIIe Congrès nationale de la SFHH-Nantes. P 25.
- 📖 **Poole K. (2004).** Efflux mediated multiresistance in Gram-negatif bacteria. *Clin*.
- 📖 **Prescott LM., Harley JP., Klein DA. (1995)** *Microbiologie*. De Boeck ed. p 1014.
- 📖 **Prescott W., Harley S. et Klein W. (2010).** *Microbiologie*. 3eme édition. deboek. Bruxelles P : 843, 845.
- 📖 **Rahal K. (2013).** Les antibiotiques .Office des publications universitaires .Alger.P :15, 47, 79, 80, 101,133.
- 📖 **Rebiahi S. (2012).** Caractérisation de souches des *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveay du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen.P :3, 4, 10,11.
- 📖 **Saito K., Yoneyama H., Nakae T. (1999).** nalB-type mutation causing the overexpression of the MexAB-OprM efflux pump are located in the mexR gene of the *Pseudomonas aeruginosa* . *FEMS Microbiology Letters*. 179: 67-72.
- 📖 **Seck R. (2005).** Résistance des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pnemoniae* isolées d'infections urinaires. Thèse de doctorat. Université Cheikh AntaDiop de Dakar. P : 22-27.
- 📖 **Singleton P. (2008).** Bactériologie de la médecin, la biologie et les biotechnologies. DUNOD. Belgique. P :418.
- 📖 **Sohidul I. (2008).** Mécanisme de résistance aux antibiotiques dans chromosomiques *Pseudomonase aerogenosa* et *Neisseria gonorrhoeae*. Thèse de doctorat. P : 5.
- 📖 **Walsh T-R., Toleman -A., Poirel L., Nordmann P. (2005).** The quiet before the storm? *Clin Microbial Rev*. 39: 757-62.

-  **Weldhagen G-F., Poirel L., Nordmann P. (2003).** Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agent Chemother.* 47: 2385-92.
-  **Yagupsky P. (2006)** Selection of antibiotic-resistant pathogens in the community. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 25: 974-976.
-  **Yétérian E. (2010).** Bases moléculaires de la maturation et de la sécrétion de la pyoverdine chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat .Starsbourg .P :11.
-  **Yoneyama H., Ocaktan A., Tsuda M., Nakae T. (1997).** The role of mex6 gene products in antibiotic extrusion in *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochemical and Biophysical Research Communication.* 233:611-618.
-  **Zahar JR. et Moumile K. (2013).** *Escherichia coli*, définition , épidémiologie des résistances. Service de microbiologie hygiène, CHU Necker Enfants malades.p :1.

2. Sites web

- [01] <http://www.creapharma.ch/antibiotique.htm>(Consulter le 18/04/2016 à 10:25).
- [02] <http://www.sante.gouv.fr/les-infections-nosocomiales-questions-reponses.html>(Consulter le 25/04/2016 à 14:00h).
- [03] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/fr/>(Consulter le 18/04/2016 à 11 :22h).
- [04] Etude /cour/ infectieux/ infection. Nosocomiale. Php. Référence : 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des IN, CTIN 1999.
- [05] <https://www.frm.org/recherche-medecale/infections-nosocomiales> (Consulter le 15/02/2016 à 17:25h).
- [06] www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/MODULE7/.../txt_pour_pdf.htm (Consulter le 13/02/2016 à 15:35h).
- [07] http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/cours_dcem1/pseudomonas.htm (Consulter le 28/03/2016 à 12:33h).
- [08] http://www.sfar.org/acta/dossier/archives/ca98/html/ca98_39/98_039.htm (Consulter le 28/03/2016).
- [09] <http://www.technoscience.net/?onglet=glossaire&definition=1039> (Consulter le 03/03/2016 à 10 :15h).

- [10] <http://www.123bio.net/cours/antibio/modeaction.html>(Consulter le 04/04/2016 à 13:05h).
- [11]<http://lesantibiotiques-lapenicilline.emonsite.com/pages/iilefonctionnement.html>
(Consulter le 04/04/2016 à 13:30 h).
- [12] <http://www.pharmaetudes.com/resources/cours%20internat/section5/25macrolides-et-apparentes.pdf> (Consulter le 12/04/2016 à10:25).

Résumé

Résumé

Nous avons étudié la résistance aux antibiotiques chez les bactéries prélevées dans le milieu hospitalier. Dans notre étude nous avons réalisés cinq prélèvements dans l'hôpital de «Elamir Abedelkader» à Oued Zenati durant le mois de février et de mars.

La présente étude nous a permis d'identifier les espèces bactériens suivant : *Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus* et *Lactococcus cremoris*, a fin d'étudier leurs résistances à certains antibiotiques utilisés en médecine humaine.

D'après les résultats de l'évaluation de l'antibiorésistance obtenus, la majorité des bactéries isolées représente une résistance acquise à un ou plusieurs antibiotiques testés. Ces résultats mettent en évidence que le milieu hospitalier est un réservoir des microorganismes potentiellement pathogènes pour l'homme et responsable des infections nosocomiales qui représente un risque pour la santé publique.

Mots clés :

Infection nosocomiale, résistance aux antibiotiques, milieu hospitalier, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Abstract

We studied the antibiotic resistance in bacteria taken from the hospital. In our study we have made ten samples in the hospital "Elamir Abedelkader" at Oued Zenati city during the month of February and March.

This study allowed us to identify the following bacterial species: *Klebsiella oxytoca* and *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus* and *Lactococcus cremoris*, a fine study their resistance to eighteen antibiotics used in human medicine.

From the results of the evaluation of antibiotic resistance obtained, the majority of bacteria isolated represent an acquired resistance to one or more antibiotics tested. These results demonstrate that the hospital is a reservoir of potentially pathogenic microorganisms to humans and responsible for nosocomial infections that pose a risk to public health.

Keywords:

Nosocomial infection, antibiotic resistance, hospital, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

المخلص

تتوزع دراستنا على تقييم قدرة بعض الانواع البكتيرية الموجودة في المستشفيات على مقاومة المضادات الحيوية, حيث تمت هذه الدراسة خلال الفترة الممتدة ما بين شهري فيفري و مارس و ذلك بأخذ خمسة عينات خلال كل شهر بمجموع عشرة عينات مأخوذة من مستشفى الامير عبد القادر الكائن مقره بمدينة واد زناتي ولاية قلمة.

سمحت هذه الدراسة في مرحلة اولى بتحديد الأنواع البكتيرية التالية: *Klebsiella oxytoca et Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus lentus* و *Lactococcus cremoris*. و في مرحلة ثانية قمنا بتقييم قدرة هذه الانواع البكتيرية على مقاومة بعض المضادات الحيوية المستخدمة في الطب البشري بمجموع ثمانية عشرة مضاد حيوي.

من خلال نتائج تقييم المقاومة للمضادات الحيوية التي تم الحصول عليها خلال فترة الدراسة، يمكننا القول بان غالبية الأنواع البكتيري المعزولة تظهر مقاومة مكتسبة إلى واحد أو أكثر من المضادات الحيوية التي تم اختبارها.

هذه النتائج تسلط الضوء على دور المستشفيات في تخزين ونقل الكائنات الحية الدقيقة الممرضة والمسؤولة عن عدوى المستشفيات وهي بذلك تشكل خطرا جسيما على الصحة العامة.

الكلمات المفتاحية عدوى المستشفيات، مقاومة المضادات الحيوية، الوسط الاستشفائي، المكورات العنقودية الذهبية والزائفة الزنجارية.

Annexes

Tableau 01: Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20E

Test	Groupements active	Réactions/ Enzymes	Résultats	
ONPG	Ortho-nitro-phényle-B-D- Galactopyranoside	Beta-galactosidase	Positive	Négative
			incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine désahydrolase	Jaune	Rouge/orange
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
 CIT 	Sodium citrate	Utilisation de citrate	vert	Bleu-ver/orange
H₂S	Thiosulfate de sodium	Production de H ₂ S	incolore	Noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orange
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Jaune	Marron
IND	Tryptophane	Production d'indole	incolore	Rose
 VP 	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1+ VP2	
			Incolore	Rose/rouge
 GEL 	Gélatine emprisonnant de charbon	Gélatinase	Pas de diffusion de pigment noir	Diffusion de pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune/vert jaune
MAN	Mannitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	Sucrose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	Mlebiose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
NO₃-NO₂	GLU tube	Production de NO ₂ réduction N ₂ gaz	NIT 1+NIT 2, 2-3 min	
			Jaune	Rouge

Tableau 02 : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api Stept

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / jusqu'à 10 mn	
			Incolore	Rose-rouge
HIP	Acide hippurique	Hydrolyse	NIN / jusqu'à 10 mn	
			Incolore/ Bleu pâle	Bleu foncé/violet
ESC	Esculine Citrate de fer	Hydrolyse β -glucosidase	Incolore/jaune pâle	Noir/gris
PYRA	Acide pyroglutamique- β -naphtylamide	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 mn	
			Incolore/orange pâle	Orange
α GAL	6-bromo-2-naphtyl- α D-galactopyranoside	α -GALactosidase	Incolore	Violet
β GUR	Acide naphthol-ASBI-glucuronique	β -GIUcuRonidase	Incolore	Bleu
β GAL	2-naphtyl- β D-galactopyranoside	β -GALactosidase	Incolore ou violet pâle	Violet
PAL	2-naphtyl phosphate	Phosphatase Alcaline	Incolore ou violet pâle	Violet
LAP	L-leucine- β -naphtylamide	Leucine AminoPeptidase	Incolore	Orange
ADH	L-arginine	Arginine DIHydrolase	Jaune	Rouge
RIB	D-ribose	Acidification	Orange/rouge	Jaune
ARA	L-arabinose			
MAN	D-mannitol			
SOR	D-sorbitol			
LAC	D-lactose			
TRE	D-tréhalose			
INU	Inuline			
RAF	d-raffinose			
AMD	Amidon			
GLYG	glycogène			

Tableau 03 : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20Staph

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats		
			Négatif	Positif	
0	Aucun	Témoin négatif	Rouge	-	
GLU	D-glucose	Témoin positif	Rouge	Jaune	
FRU	D-fructose	Acidification à partir du carbohydrate			
MNE	D-mannose				
MAL	Maltose				
LAC	Lactose				
TRE	D-tréhalose				
MAN	D-mannitol				
XLT	Xylitol				
MEL	D-melibiose				
NIT	Nitrate de potassium				Réduction des nitrates en nitrites
				Incolore/rose	Rouge
PAL	β -naphtyl ac.phosphate	Phosphatase alcaline	ZYM A + ZYM B / 10 mn		
			Jaune	Violet	
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl méthyl-carbonyl	VP 1 + VP 2 / 10 mn		
			Incolore/ rose	Violet/rose	
RAF	Raffinose	Acidification à partir du carbohydrate	Rouge	Jaune	
XYL	Xylose				
SAC	Saccharose				
MDG	α -méthyl-D- glucosamine				
NAG	N-acétyl-glucosamine				
ADH	Arginine				Arginine dihydrolase
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/violet	

Tableau 04 : Concentrations, diamètres critiques pour l'appréciation de la sensibilité/Résistance des antibiotiques à tester pour les bactéries Gram positive (CA-SFM, 2013).

ATB	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Charge du disque	30µg	10µg	10µg	30µg	10µg	15µg	30µg	10µl/6µg	1µg	200µg	30µg	25µg	30µg	10µg	10µg	1.25/23.75µg	10µg	30µg
	≥23	≥23	≥29	≥22	≥15	≥23	≥17	≥29	≥20	16	≥18	-	≥18	-	-	-	≥24	≥17
	-	20-22	-	-	13-14	14-22	-	-	-	13-15	14-17	-	15-17	-	-	-	-	15-17
<i>S. aureus</i>	R	<23	<21	<28	<21	<13	-	<28	-	<12	<13	-	<14	-	-	-	<24	<14
	S	≥18	≥22	≥29	≥25	≥18	>21	≥17	≥20	≥16	≥18	-	-	-	-	-	≥24	≥22
	I	-	20-21	-	-	-	19-20	-	-	13-15	14-17	-	-	-	-	-	-	20-21
<i>S. lentus</i>	R	<18	<19	<28	<25	<18	-	28	<20	<12	<13	-	-	-	-	-	<24	<19
	S	≥19	≥23	≥24	-	≥17	≥21	≥17	-	-	≥14	-	-	-	-	≥19	-	-
	I	-	21-22	-	-	-	19-20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. cremoris</i>	R	<19	<20	-	-	<11	<18	-	-	-	<10	-	-	<12	-	<16	-	-

Tableau 05 : Concentrations, diamètres critiques pour l'appréciation de la sensibilité/Résistance des antibiotiques à tester pour les bactéries Gram négative (CA-SFM, 2013).

AT	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
Charge du disque	30µg	10µg	10µg	30µg	10µg	15µg	30µg	10µl/60µg	1µg	200µg	30µg	25µg	30µg	10µg	10µg	1.25/23.75µg	10µg	30µg
	≥18	≥15	≥17	≥18	≥17	-	-	-	-	≥16	≥18	≥18	≥23	≥15	-	≥16	-	≥18
	13-17	12-14	14-16	15-17	15-16	-	-	-	-	13-15	14-17	14-17	20-22	12-14	-	11-15	-	16-17
Entérobactérie	R	<12	<11	<13	<14	-	-	-	-	<12	<13	<13	<19	<11	-	<10	-	<15
	S	≥18	≥19	-	-	≥15	-	-	-	>14	-	-	-	-	≥11	≥16	-	≥17
	I	15-18	15-18	-	-	13-14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11-15	-	15-16
<i>P. aeruginosa</i>	R	<12	<14	-	-	<12	-	-	-	<14	-	-	-	-	<10	<10	-	<15

Tableau 06 : Classification des principaux antibiotiques vétérinaires (Véronique, 2003).

Familles d'ATB	Mode d'action	Principaux groupes ou antibiotiques	Spectre (général)
Beta-lactamines	Inhibition de la synthèse du peptidoglycane	Groupe de la pénicilline G, Pénicillines anti-staphylococciques (méthicilline, oxacilline), Amidinopénicillines, Monobactams Céphalosporines de 1 ^{ère} génération (cephalotin)	Étroit
		Aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline), Carboxypénicillines, Uréido-pénicillines, Penems et Carbapenems, Céphems et oxacéphems Céphalosporines de 2 ^{ème} (cefamandole, cefuroxime, cefoxitin) 3 ^{ème} (cefotaxime, ceftriaxone ceftazidime) et 4 ^{ème} (cefipime)	Large
Aminosides	Inhibition de la synthèse des protéines	Pénicillines-sulfones, Clavams ou oxapenams Amikacine, Apramycine, Isépanamicine, Streptomycine, Nétilmicine, Tobramicine, Gentamicine	+ B-lactamine Large
Acide fusidique	Inhibition de la synthèse des protéines	Acide fusidique	Étroit
Fosfomycine	Inhibition de la synthèse des peptidoglycane	Fosfomycine	Large
Glycopeptides	Inhibition de la synthèse du peptidoglycane	Teicoplanine, Vancamycine	Étroit
Lincosamides	Inhibition de la synthèse des protéines	Clindamycine, Lincomycine	Étroit
Macrolides et Kétoïdes	Inhibition de la synthèse des protéines	Erythromycine, Azithromycine, Dirithromycine, Clarithromycine Telithromycine	Étroit
Nitrofurans	Inhibition de la synthèse de l'ADN	Furaltadone, Furazolidone	Large
Phénicoles	Inhibition de la synthèse des protéines	Chloraphénicol	Large
Quinolones et fluorquinolone	Inhibition de la synthèse de l'ADN	Acide calidixique, Acide oxolinique, Acide pirimidique	Étroit
Sulfamides	Blocage de la synthèse de l'acide dihydrofolique	Ciprofloxacine, Enoxacine, Ofloxacine, Sparfloxacine	Large
		Sulfadiazine, Sulfadoxine, Sulfaméthoxydiazine, Sulfaméthoxazole	Large
Polypeptides	Action sur la membrane externe des Gram (-)	Polymyxine B, Colistine, Bacitracine, Tyrocidine	Étroit
Tétracyclines	Inhibition de la synthèse des protéines	Chlortétracycline, Doxycycline, Minocycline	Large
Rifamycines	Blocage de la synthèse des ARN messenger	Rifamycine SV , Rifaximine	Étroit
		Rifampicine	Large

