

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة 8 ماي 1945 - قالمة
Université 8 Mai 1945- Guelma

FACULTE DES SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE, SCIENCE DE LA TERRE
ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



MÉMOIRE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité: Microbiologie Appliquée

THEME :

**Ecologie bactérienne des infections nosocomiales : Surveillance de la
flore de surface au niveau de service d'infectiologie de l'hôpital Ibn
Zohr , Guelma**

Présenté par :

CHEFCHOUFI Hayem

LAMOURI Ghania

Devant le jury composé de :

Président : Mme. ABDAOUI Wissem (MAA)

Université de Guelma

Examineur : Mr. ROUABHIA Kamel (MAA)

Université de Guelma

Encadreur : Dr. GUEROUI Yassine (MCB)

Université de Guelma

Juin 2018

Remerciements

En tout premier lieu, nous remercions Allah, le tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté, patience, la santé et la force pour accomplir ce travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Nous remercions sincèrement, Le directeur de mémoire **M.GUEROUI Yacine**, Docteur à l'université de Guelma pour avoir accepté la charge de nous encadré.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude à **Mme. ABDAOUI Wissem**, d'avoir bien accepté*

*de présider ce jury et **Mr. ROUABHIA Kamel**, pour avoir exprimé son entière disponibilité*

à participer à ce jury et examiner ce mémoire.

Nos plus vifs remerciements vont à

Dr. DARDAR Djafar, Pharmacien Microbiologie et Médecin chef du laboratoire de bactériologie à l'hôpital Ibn Zohr, pour sa gentillesse et pour nous avoir proposé ce thème là et donné la chance de réaliser notre pratique de mémoire dans son laboratoire, pour avoir accepté de nous diriger patiemment, mais également pour nous avoir formé et guidé tout au long de notre travail pratique.

Nous remercions sincèrement et profondément

*Le Docteur **KHLIFA Bilal**, Médecin spécialiste microbiologie à Guelma pour sa gentillesse, ses conseils judicieux, son aide, son encouragement pour nous avoir complété notre travail sur ce thème là et sa patience à chaque fois avec nous.*

Nous tenons à remercier beaucoup, Mr. BOULFRIKHETE Ramzi, Chef service du laboratoire de bactériologie à Bouchegouf; ***Mme. TAHRAOUI Ouahiba***, ING. En génie biologie; ***Dr. Nisa***, Médecin généraliste à Constantine.

Nous remercions vivement Mme. BOUSSAADIA, Docteur à l'université de Guelma; ***Mr. HOUHAMDI Moussa***, Professeur à l'université de Guelma; ***Mr. BROUK Ramoul***, Médecin spécialiste microbiologie appliquée; ***Mr. AMARAMADI Ahmed***, microbiologiste et ***Mr. NIGRI Kamel*** Médecin spécialiste microbiologie; ***Mr. BENTORKI Ahmed Aimen***, Maitre-assistant à la faculté de médecine d'Annaba et Médecin chef du laboratoire de microbiologie à l'hôpital Dr Dorban (pont blanc) CHU Annaba.

*Nous désirons remercier de façon particulière le personnel de l'hôpital Ibn Zohr (Guelma). Et spécialement le staff du laboratoire de bactériologie pour leur disponibilité et leur sympathie, dont nous tenons à citer **Meriem et Nadia** et aussi les trois belles filles, **Amina ; Meriem et Imen**.*

*Un grand remerciement aux techniciennes du laboratoire de microbiologie à l'université de 08 mai à Guelma, dont nous tenons à citer **Mme Waffa ; Mme Hassiba ; Mme Asma ; Mme Houria ; Mm Leila**.*

Nous remercions également

Mr. BOUGUERA, travailleur dans la bibliothèque de recherche à Annaba et un remerciement tout spécial au Mr. TOUNSI Nourddine, travailleur dans la bibliothèque de département de biochimie à Annaba ; Le directeur de la bibliothèque centrale à Annaba, Mr. Hadj DJAHEL.

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

Dédicace

Je dédie ce modeste et sérieux travail à mes plus chers êtres au monde.

Tout d'abord et spécialement à ma chère tante Nabila «KHWEILA» pour son chaleureux encouragement, sa tendresse, sa douceur, sa disponibilité et ses sacrifices durant toute ma vie.

À mon cher oncle Abd Allah «KHOYA» pour son amour, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

♪ *À mon chère père, pour son soutien son aide et sa compréhension.*

♪ *À ma chère mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour sans limite.*

♪ *À la seule sœur Aridj et mes cousins Wassim et Abd Rahmen et aussi Nisa ; Ramzi ; Idris ; Kamel ; Feres ; Hilal ; Dina ; Yacine ; Amina.*

♪ *Aussi à toutes mes deux familles Chefchoufi et Abaidia.*

♪ *À mes chères amies de l'enfance et de primaire et aussi Gihed ,Maroua, Ilhem, Khaoula, Radia et Ibtissem.*

À la promotion de Master 2 microbiologie appliquée 2018 et aussi les autres promotions de Master 2 toutes les spécialités 2018.

****HAYEM***





DEDICACES

A l'âme de mon père, a ma très chère mère malgré tout ce temps Où vous êtes malade, vous êtes toujours été auprès de vos enfants. Tu as été et tu resteras une bonne mère pour votre Affection, votre compréhension, l'intérêt que vous avez toujours porté à vos enfants et à leurs études. je sais que vous êtes fier de moi, Papa malgré le fait que vous ne soyez plus parmi nous, toute mon affection, mon amour et mon infini remerciement pour tous ce que vous avez fait pour votre famille. A ma très chère sœur Karima, je sais que ce travail te donnera le courage de continuer le combat que tu as toujours mené pour moi. Trouve ici l'expression et le témoignage de l'immense amour et la reconnaissance d'être a mes coté ,a mes très cher neveu alla ,Mohammed Lina ,a mon frère adel et ma sœur hikma et mes amis.

GHANIA



TABLE DES MATIÈRES

	Page
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction	1
Chapitre I : Infections nosocomiales	
1. Infections nosocomiales	2
1.1. Définition	2
1.2. Environnement hospitalier	2
2. Principaux types d'infections nosocomiales	3
3. Origine des infections nosocomiales	3
3.1. Infections nosocomiales d'origine exogène	3
3.2. Infections nosocomiales d'origine endogène	4
3.3. Xéno-infections	4
3.4. Une infection liée à des erreurs techniques	4
4. Facteurs de risque	5
5. Importance des divers agents infectieux à l'origine d'infection nosocomiale	5
5.1. Virus	5
5.2. Bactéries	5
5.3. Champignons	6
6. Modes de transmission des infections nosocomiales	6
6.1. Transmission par contact direct	6
6.2. Transmission par contact indirect	6
6.3. Transmission par voie aérienne	6
7. Quelques germes en cause	6
7.1. Entérobactéries	7
7.1.1. Caractères généraux	7
7.1.2. Habitat et pouvoir pathogène	7
7.1.3. Genre <i>Enterobacter</i>	8
7.1.4. Genre <i>Pantoea</i>	10
7.2. Staphylocoques	10

7.2.1. Caractères généraux	10
7.2.2. Habitat et pouvoir pathogène	11
7.3. Genre <i>Enterococcus</i>	13
8. Lutte contre les infections nosocomiales	13

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques des bactéries responsables des infections nosocomiales

1. Antibiotiques	15
1.1. Définition	15
1.2. Origine	15
1.3. Propriétés	15
1.4. Mode d'action	16
1.5. Classification	17
1.5.1. β -lactamines	17
1.5.2. Aminoglycosides et aminosides	19
1.5.3. Quinolones et fluoroquinolones	19
2. Résistance aux antibiotiques	20
2.1. Résistance naturelle	20
2.2. Résistance acquise	20
2.2.1. Mutation	21
2.2.2. Plasmide	21
2.2.3. Transposon	21
2.2.4. Intégrons	21
3. Mécanismes de résistance	22
4. Bactéries multi résistantes (BMR)	23
4.1. Ampleur du problème	23
4.2. Diffusion des BMR	23
5. Résistance aux antibiotiques chez les Entérobactéries	24
5.1. Résistance aux β -lactamines	24
5.1.1. Résistance naturelle	24
5.1.2. Résistance acquise	24
5.1.3. Résistance non enzymatique	25
5.1.4. Résistance enzymatique	26
6. Résistance aux antibiotiques chez Staphylocoques	27

7. Résistance aux antibiotiques chez Entérocoques	28
---	----

Chapitre III : Matériel et Méthodes

1. Site d'étude	29
2. Prélèvement	29
2.1. Techniques d'échantillonnage	30
2.2. Transport	31
3. Méthodes d'analyse	31
3.1. Ensemencement	31
3.2. Purification des souches	31
4. Identification	31
4.1. Coloration de Gram	31
4.2. Catalase et oxydase	32
4.3. Coagulase	33
4.4. Galerie biochimique	33
4.4.1. Api 20 E	33
4.4.2. Api 20 NE	34
5. Antibiogramme	35
5.1. Principe	35
5.2. Technique	35
5.2.1. Préparation de la suspension	35
5.2.2. Méthode d'ensemencement (écouvillonnage)	36
5.2.3. Choix des antibiotiques	36
5.2.4. Mise en place des disques d'antibiotiques	36
5.2.5. Lecture	37

Chapitre IV : Résultats et Discussion

1. Avant stérilisation	38
1.1. Mise en culture des prélèvements	38
1.1.1. Examen macroscopique	38
1.1.2. Examen microscopique	40
1.1.3. Enzymes respiratoires	41
1.1.4. Test de coagulation	41
1.1.5. Identification biochimique	42
1.1.6. Antibiogramme	43

2. Après stérilisation	48
2.1. Examen macroscopique	48
2.2. Enzymes respiratoires	49
2.3. Identification biochimique	49
2.4. Antibiogramme	51
3. Récapitulation	51
Conclusion	56
Références Bibliographiques	57
Annexes	

RÉSUMÉ

Cette étude menée du Mars au Mai 2018 vise à identifier les germes potentiellement pathogènes associés aux infections nosocomiales, dans le service d'infectiologie de l'hôpital Ibn Zohr de la Willaya de Guelma. Au total, 56 prélèvements de surfaces inertes ont été effectués afin de cibler les germes responsables. L'identification a été faite selon les caractères morphologiques et biochimiques tout en utilisant le système API. D'autre part, la détermination du profil de résistance de ses germes vis-à-vis des antibiotiques testés a été réalisée selon les recommandations de la Société Française de Microbiologie. Huit espèces appartenant à la famille des entérobactéries et deux autres des Staphylocoques ont été identifiées. Toutes les espèces appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* présentent une sensibilité totale, à l'imipénème, alors que les Staphylocoques à coagulase sont sensibles. Notre étude montre aussi que certaines surfaces inertes de l'hôpital Ibn Zohr sont fréquemment contaminées par les BMR, alors qu'après stérilisation, les germes identifiés sont sensibles aux ATB.

Mots clés : Infections nosocomiales, surfaces inertes, Entérobactéries, BMR, BLSE.

ABSTRACT

This study conducted from March to May 2018 aims to identify the potentially pathogenic germs associated with nosocomial infections at the infectiology department, Ibn Zohr Hospital of Guelma city. In total, 56 samples of inert surfaces were taken to identify the responsible germs. The identification was made according to the morphological and biochemical characters using the API system. On the other hand, the determination of the resistance profile of its germs against antibiotics tested was conducted according to the recommendations of the French Society of Microbiology. Eight strains belonging to the *Enterobacteriaceae* and two other *Staphylococci* have been identified. All strains belonging to *Enterobacteriaceae* have a total sensitivity to imipenem, while coagulase *Staphylococci* are sensitive. Also, our study shows that some inert surfaces of Ibn Zohr Hospital are frequently contaminated with multi-resistant bacteria, whereas after sterilization, the identified germs are sensitive to antibiotics.

Keywords: Nosocomial infections, Inert surfaces, Enterobacteria, Multi-resistant bacteria, β -Lactamine with Extended Spectrum.

ملخص

تهدف هذه الدراسة التي أجريت في الفترة من مارس إلى مايو 2018 إلى التعرف على الجراثيم المسببة للأمراض المرتبطة بالمستشفيات ، في قسم الأمراض بمستشفى ابن زهر ، ولاية قالمة. في المجموع، 56 عينة من الأسطح الخاملة تم جمعها لاستهداف الجراثيم المسؤولة. تم تحديد هذه الجراثيم حسب خصائصها المورفولوجية والبيوكيميائية باستخدام نظام API. من ناحية أخرى، تم تحديد مقاومة هذه الجراثيم تجاه المضادات الحيوية التي تم اختبارها وفقًا لتوصيات الجمعية الفرنسية لعلم الأحياء الدقيقة. تم تحديد ثمانية أنواع تنتمي لعائلة البكتيريا المعوية واثنين آخرين من المكورات العنقودية. جميع السلالات التي تنتمي لعائلة البكتيريا المعوية لديها حساسية كاملة للمضاد الحيوي Imipenème، في حين أن المكورات العنقودية حساسة. توضح دراستنا أيضًا أن بعض السطوح الخاملة في مستشفى ابن زهر تكون ملوثة بشكل متكرر مع البكتيريا متعددة المقاومة، بينما بعد التعقيم ، تكون الجراثيم المحددة حساسة للمضادات الحيوية.

كلمات مفتاحية: عدوى المستشفيات ، السطوح الخاملة ، البكتيريا المعوية، البكتيريا متعددة المقاومة، BLSE.

LISTE DES FIGURES

N ^o		Page
Figure 1	Infection nosocomiale	2
Figure 2	Voies de transmission des Staphylocoques	12
Figure 3	Les antibiotiques bactéricides et les antibiotiques bactériostatiques	16
Figure 4	Le mode d'action d'un antibiotique	17
Figure 5	Noyau β -lactame et principaux dérivés	18
Figure 6	La structure chimique des pénicillines et céphalosporines	19
Figure 7	Schéma d'un intégron	22
Figure 8	Site d'action des β -lactamases au niveau de la famille des β -lactamines	24
Figure 9	Résistance par modification des protéines liant les pénicillines	25
Figure 10	Résistance par imperméabilité avec modification de la porine	26
Figure 11	Résistance par efflux avec refoulement de l'antibiotique	26
Figure 12	Résistance par production de bêtalactamase	27
Figure 13	Situation géographique du site d'étude	29
Figure 14	Prélèvement de surface par écouvillonnage	30
Figure 15	Ensemencement d'une galerie biochimique Api 20 E	34
Figure 16	Ensemencement d'une galerie biochimique Api 20NE	35
Figure 17	Résultats de la mise en culture des prélèvements	38
Figure 18	Résultats de la recherche de coagulase	41
Figure 19	<i>Pantoea spp.</i>	42
Figure 20	<i>Pantoea spp.</i>	42
Figure 21	<i>Enterobacter sakazakii.</i>	43
Figure 22	<i>Enterobacter cloacae.</i>	43
Figure 23	<i>Shewanella putrefaciens</i>	50
Figure 24	<i>Enterobacter amnigenus 1</i>	50
Figure 25	<i>Raoultella terrigena</i>	50
Figure 26	<i>Pantoea spp2.</i>	50
Figure 27	<i>Pseudomonas oxyzihabitans</i>	50
Figure 28	<i>Lecpercia adecarboxylata</i>	51

LISTE DES TABLEAUX

N ^o		Page
Tableau 1	Origine des principaux antibiotiques	15
Tableau 2	Principaux antibiotiques utilisés	36
Tableau 3	Résultats de l'observation macroscopique	39
Tableau 4	Résultats de la coloration de Gram	40
Tableau 5	Résultats de l'identification par la galerie API 20E	42
Tableau 6	Résultats de l'antibiogramme ♂	44
Tableau 7	Résultats de l'antibiogramme ♀	45
Tableau 8	Résultats de l'antibiogramme ♂ + ♀	46
Tableau 9	Résultats de l'observation macroscopique	48
Tableau 10	Résultats de l'identification par les galeries API 20E, API 20NE	49
Tableau 11	Résultats de l'antibiogramme	51
Tableau 12	Résultats des germes identifiés	52
Tableau 13	Résultats des germes identifiés	53

LISTE DES ABREVIATIONS

ADH: Arginine di hydrolase

ADI: Acide adipique

ADN: Acide desoxyribonucléique

AMC: Amoxicilline +acide Clavilanique

AMY: Amygdaline

ARA: Arabinose

ATB: Antibiotique

BGN: Bacille à Gram Négatif

BGP: Bacille à Gram Positif

BLSE: β -Lactamine à Spectre Etendu

BMR: Bactérie multi--résistante

C3G: Céphalosporine de troisième génération

CAP: Acide caprique

CA-SFM: Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

CAZ: Céftazidime

CB: Colonie Blanche

CGP: Cocci à Gram Positif

CIT: Citrate de Sodium

CMB: Concentration Minimale Bactéricide

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CP: Colonie Plate

CR: Colonie Rose

CTX: Céfotaxime

EMB: gélose à l'éosine et au bleu de méthylène

ERV: Entérocoque Résistant à la Vancomycine

ESC: Esculine citrate de fer

LISTE DES ABREVIATIONS

F: Famme

FC: Fine Colonie

FCT: Fine Colonie Transparente

FOX: Céfoxitine

GC: Grosse Colonie

GCT: Grosse Colonie Transparente

GEL: Gélatinase de khon

GNT: Potassium gluconate

H: Homme

H₂S: Thiosulfate de sodium

I: Intermédiaire

IND: Tryptophane

INO : Inositol

IPM : Imipénème

Lac – : Lactose négatif

Lac + : Lactose positif

LCR : Liquide Céphalo-rachidien

LDC: Lysine décarboxylase

MAL: D-maltose

MAN: D-mannitol

MEL: Melibiose

MLT: Acide malate

MNE: D-mannose

NAG: N-acétylglucosamine

NO₃: Potassium nitrate

ODC: Ornithine décarboxylase

LISTE DES ABREVIATIONS

ONPG: Ortho-nitro-phényl-galactoside

OX5: Oxacilline5

PAC: Acide Phénylacétique

PLP: Protéine liant les pénicillines

PNPG: 4-nitrophényl-B-D-galactopyranoside

R: Résistante

RHA: Rhamnose

S: Sensible

SAC: Saccharose

SARM: Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline

SCN: Staphylocoque à coagulase négative

SOR : Sorbitol

TDA: Tryptophan Deaminase

TRP: L-tryptophane

URE : Urée

VA : Vancomycine

VP : Réaction de Voges-Proskauer

INTRODUCTION

Introduction

L'hôpital qui est normalement considéré comme un lieu de savoir, d'enseignement médical et d'hygiène, peut devenir dans certaines circonstances, une source d'infection, ceci soit par l'utilisation de méthodes invasives, soit dans le cas de plusieurs hôpitaux, par défaut d'hygiène, d'organisation, de conscience professionnelle ou par manque de moyens **(Bedjaoui, 2016)**.

Approximativement 5% des patients hospitalisés développeront une infection durant leur hospitalisation, ces infections acquises à l'hôpital sont qualifiées de nosocomiales. Les infections nosocomiales ou infections liées aux soins, posent un grave problème de santé publique dans le monde en générale et en Algérie en particulier. **(Bedjaoui, 2016)**.

Les bactéries de l'environnement hospitalier tiennent une grande place tant par apport à l'enjeu qu'elles représentent dans la défense de cet environnement que par l'impact en santé publique des infections nosocomiales survenues à l'hôpital. Certains micro-organismes sont plus fréquemment retrouvés dans le milieu hospitalier, et plusieurs facteurs sont contribué à leur développement ; ce sont d'une part les technologies modernes de traitement de l'air, des locaux (climatisation) et d'autre part l'utilisation importante des antibiotiques, antiseptiques et désinfectants, qui exercent une pression de sélection vis-à-vis de bactéries qui deviennent souvent multi résistantes. **(Ati et al., 2009)**.

La présente étude s'est déroulée au service des maladies infectieuses de l'hôpital Ibn Zohr sous forme d'une enquête vise à :

- Identifier les principaux germes responsables des infections nosocomiales des surfaces inertes les Entérobactéries, les *Pseudomonas*, les Staphylocoques et le Entérocoques ;
- Déceler la résistance des différentes souches identifiées aux principales familles d'antibiotiques.

Ce manuscrit s'articule autour de quatre parties :

- La première partie présente une revue bibliographies sur les infections nosocomiales et les germes en cause ;
- La deuxième partie, faisant appel aux différents mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques;
- La troisième partie, dans laquelle on présente les diverses méthodes et outils d'investigation ;
- La quatrième partie représente et discute les principaux résultats trouvés.

Chapitre I : Infections nosocomiales

1. Infections nosocomiales

1.1. Définition

Bien que l'on emploie parfois indifféremment les termes «infection» et «maladies infectieuses», ils n'ont pas exactement le même sens. Une infection est l'invasion d'un organisme par des microbes pathogènes et leur implantation au sein de celui-ci. Une maladie infectieuse se déclare lorsqu'une infection produit un changement quelconque qui altère l'état de santé. C'est un état anormal caractérisé par l'incapacité d'une partie ou de la totalité d'un organisme à s'adapter ou à remplir normalement ses fonctions. En revanche, il peut y avoir infection en l'absence de toute maladie observable (Martin *et al.*, 2012) (Fig.01).

Les infections nosocomiales résultent de l'interaction de plusieurs facteurs :

- La présence de microorganismes dans le milieu hospitalier (réservoir) ;
- L'état d'affaiblissement de l'hôte ;
- La présence d'une chaîne de transmission dans le milieu hospitalier (Ati *et al.*, 2009).

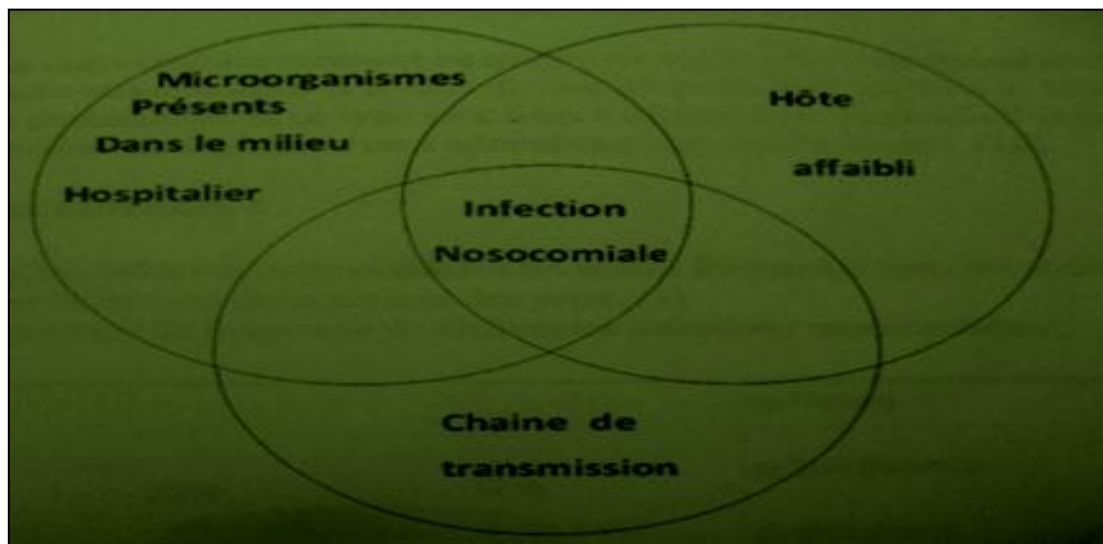


Figure 01: Infection nosocomiale (Ati *et al.*, 2009).

1.2. Environnement hospitalier

Le terme d'environnement hospitalier regroupe les éléments suivants : air, eau, surface, linge, aliment, dispositifs médicaux, déchets. La complexité de l'environnement hospitalier fournit une quantité innombrable d'opportunités favorisant la rencontre entre patient et les micro-organismes.

Ces éléments supportent de nombreux micro-organismes et cette contamination environnementale est très variable qualitativement et quantitativement d'un établissement à

l'autre et au sein d'un même établissement en fonction des services, des patients (sains, colonisés, infectés) des soins et des techniques pratiques (**Ati et al., 2009**).

2. Principaux types d'infections nosocomiales

- **Infections des voies urinaires**

Constituent environ 34% de toutes les infections nosocomiales : reliées le plus souvent au port d'une sonde vésicale à demeure (**Ati et al., 2009**).

- **Infections d'une plaie chirurgicale**

Viennent au second rang pour ce qui est de la fréquence (environ 17%). Il est estimé que de 5% à 12% de tous les opérés présentent une infection postopératoire, ce pourcentage atteint jusqu'à 30% dans le cas de certaines chirurgies, dont les opérations au colon et les amputations (**Ati et al., 2009**).

- **Bactériémie**

Vient au troisième rang pour ce qui est de la fréquence (environ 14%). La pose d'un cathéter veineux joue un rôle dans plusieurs infections nosocomiales du sang circulant, et particulièrement dans les infections dues à des bactéries ou à des mycètes (**Ati et al., 2009**).

- **Infections des voies respiratoires**

Les pneumonies nosocomiales viennent au quatrième rang ; elles constituent environ 13% de toutes les infections nosocomiales et le taux de mortalité est élevé (de 13% à 55%). La majorité des pneumonies de ce type sont liées à l'utilisation d'appareils d'oxygénothérapie (**Ati et al., 2009**).

- **Infections cutanées**

Comptent parmi les infections nosocomiales les moins fréquentes mais les nouveau-nés sont très sensibles aux infections de la peau et des yeux. (**Ati et al., 2009**).

3. Origine des infections nosocomiales

3.1. Infections nosocomiales d'origine exogène

Lorsque les microbes proviennent de l'extérieur (personnes malades, porteurs sains ou asymptomatiques, environnement) et qu'ils agressent l'organisme, l'infection est d'origine exogène. La grippe et les infections transmissibles sexuellement et par le sang en sont des exemples (**Martin et al., 2012**).

La source des infections exogènes est principalement le personnel soignant. La plupart du temps, les germes sont transmis par les mains lors des actes médicaux et de soins. Plus

rarement, le soignant est lui-même infecté ou colonisé par la flore hospitalière (**Kayser et al., 2008**).

Deux types d'infections exogènes peuvent être définis :

- Infections liées à une contamination à partir d'un réservoir situé dans l'environnement de proximité du malade (dispositifs médicaux et de soins) ;
- Infections liées à une contamination à partir d'un réservoir situé dans l'environnement générale de l'Hôpital (eau, air).

3.2. Infections nosocomiales d'origine endogène

Les infections endogènes sont les plus fréquentes. Dans cette situation, le patient peut apporter l'agent infectieux à l'hôpital mais le plus souvent, la peau et les muqueuses du patient sont colonisées en 1-3 jours par des bactéries hospitalières souvent multi résistantes, qui prennent la place de la flore propre du patient. Ainsi beaucoup d'infections endogènes sont causées par la flore spécifique hospitalière (**Kayser et al., 2008**).

Le malade est toujours déficient dans ses défenses naturelles. Il a donc l'occasion de s'infecter avec ses propres germes et contracter une auto-infection soit à partir de la flore originale, soit à partir de sa flore remaniée (**Leminor et Véron, 1982**).

L'origine endogène d'une infection est suspectée lorsque les bactéries en cause s'avèrent peu résistantes aux antibiotiques, ce qui est le cas chez les personnes qui n'ont pas d'antécédents d'antibiothérapie massive (**Martin et al., 2012**).

3.3. Xéno-infections

Une troisième source d'infection importante est l'entrée dans la communauté hospitalière de nouveaux malades, plus rarement de personnel ou de visiteurs porteurs d'une maladie infectieuse : c'est les xéno-infections, susceptibles à la fois d'enrichir la flore hospitalière et de susciter, par divers modes de transmission, des épidémies nosocomiales (**Leminor et Véron, 1982**).

3.4. Une infection liée à des erreurs techniques

Amenant, au contact des malades, des germes pathogènes alors même que toutes les précautions sont censées être prises pour les en protéger : elles sont la conséquence d'anomalies accidentelles telles que stérilisation inefficace, ventilation stérile avariée, ...etc.

Elles sont dues à des microbes en principe exclus du lieu ou éliminés de l'objet ayant servi de véhicule à la contamination, et nous les qualifions d'exo-infections. Leur contagiosité est

variable, souvent nulle. Les germes en cause n'ont souvent rien de commun avec la flore hospitalière (**Leminor et Véron, 1982**).

4. Facteurs de risque

Les principaux facteurs influant sur la richesse de la flore hospitalière et sur son accessibilité aux habitants du service sont :

- Le ménage mal fait, le mauvais usage des produits nettoyants et désinfectants, les désinfections insuffisantes en qualité et en fréquence ;
- La mauvaise organisation des circuits de distribution du matériel propre et d'élimination du matériel sale, l'entassement des malades ;
- La pression thérapeutique exercée par les antibiotiques surtout lorsqu'ils sont utilisés à des fins prophylactiques ;
- L'agressivité des thérapeutiques telles que les actes de chirurgie et, plus encore, les actes de petite chirurgie souvent réalisés avec moins de précautions (perfusions, cathétérismes, sondes à demeure constituent autant de portes d'entrée souvent mal protégées) ;
- L'insuffisance des soins corporels de la toilette faits au malade ;
- Les déficits immunitaires d'origine pathologique ou thérapeutique ;
- Le défaut d'isolement des malades infectés ;
- Les gestes des médecins et auxiliaires médicaux dans l'exécution des soins ;
- Pour les xéno-infections : le problème essentiel est le triage des malades à l'entrée dans le service et leur isolement prophylactique. L'exo-infection doit être maîtrisée par le contrôle régulier des installations techniques (air stérile, stérilisation, salles d'opération, etc.) ;
- Il existe des services où le risque est lié à la précarité des installations, à l'encombrement, à l'insuffisance numérique et parfois technique du personnel, à l'inadéquation de l'architecture à l'utilisation, à l'impossibilité de désinfection (**Leminor et Véron, 1982**).

5. Importance des divers agents infectieux à l'origine d'infection nosocomiale

Elle est variable :

5.1. Virus

Il est estimé grossièrement que moins de 1% des infections nosocomiales sont dues à des virus. Un problème pourrait venir d'une épidémie par Norovirus. (**Kayser et al., 2008**).

5.2. Bactéries

Elles sont au premier plan en tant qu'agents des infections nosocomiales. Il s'agit souvent de bactéries facultativement pathogènes (opportunistes), qui présentent fréquemment une

résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Elles se sont implantées dans les hôpitaux comme «flore hospitalière». (Kayser *et al.*, 2008).

5.3. Champignons

Les infections nosocomiales à champignons ont augmenté au cours de ces dernières années. Elles apparaissent fréquemment chez des patients immunodéprimés (Kayser *et al.*, 2008).

6. Modes de transmission des infections nosocomiales

Toute maladie qui se transmet d'un hôte à un autre, directement ou indirectement, s'appelle maladie transmissible (Martin *et al.*, 2012).

La transmission des micro-organismes de personne à personne (soignant ou sujet hospitalisé) s'effectue par : contact direct ou indirect, ou par voie aérienne (Ati *et al.*, 2009).

6.1. Transmission par contact direct

Le mode de transmission essentiel des agents infectieux à l'hôpital est le contact direct entre les mains contaminées des soignants et l'hôte. Le terme de contact direct est discutable puisque les mains du personnel soignant ne constituent pas habituellement un réservoir stable mais plutôt un vecteur (Ati *et al.*, 2009).

6.2. Transmission par contact indirect

La transmission par contact indirect est plus rare et c'est alors par l'intermédiaire d'un matériel contaminé qu'elle s'effectue (Ati *et al.*, 2009).

6.3. Transmission par voie aérienne

Les agents infectieux sont portés par des particules qui restent longtemps en suspension dans l'air, peuvent se propager à distance du patient source par les flux d'air et être inhalées par gouttelettes. Elles peuvent alors se déposer sur les muqueuses d'un sujet hôte ou sur du matériel inerte (Ati *et al.*, 2009).

7. Quelques germes en cause

Leurs caractéristiques varient selon le type d'infection observée. En cas d'auto-infection n'importe quel germe des flores du malade peut être en cause depuis le Staphylocoque banal de ses follicules pileux jusqu'aux germes anaérobies de sa flore intestinale. Si l'auto-infection apparaît tardivement, après un long séjour hospitalier, elle sera fréquemment due à un germe multi résistant du service. L'inefficacité des antibiotiques utilisés banalement dans le service lui donne d'autant plus de chance d'accéder au pouvoir pathogène.

Dans les hétéro-infections ou infections croisées, il s'agit d'un germe hospitalier classique (Staphylocoque, Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*) ou d'un germe épidémique importé (xéno-infection). Enfin, dans les exo-infections il peut s'agir de n'importe quel germe stable dans le milieu extérieur hospitalier ou exogène (**Leminor et Véron, 1982**).

7.1. Entérobactéries

Le nom d'Entérobactéries avait été donné à cette famille parce que beaucoup des membres qui la composent sont des hôtes du tube digestif. Mais cette localisation n'est pas exclusive chez l'homme et les animaux, elles sont aussi isolées du sol et des végétaux (**Leminor et Véron, 1982**).

7.1.1. Caractères généraux

Ce sont des bacilles à Gram négatif dont les dimensions varient de 1 à 6 µm de long et 0.3 à 1 µm de large ; mobiles par ciliature péri triche ou immobiles ; se développant en aéro-anaérobioses sur gélose nutritive ordinaire ; acidifiant le glucose par voie fermentative (à la différence des *Pseudomonas*) avec souvent production de gaz ; ne possédant pas d'oxydase ; réduisant les nitrates en nitrites. Les *Enterobacteriaceae* se développent bien dans un bouillon ou sur une gélose ordinaire incubés 18 heures à 37°C. Les formes S (smooth) sont l'aspect habituel au sortir de l'organisme ; les colonies sont lisses, bombées, brillantes, et humides, elles ont 2 à 4 mm de diamètre. Les formes R (rough) s'observent surtout avec des souches ayant subi plusieurs repiquages ; les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate (**Avril et al., 1992**).

Elles sont opportunistes souvent responsables d'infections endémo-épidémiques contractées en milieu hospitalier, ces bactéries sont généralement multi-résistantes (**Leminor et Véron, 1982**).

Une centaine d'espèces d'*Enterobacteriaceae* sont individualisées mais 23 d'entre elles représentent 99% des souches isolées en clinique. Les genres habituellement admis sont : *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*, *Proteus*, *Providencia*, *Edwardsiella*, *Yersinia*, *Erwinia*, *Pectobacterium* (**Avril et al., 1992**).

7.1.2. Habitat et pouvoir pathogène

Parmi les nombreuses espèces d'*Enterobacteriaceae*, certaines sont trouvées dans l'environnement, d'autres chez les végétaux ou les animaux. Il en est qui ont un pouvoir phyto-pathogène. Parmi les espèces qui peuvent être isolées chez l'homme, certaines

(*Shigella*) sont constamment pathogènes. D'autres espèces se comportent comme des bactéries pathogènes opportunistes responsables d'infections chez des malades fragilisés. Leur identification est une part importante du travail du laboratoire de bactériologie (Avril *et al.*, 1992).

7.1.3. Genre *Enterobacter*

a. Caractères généraux

Il représente le genre type des *Enterobacteriaceae*. Les *Enterobacter* sont des bacilles généralement mobiles, anaérobies facultatifs, mesurant 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur, VP(+), fermentent ou non le lactose et ils ont une β-galactosidase (Bouguenoun, 2017).

Le genre *Enterobacter* comprend les espèces suivantes : *E. aerogenes*, *E. gergoviae*, *E. cloacae*, *E. sakazakii*, *E. agglomerans*, *E. hafniae*. Par l'ensemble de ses caractères biochimiques et antigéniques. *E. gergoviae* est une espèce uréase positive, bien individualisée, qui peut être rapprochée d'*E. Aerogenes* par l'ensemble de ses caractères phénotypiques. *E. cloacae* est l'espèce-type du genre *Enterobacter*. *E. sakazakii* regroupe les souches d'*E. cloacae* pigmentées en jaunes. *E. agglomerans* a de nombreux caractères communs avec *E. cloacae*. *E. hafniae* se distingue suffisamment des espèces précédentes pour être étudié en tant que genre *Hafnia* (Leminor et Véron, 1982).

b. Habitat et Pouvoir pathogène

Les *Enterobacter* sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. On les trouve dans les eaux, sur le sol, sur la peau et les muqueuses. Ce sont des bactéries de l'hospitalisme (Avril *et al.*, 1992).

Ce sont des pathogènes opportunistes responsables, en milieu hospitalier surtout, d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses (Denis *et al.*, 2011).

- *Enterobacter cloacae*

C'est une entérobactérie extrêmement mobile (bacille à ciliature péri triche dégénérée). Cultive rapidement sur les milieux usuels ; ses colonies sur le milieu de Drigalski sont rondes légèrement irisées (diamètre 2-3 mm) ou plates à bords irréguliers, sur milieu Hecktoen, elles sont de couleur saumon, rondes, irisées (diamètre 2-3 mm), sur le milieu EMB, les colonies sont rosées, légèrement bombées et muqueuses (diamètre 3 à 4 mm). Il n'existe pas de milieux sélectifs pour *E. cloacae* (Leminor et Véron, 1982).

Les principaux caractères permettant le diagnostic de *E. cloacae* sont (LDC -, ODC et ADH +, fermentation avec gaz de glucose, rhamnose, arabinose, sorbitol, raffinose ; fermentation lente du glycérol (3-6 j) et rapide (1-2 j) du cellobiose, possession d'une β - xylosidase (**Leminor et Véron, 1982**).

E. cloacae est trouvé dans les eaux de surfaces, les eaux usées, le sol et les végétaux. Il peut être un commensal du tube digestif de l'homme et des animaux et végéter sur la peau et les muqueuses. *E. cloacae* est un «pathogène opportuniste» que l'on isole, en particulier en milieu hospitalier, d'urine (pyélonéphrite), d'expectoration, de pus divers, de liquide pleural (pleurésie), plus rarement d'hémoculture (septicémie), de LCR (méningite). Il est parfois isolé de cathéter et de sonde (**Leminor et Véron, 1982**).

- ***Enterobacter sakazakii***

Enterobacter sakazakii (autrefois appelée *Enterobacter cloacae* pigmenté en jaune) n'a été reconnue comme espèce à part entière que depuis 1980. Cette espèce se différencie des autres *Enterobacter* par son pigment jaune, sa production de Tween 80 estérase, sa non-fermentation du sorbitol ainsi que du mucate et par une β -glucosidase. Elle pousse sur des milieux utilisés pour les organismes entériques tels que le milieu de Mac Conkey, la gélose à l'éosine et au bleu de méthylène (EMB) et géloses au désoxycholate. Sur les boîtes de pétri, elle peut former deux types de colonies (brillantes et/ou mates) selon le milieu et la souche. Ces deux types de colonies ne sont pas associés à des différences dans la virulence ou des caractéristiques phénotypiques. De même, il n'a pas été caractérisé de facteurs de virulence ou de pathogénicité associés, à l'exception d'une sorte d'entérotoxine (**Pagotto et al., 2003**).

Il existe peu de données concernant l'écologie microbienne d'*E. sakazakii*. Le réservoir environnemental n'est pas clairement identifié (**Bar-Oz et al., 2001**). Des présomptions existent sur des insectes tels que *Stomoxys calcitrans* (mouche charbonneuse), sa présence coïncidant bien avec celle d'*E. sakazakii* (**Hamilton et al., 2003**). La bactérie peut être détectée dans l'intestin d'humains, d'animaux ou dans l'environnement.

E. sakazakii est l'agent d'infections rares mais sévères touchant particulièrement les très jeunes enfants, les personnes âgées et les sujets immunodéprimés, ces infections étant beaucoup plus souvent identifiées chez les prématurés que chez les adultes (**Hawkins et al., 1991**). Les personnes les plus à risques sont les nourrissons de moins de 4-5 semaines. Cette bactérie a été associée à de nombreuses pathologies graves potentiellement létales, incluant des méningites, septicémies, bactériémies, entérocolites nécrosantes, spécialement chez le prématuré et le nouveau-né hypotrophe. La méningite peut s'accompagner de séquelles

neurologiques sévères (hydrocéphalie). Les infections à *E. sakazakii* chez l'adulte se développent en règle générale sous forme de septicémie sur un terrain de pathologies sous-jacentes sévères (Lai, 2001).

7.1.4. Genre *Pantoea*

Pantoea agglomerans, anciennement connue sous le nom *Enterobacter agglomerans*, est une bacille à Gram négatif anaérobie oblique fréquemment associé à des plantes. C'est l'espèce la plus cliniquement significative de genre très divers de *Pantoea* (Cheng *et al.*, 2013).

Pantoea agglomerans est une entérobactérie isolée fréquemment dans les plantes, les fruits et les légumes, mais cela a également été trouvé dans les selles humain et animal. En tant qu'agent pathogène, il a classiquement parfois décrit comme provoquant des infections localisées (synovite, arthrite). La septicémie néonatale due à *P. agglomerans* est une image rare, mais avec beaucoup de gravité (Segado-Arenas *et al.*, 2012).

7.2. Staphylocoques

La famille des *Micrococcaceae* comporte trois genres : *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Planococcus*. Les cellules bactériennes sont sphériques, de 0,5 à 3µm de diamètre, se divisent dans plusieurs plans pour former des paquets ou des amas réguliers ou irréguliers ; elles sont immobiles ou mobiles, ne produisent pas de spore et sont à Gram positif. Ces bactéries sont chimioorganotrophes, ont un métabolisme respiratoire ou fermentatif ; elles acidifient inconstamment le glucose, sans production de gaz. Leurs exigences nutritives sont variables. Toutes les souches poussent sur des milieux contenant du chlorure de sodium (Leminor et Véron, 1982).

Le genre *Staphylococcus* occupe une place très importante en pathologie humaine et animale. Il est classique d'opposer *S. aureus* qui produit une coagulase et est souvent pathogène, aux autres Staphylocoques, non producteurs de coagulase et plus rarement responsables d'infections (Avril *et al.*, 1992).

7.2.1. Caractères généraux

D'après la classification de Kloos et Schleifer, plus de 20 espèces ont été décrites. Un certain nombre d'entre elles sont trouvées chez l'homme, d'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments (viandes, produits laitiers...). Parmi les espèces retrouvées chez l'homme : trois espèces occupent une place privilégiée : *S. aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*. Les autres, plus rarement impliquées en pathologie humaine, sont : *S. hominis*, *S.*

haemolyticus, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. saccharolyticus*, *S. auricularis*, *S. simulans*, *S. cohnii*, *S. xyloso*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis* et *S. schleiferi* (Avril et al., 1992).

7.2.2. Habitat et pouvoir pathogène

Il s'agit de germes très répandus dans la nature (air, eau, sol). Les Staphylocoques, en particulier les espèces *S. aureus* et *S. epidermidis*, font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des «porteurs asymptomatiques». Cependant ces souches peuvent être à l'origine d'auto-infections ou contaminer d'autres individus. 20 à 75 % des sujets sont porteurs de *S. aureus* : porteurs persistants, porteurs occasionnels, ou transitoires ; à l'opposé, certains individus sont «non porteurs».

Les Staphylocoques peuvent être trouvés particulièrement dans les fosses nasales antérieures. On peut également les isoler de la peau et surtout des zones chaudes et humides de celle-ci (creux axillaire, périnée) où l'on peut également trouver *S. aureus*. Il n'est pas rare d'isoler *S. aureus* des selles. Les infections staphylococciques occupent en pathologie infectieuse une place importante par leur nombre et leur gravité aussi bien à l'hôpital qu'à l'extérieur de celui-ci. La transmission est surtout interhumaine directe (contact, dissémination manu portée, à partir du nez notamment) ou indirecte par l'intermédiaire des aliments ou du milieu extérieur (Avril et al., 1992). (Fig.02).

Les staphylocoques à coagulase négative, long temps considérés comme peu ou pas pathogènes, sont maintenant reconnus comme des bactéries pathogènes opportunistes, notamment les espèces *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* et *S. saprophyticus*. Ils peuvent être responsables de conjonctivites, d'endophtalmies, d'infections cutanées, d'infections urinaires (essentiellement *S. saprophyticus*), d'endocardites, de péritonites, d'infections osseuses et articulaires, de méningites post neurochirurgicales, d'infections sur matériel ou sur valves (endocardites et méningites), ainsi que de septicémies dont le point de départ peut être un cathéter (Denis et al., 2011).

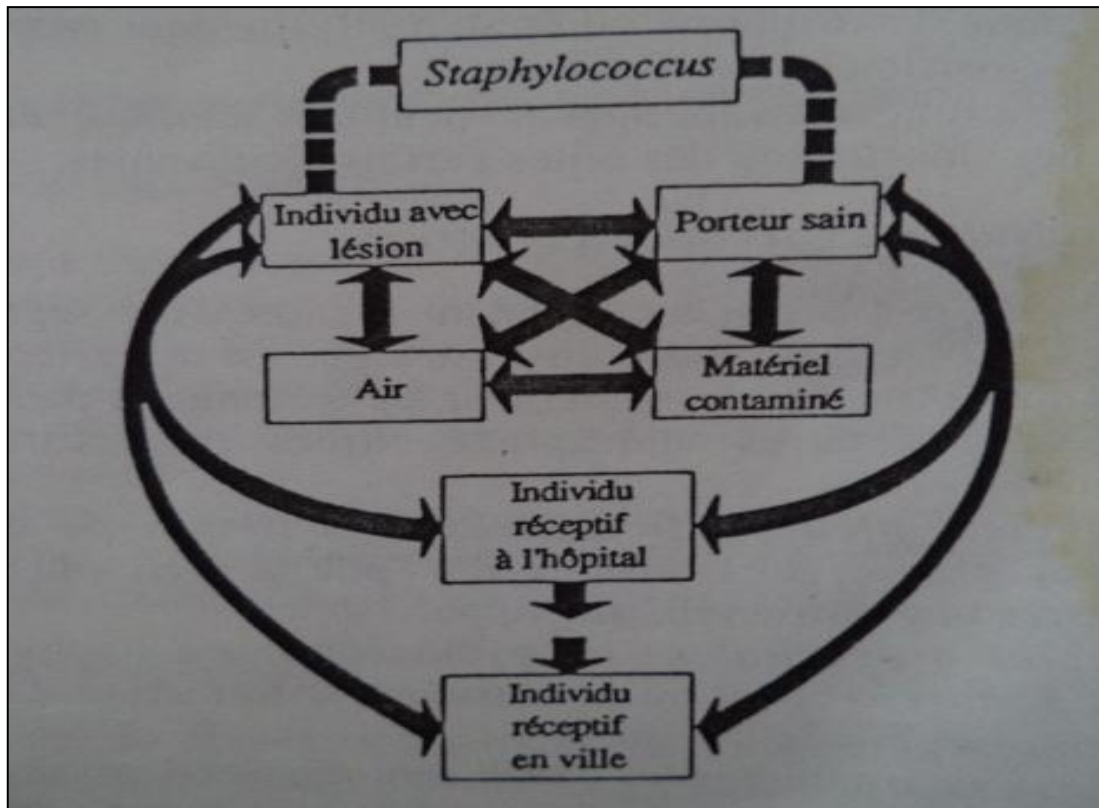


Figure 02 : Voies de transmission des Staphylocoques (Avril *et al.*, 1992).

a. *Staphylococcus aureus*

S. aureus se présente sous l'aspect de cocci en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chainettes (3 à 5 éléments), mesurant de 0,8 à 1 μm , gardant le Gram. Sur les cultures en milieu solide il se dispose en «grappe de raisin», alors qu'en milieu liquide il est aussi isolé, en diplocoque. Il est immobile, non sporulé et ne possède pas de capsule visible au microscope optique sauf de très rares souches (souche Smith) ; d'autres souches formant des colonies mucoides sont entourées d'un pseudo capsule. *S. aureus* est aérobic, anaérobic facultatif et cultive facilement sur milieu ordinaire ; certains facteurs de croissance sont indispensables (vitamine B1, acide nicotinique) ; il n'exige pas de biotine ni de tryptophane des sels, du glucose et 14 aminoacides dont la cystéine, la thiamine et l'acide nicotinique. La température de croissance optimale est de 37° C (de + 10 à + 45° C), le pH optimal est de 7,5 mais de grandes variations sont tolérées. La plupart des souches produisent un pigment jaune-doré ou jaune-citron ; mais certaines donnent des colonies blanches ; le caractère pigmentaire n'est donc pas propre à l'espèce (Leminor et Véron, 1982).

- **Pouvoir pathogène**

Staphylococcus aureus, comme toute bactérie pyogène, est à l'origine d'infections suppuratives. Il s'agit le plus souvent d'auto-infections à partir de la flore endogène, mais

l'origine peut aussi être exogène ; c'est le cas des toxi-infections. Les infections suppuratives impliquent une prolifération bactérienne, une invasion, une destruction des tissus de l'hôte et une réponse inflammatoire locale et systémique. Elles sont à l'origine de staphylococcies cutanées, sous-cutanées et muqueuses qui peuvent être superficielles (impétigo, onyxis et folliculites) ou profondes (furuncles, abcès, hidrosadénites et anthrax) de septicémies ; de staphylococcies viscérales à partir de bactériémies, avec des localisations osseuses (ostéomyélites), pleuropulmonaires, urogénitales, neuroméningées ou cardiaques (endocardites). Les infections nosocomiales à *S. aureus* ne sont pas exceptionnelles, infections du site opératoire, ostéoarticulaires, neurochirurgicales ou endophtalmiques (**Denis et al., 2011**).

7.3. Genre *Enterococcus*

Le genre *Enterococcus* est constitué de cocci à Gram positif groupés par paires ou en courtes chainettes. Il se distingue du genre *Streptococcus* par des caractères génotypiques et par sa capacité à cultiver sur des milieux hostiles (en particulier ceux contenant une concentration élevée de Na Cl). Les espèces le plus fréquemment isolées chez l'homme sont *E. faecalis* et *E. faecium*. Les entérocoques sont des commensaux du tube digestif, chez l'homme et chez l'animal (**Nauciel et Vildé, 2005**).

Les entérocoques peuvent être impliqués dans des infections urinaires, des endocardites. On les trouve fréquemment dans des suppurations intra-abdominales, en général associés à d'autres bactéries. Les infections localisées peuvent être à l'origine de bactériémies. La place des entérocoques dans les infections nosocomiales tend à augmenter (**Nauciel et Vildé, 2005**).

8. Lutte contre les infections nosocomiales

Les mesures de lutte et de prévention des infections nosocomiales répondent aux procédures générales de lutte contre les infections. Dans le détail, ces mesures sont tellement diverses et nombreuses qu'elles ne peuvent être traitées de manière exhaustive. Elles varient aussi selon la situation de chaque hôpital. En simplifiant, ces différentes mesures peuvent être classées en trois catégories. (**Kayser et al., 2008**).

- **Mesures professionnelles**

Ce terme générique regroupe toutes les mesures concernant le traitement et les soins au patient et le nettoyage. Elles comprennent l'asepsie, la désinfection, la stérilisation et le nettoyage. Comme autres mesures préventives on peut citer l'isolement des patients qui sont des sources d'infection, et l'usage ciblé des antibiotiques.

C'est d'établir une commission d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales locale. Les missions de la commission sont : évaluation et analyse de la situation ; définition des mesures nécessaires pour l'amélioration de l'hygiène ; élaboration de guides pratiques ; participation à la planification et à la mise en place de nouvelles installations professionnelles ; participation à l'organisation fonctionnelle dans différents domaines de la vie de l'hôpital ; participation à la formation du personnel aux questions d'hygiène hospitalière. Pour ces missions, la commission doit se doter d'un groupe de travail spécifique. **(Kayser *et al.*, 2008).**

- **Mesures architecturales**

Celles-ci concernent essentiellement les nouveaux bâtiments, qui doivent répondre à des critères d'hygiène. **(Kayser *et al.*, 2008).**

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques des bactéries des infections nosocomiales

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques des bactéries des infections nosocomiales

1. Antibiotiques

1.1. Définition

Les antibiotiques sont, des agents antimicrobiens non ou relativement peu toxiques pour l'organisme, de sorte que l'on peut, au moins pour la plupart d'entre eux, les administrer par voie générale, condition nécessaire au traitement de la majorité des infections. **(Duval et Soussy ,1977)**.

Les agents antibactériens utilisés en thérapeutique sont les antibiotiques, élaborés par d'autres micro-organismes, ainsi que certains produits de synthèse chimique, s'en rapprochant par leurs modalités d'action et que l'on a coutume d'y assimiler : sulfamides, quinolones, furanes...etc., selon leurs origines, leurs formules et leur mode d'action au niveau moléculaire. Les antibiotiques utilisables dans le traitement des maladies infectieuses sont ceux qui ont fait la preuve d'une toxicité sélective envers la bactérie visée, tout en respectant l'hôte humain ou animal. **(Leminor et Véron, 1982)**.

1.2. Origine

Les antibiotiques sont élaborés par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique) **(Rahal, 2013) (Tab. 01)**.

Tableau 01 : Origine des principaux antibiotiques (Duval et Soussy ,1977).

Origine biologique	Produits de synthèse
- Bêta-Acétamides, Pénicillines céphalosporines - Oligosaccharides ou aminosides - Groupe du chloramphénicol - Tétracyclines - Macrolides et apparentés - Rifamycines - Polypeptides	- Sulfamides - Quinolones - Dérivés de l'oxyquinoléine - Dérivés des nitrofuranes

1.3. Propriétés

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

- Activité antibactérienne ;

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques des bactéries des infections nosocomiales

- Toxicité sélective ;
- Etre actifs en milieu organique puisqu'ils doivent atteindre les agents infectieux dans l'organisme, dans le sang et au sein des tissus ;
- Pouvoir être absorbés et diffuser dans l'organisme. (Duval et Soussy ,1977).

1.4. Mode d'action

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte.

Ils agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Selon leur nature et leur concentration, les antibiotiques agissent selon deux principes différents, la bactériostatique et la bactéricide. (Fig.03).

Bactéricides	Bactériostatiques
β -Lactamines (sur bactéries en croissance)	Phénicolés
Vancomycine	Tétracyclines
Polypeptides	Macrolides et lincosamides
Aminosides	Acide fusidique
Streptogramines	Sulfamides
Quinolones	Rifampicine (plus ou moins bactéricide)
5-Nitro-imidazolés	Synergistines
Polymyxines	Fosfomycine

Figure 03 : Les antibiotiques bactéricides et les antibiotiques bactériostatiques (Joffin et Leyral, 2006).

Le mécanisme d'action des antibiotiques n'est pas toujours parfaitement élucidé mais on distingue deux grands modes d'actions :

- Toxicité sélective au niveau de la synthèse, de la paroi bactérienne, des enveloppes membranaires, des protéines, des acides nucléiques ;
- Inhibition compétitive Dans ce cas, l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie. (Béraud, 2014) (Fig.04).

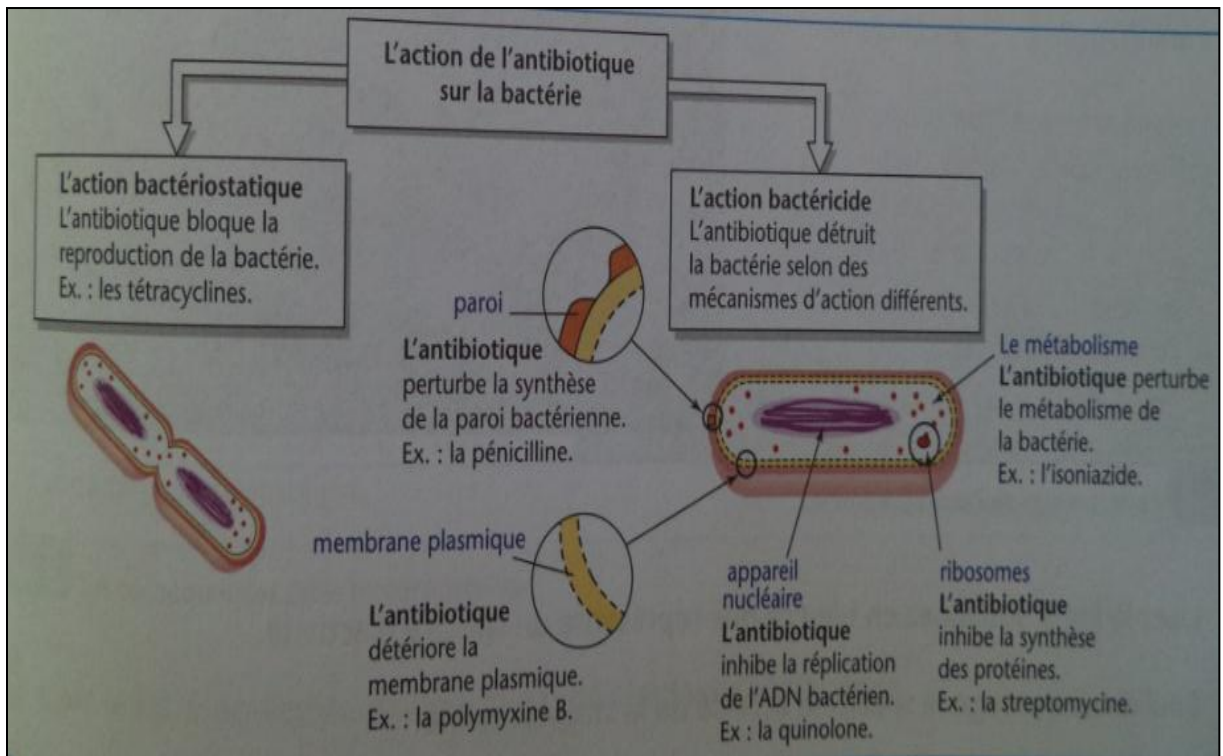


Figure 04 : Le mode d'action d'un antibiotique (Lavaivre *et al.*, 2011).

1.5. Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon l'origine, le mode d'action, le spectre d'activité (liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs) et la nature chimique qui est très variable et basée souvent sur une structure de base sur laquelle il ya hémi-synthèse.

La classification selon la nature chimique permet de classer les antibiotiques en familles (β -lactamines, aminosides, tétracycline, ...etc.)

1.5.1. β -lactamines

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus importante, elle regroupe les pénicillines, les céphalosporines, les Carbapénèmes et les monobactames. Toutes ces molécules partagent des propriétés en commun : structurales avec un cycle β -lactame et fonctionnelles avec un mécanisme d'action identique, ce sont tous des antibiotiques bactéricides (**Fig. 05**) (Béraud, 2014). Sur se cycle greffent des radicaux linéaires ou cycliques qui justifient l'appartenance aux différents sous-groupes et qui expliquent les propriétés pharmacocinétiques et microbiologiques des différents composés. (Béraud, 2014).

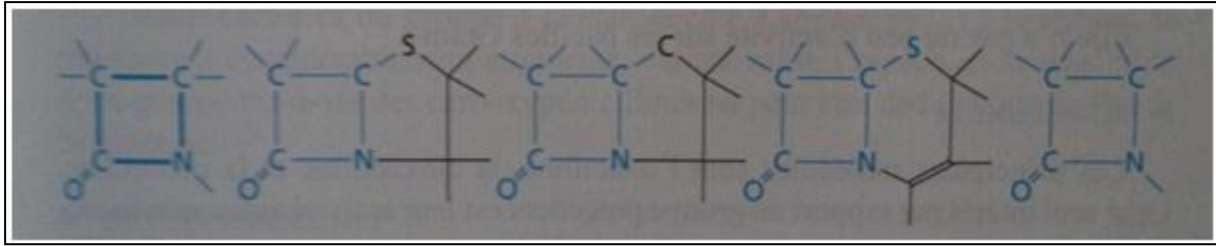


Figure 05 : Noyau β -lactame et principaux dérivés. (Béraud, 2014).

a. Pénicillines

Il existe une approche pour bloquer la production de pénicillinase ; il s'agit de combiner les pénicillines avec du clavulanate de potassium (acide clavulanique), produit synthétisé par un streptomycète. Le clavulanate de potassium, qui ne présente pratiquement aucune activité antimicrobienne, est un inhibiteur non compétitif de la pénicillinase. Cette molécule a été combinée avec quelques-unes des nouvelles pénicillines à large spectre, telles que l'amoxicilline. (Martin *et al.*, 2012) (Fig.06).

b. Carbapénèmes

Les Carbapénèmes possèdent un spectre d'action étonnamment étendu. Ces antibiotiques exercent leur activité en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire et ils constituent une autre modification de la structure du cycle β -lactame. Primaxin, l'antibiotique représentatif du groupe, est une combinaison d'imipenème et de cilastatine. La cilastatine est une substance qui n'a pas d'activité antimicrobienne, mais qui empêche la dégradation du mélange dans les reins. (Martin *et al.*, 2012).

c. Céphalosporines

Les céphalosporines inhibent la synthèse de la paroi cellulaire essentiellement par le même mécanisme d'action que les pénicillines. Parmi les antibiotiques de type β -lactamines, ce sont les plus largement utilisés. Le cycle β -lactame des céphalosporines diffère légèrement de celui de la pénicilline. Les céphalosporines sont toutefois sensibles à l'action d'un groupe particulier de β -lactamase produites par les bactéries.

On classe le plus souvent les céphalosporines par générations, mettant ainsi en évidence leur évolution dans le temps. Celles de la deuxième génération agissent sur une plus grande variété de bactéries à Gram négatif. Celles de la troisième génération, telles que la ceftazidime, sont les plus efficaces contre les bactéries à Gram négatif, y compris certaines du genre *Pseudomonas*. (Martin *et al.*, 2012) (Fig.06).

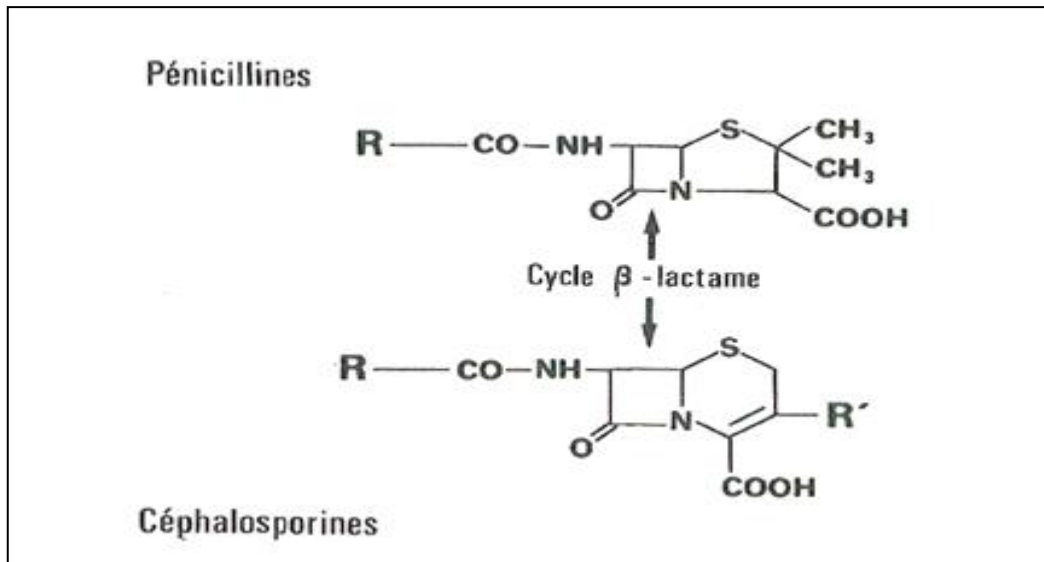


Figure 06 : La structure chimique des pénicillines et céphalosporines (Duval et Soussy, 1977).

1.5.2. Aminoglycosides et aminosides

a. Aminoglycosides

Forment une famille d'antibiotiques dont les molécules sont reliées par des liaisons glycosidiques. Ils comprennent la streptomycine et la gentamicine, qui perturbent les premières étapes de la synthèse des protéines en modifiant la conformation du ribosome procaryote. Ils font partie des premiers antibiotiques à présenter une activité notable contre les bactéries à Gram négatif. (Martin *et al.*, 2012).

b. Aminosides

Le mieux connu est probablement la streptomycine, découverte en 1944. L'accroissement rapide de la résistance à cet antibiotique et ses effets toxiques sérieux ont fortement diminué son utilité. (Martin *et al.*, 2012).

1.5.3. Quinolones et fluoroquinolones

Au début des années 1960, l'acide nalidixique, le premier membre de la famille des quinolones, a été synthétisé. Cet agent antibactérien exerce un effet bactéricide remarquable par son inhibition sélective d'une enzyme (l'ADN gyrase) nécessaire à la réplication de l'ADN. En dépit de son usage limité au traitement des infections urinaires, l'acide nalidixique, l'a conduit dans les années 1980 à la mise au point d'une nouvelle famille de quinolones synthétiques particulièrement utile, les fluoroquinolones. Les fluoroquinolones sont regroupées selon leur spectre d'action en plusieurs générations. Les premières

génération ont le spectre d'action le plus étroit. Elles comprennent la norfloxacine et la ciprofloxacine, parmi les fluoroquinolones récentes, on trouve la gatifloxacine, la gémifloxacine et la moxifloxacine. Dans l'ensemble, les fluoroquinolones sont relativement peu toxiques, par contre, il arrive que les bactéries deviennent résistantes en peu de temps, parfois au milieu d'un traitement. (Martin *et al.*, 2012).

2. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques d'une espèce bactérienne n'est pas un phénomène stable dans le temps. L'évolution est en fonction du germe et de la nature de l'antibiotique. Il existe deux types de résistance aux antibiotiques : la résistance naturelle et la résistance acquise (Eberlin, 1997).

2.1. Résistance naturelle

Il s'agit d'une propriété naturelle, intrinsèque au germe. Cela se produit, par exemple, lorsque le germe ne possède pas la cible de l'antibiotique. Ce phénomène naturel peut se produire lors du processus infectieux. Le patient est infecté au départ par une population mixte composée de germes majoritairement sensibles et de quelques souches résistantes. Le traitement inhibe la croissance des souches sensibles et les souches résistantes voient leur croissance s'accélérer : les souches résistantes ont été sélectionnées. Le traitement semble efficace au premier abord, et l'échec thérapeutique ne se révèle qu'au bout de quelques jours. Ce phénomène peut être toutefois perçu lors de l'antibiogramme s'il est bien mené. (Eberlin, 1997).

2.2. Résistance acquise

Ce type de résistance n'affecte au départ qu'une seule souche. La modification de la souche provient d'une mutation, d'une série de mutations chromosomiques (10% des cas), ou d'un échange de matériel génétique par des plasmides ou des transposons (90% des cas). De façon générale, le transfert s'effectue plutôt par la conjugaison pour les bactéries à paroi Gram négatif (Entérobactéries), et plutôt par la transformation pour les bactéries à paroi Gram positif (Staphylocoques).

La sélection évoquée ci-dessus pour les souches naturellement résistantes joue dans le même sens. De la même façon, il est noté l'émergence des souches résistantes, voire pluri résistantes, dans les lieux où la pression en antibiotiques est forte (milieu hospitalier par exemple) (Eberlin, 1997).

2.2.1. Mutation

C'est une modification brusque au niveau du chromosome ou de structure analogue au chromosome (plasmide) d'un caractère transmissible héréditairement. Elle entraîne une modification à l'échelle moléculaire qui touche :

- Soit une diminution de la perméabilité de la paroi ou de la membrane cellulaire perturbant ainsi le transport de l'antibiotique ;
- Soit une modification des cibles intracellulaires qui deviennent insensibles à l'action de l'antibiotique ;
- Soit à la modification de la synthèse d'enzymes naturelles, qui sont alors produites à forte concentration ; (Nichlin *et al.*, 2000).

2.2.2. Plasmide

C'est un ADN double brin extra chromosomique, de taille variable (0,5 Kb à 500 Kb) capable de s'auto répliquer et de se transférer d'une bactérie à une autre. Il peut porter plusieurs gènes codant pour des propriétés nouvelles, ce qui confère à la bactérie la capacité de s'adapter aux conditions extérieures.

Contrairement à la mutation qui conduit à la résistance à un seul antibiotique, le plasmide peut véhiculer la résistance à plusieurs antibiotiques à la fois. (Nichlin *et al.*, 2000).

2.2.3. Transposon

C'est un gène mobile appelé gène «sautant», codant pour une résistance aux antibiotiques et qui possède des séquences d'insertion, ce qui lui confère la capacité de se transférer d'un plasmide vers le chromosome, d'un chromosome vers un autre chromosome ou d'un plasmide vers un autre plasmide. Il peut véhiculer plusieurs gènes de résistance, il ne peut pas se répliquer mais code pour des éléments de transposition. La transposition est un phénomène qui consiste à additionner des gènes de taille définie au sein du chromosome bactérien ou du plasmide. (Nichlin *et al.*, 2000).

2.2.4. Intégrons

Ce sont des systèmes d'éléments génétiques capables d'acquérir ou de perdre des gènes et dont la découverte remonte aux années 1980. (Nichlin *et al.*, 2000).

Les intégrons constituent un système de capture et d'expression de gènes sous forme de cassettes. Les cassettes sont des éléments mobiles capables d'être intégrés ou excisés par un mécanisme de recombinaison spécifique de site médié par une intégrase. (Nichlin *et al.*, 2000) (Fig.07).

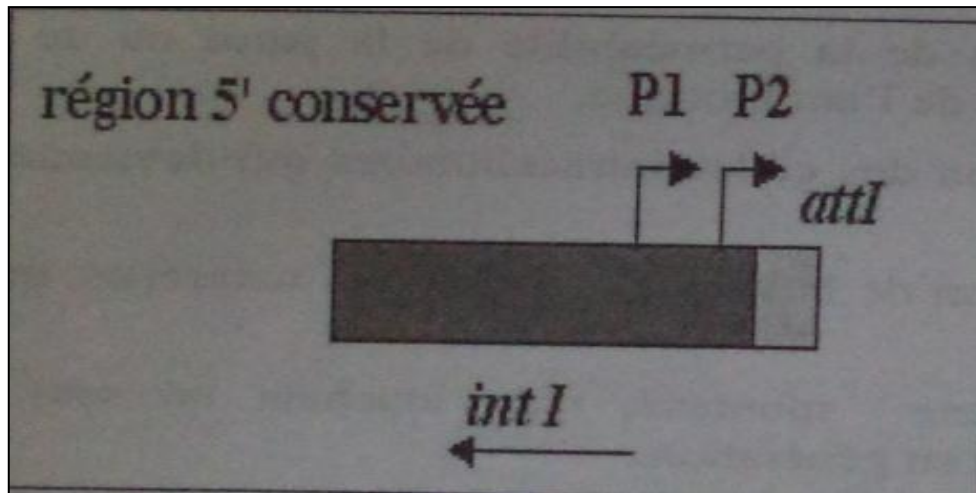


Figure 07 : Schéma d'un intégrons (Nichlin et al., 2000).

3. Mécanismes de résistance

Divers mécanismes permettent aux bactéries d'être résistantes aux antibiotiques. Le germe peut détruire l'antibiotique et donc le rendre inefficace. Ce mécanisme joue dans les cas de résistance aux β -lactamines dues à la présence d'une β -lactamase qui hydrolyse le noyau β -lactame. C'est la principale cause de résistance aux β -lactamines. (Eberlin, 1997).

Dans d'autres cas, la bactérie devient capable de croître en présence de l'antibiotique non modifié, par suite d'une « tolérance » de la drogue.

Ces termes recouvrent des faits différents, souvent encore mal connus, de deux types principaux :

- Non pénétration de l'antibiotique dans la bactérie ; il n'atteint pas son site d'action ; ceci résulte d'une imperméabilité de la membrane bactérienne à l'antibiotique, conséquence parfois de la modification des perméases impliquées dans la pénétration ;
- Modification de la structure du site d'action, de sorte qu'il n'est plus affecté par l'antibiotique, qui ne se fixe plus sur lui.

Il peut s'agir peut-être parfois de phénomènes plus rares et d'ailleurs encore hypothétiques :

- Augmentation de production d'un métabolite inhibiteur de la drogue ;
- Diminution des exigences de la bactérie vis-à-vis d'un métabolite dont l'antibiotique inhibe la production.

Cette évolution des bactéries vers la résistance aux antibiotiques a atteint maintenant un tel niveau qu'il est indispensable que tout médecin la connaisse et soit parfaitement informé des mécanismes qui en sont responsables. (Duval et Soussy, 1977).

4. Bactéries multi résistantes (BMR)

Les bactéries multi résistantes (BMR) sont des bactéries qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles et acquises, ne sont plus sensibles qu'à un nombre réduit d'antibiotiques parmi la gamme de molécules habituellement actives en thérapeutique.

Il est admis que les BMR sont des bactéries qui ne restent sensibles qu'à un faible nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique. En raison de leur fréquence élevée, de leur potentiel pathogène, de leur caractère commensal qui expose au risque de diffusion, de leur caractère clonal ou du caractère aisément transférable des gènes de résistance impliqués, les deux bactéries considérées par les autorités de santé nationales et internationales comme des BMR sont :

- Les *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) ;
- Les Entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (ou élargi) (BLSE).

D'autres BMR sont prises en compte dans les politiques de maîtrise de la transmission croisée : *S. aureus* de sensibilité diminuée à la vancomycine ou aux glycopeptides, entérobactéries productrices de carbapénémases (**Rahal, 2013**).

4.1. Ampleur du problème

Les BMR connaissent actuellement une émergence mondiale, aussi bien en milieu communautaire qu'hospitalier. L'émergence et la circulation de clones multi résistants d'espèces bactériennes en milieu communautaire, souvent sous forme de bouffées épidémiques, posent un problème de prise en charge thérapeutique et de prévention de l'extension épidémique. Les mesures préventives à mettre en place exigent des moyens spécifiques, propres à la situation épidémiologique vécue à l'échelle de la communauté et dictées par la gravité de la pathologie infectieuse causée par l'agent. (**Rahal, 2013**).

4.2. Diffusion des BMR

En milieu hospitalier, la diffusion des BMR se fait à partir de patients infectés ou colonisés ; ces patients ; appelés porteurs de BMR, En effet, les facteurs de diffusion des BMR sont :

- La réadmission d'un porteur de BMR dans un autre service ou un autre établissement de soin, au niveau duquel il va véhiculer et disséminer le germe ;
- La méconnaissance du portage de BMR. Ces patients porteurs n'étant pas dépistés à l'admission et leur dossier médical ne signalant pas le portage, aucune mesure n'est prise pour en éviter la diffusion.

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques des bactéries des infections nosocomiales

- La durée prolongée de portage de BMR. Elle expose au risque de diffuser le germe dans certaines collectivités fragiles (pouponnières, maisons de retraite...);
- La pression de sélection pour traiter les infections nosocomiales graves dues à des BMR, il faut employer des molécules à large spectre ; ceci expose l'écologie microbienne hospitalière à une forte pression de sélection qui favorise l'émergence des BMR : c'est ce qu'on appelle « la spirale de la résistance ». (Rahal, 2013).

5. Résistance aux antibiotiques chez les Entérobactéries

5.1. Résistance aux β -lactamines

Les Entérobactéries sont soit naturellement sensibles aux β -lactamines (*Escherichia coli*), soit naturellement résistantes, soit elles ont une résistance acquise. (Bouguenoun, 2017).

5.1.1. Résistance naturelle

Une résistance des Entérobactéries aux β -lactamines est observée naturellement dans la plupart des espèces. Cette résistance est liée à la production de β -lactamases (Bouguenoun, 2017) (Fig.08).

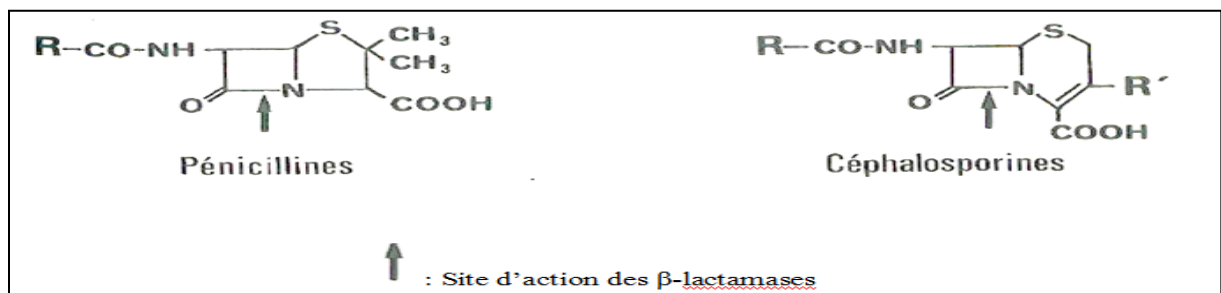


Figure 08 : Site d'action des β -lactamases au niveau de la famille des β -lactamines (Duval et Soussy, 1977).

5.1.2. Résistance acquise

Les bactéries peuvent également acquérir la résistance à un antibiotique. Dans ce cas, la résistance acquise est présente seulement dans certaines souches de l'espèce. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou d'une acquisition de matériel génétique étranger. (Bouguenoun, 2017).

5.1.3. Résistance non enzymatique

- **Modification de la cible**

Les cibles des bêta-lactamines sont des protéines enzymatiques insérées dans la surface externe de la membrane cytoplasmique dénommées protéine liant la pénicilline (PLP). Les PLP sont des cibles physiologiques des antibiotiques de la famille des β -lactamines.

Des modifications des PLP par mutation ont été impliquées dans la résistance aux β -lactamines. Ces mutations restent rares chez les Entérobactéries (**Bouguenoun, 2017**) (**Fig.09**).

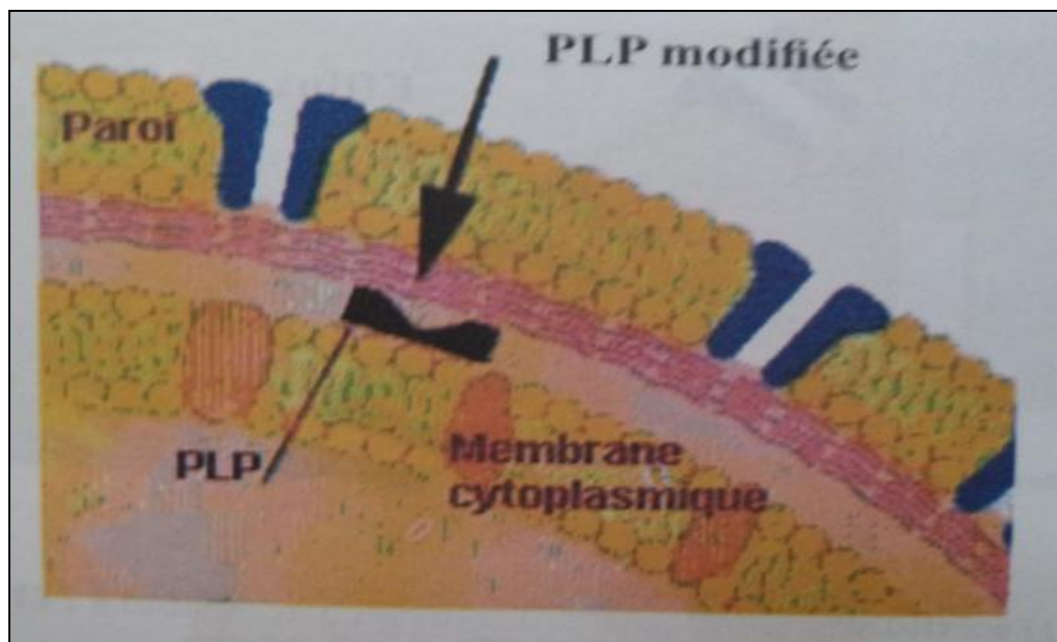


Figure 09 : Résistance par modification des protéines liant les pénicillines (**Lavaivre et al., 2011**).

- **Imperméabilité**

Trois phénotypes de résistance sont associés à ces modifications : une résistance de bas niveau à la céfoxitine, associée ou non à une résistance de bas niveau aux céphalosporines de 1^e et 2^e génération, une résistance isolée aux céphalosporines de 4^e génération chez des souches hyper productrices de céphalosporinases et une résistance aux carbapénèmes chez des souches hyper productrices de céphalosporinases ou de BLSE. (**Bouguenoun, 2017**) (**Fig.10**).

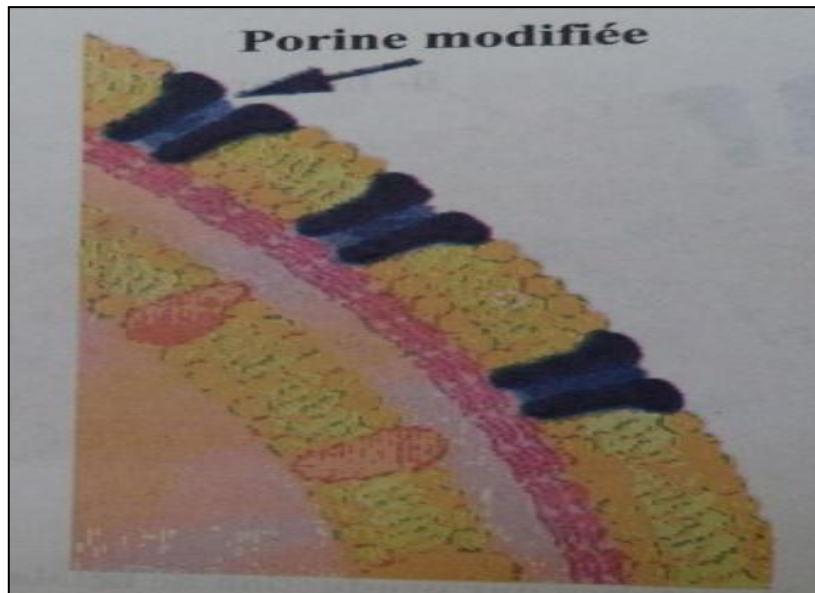


Figure 10 : Résistance par imperméabilité avec modification de la porine (Lavaivre *et al.*, 2011).

- **Hyperproduction de systèmes d'efflux**

Ce sont des pompes métaboliques assurant l'expulsion active des produits toxiques comme les antibiotiques, ces systèmes entraînent une résistance généralement à bas niveau et croisée, à différentes familles d'antibiotiques. Cependant ce type de mécanisme touchant préférentiellement la céfoxitine. (Bouguenoun, 2017) (Fig.11).

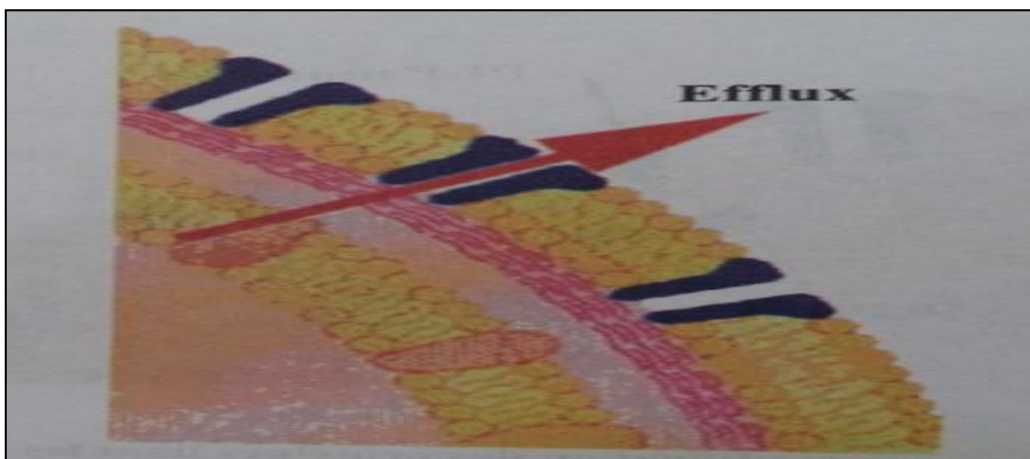


Figure 11 : Résistance par efflux avec refoulement de l'antibiotique (Lavaivre *et al.*, 2011).

5.1.4. Résistance enzymatique

Les β -lactamase sont des enzymes hydrolysant les β -lactamines. Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace péri plasmique. La présence de ce type de mécanisme de résistance au sein de souches pathogènes fait peser un risque majeur d'échec thérapeutique, et

est également un facteur de diffusion. (Bouguenoun, 2017). Les gènes qui codent pour ces β -lactamase peuvent être chromosomiques, faisant partie du patrimoine génétique de certaines espèces bactériennes ou portés par des éléments génétiques mobiles (des plasmides, des intégrons et des transposons).

La production de β -lactamase qui inactive certaines β -lactamines est le mécanisme le plus commun de la résistance chez les entérobactéries, ces β -lactamase comprennent les β -lactamase à spectre étendu (BLSE), les céphalosporinases de haut niveau et les carbapénémases. (Bouguenoun, 2017) (Fig.12).

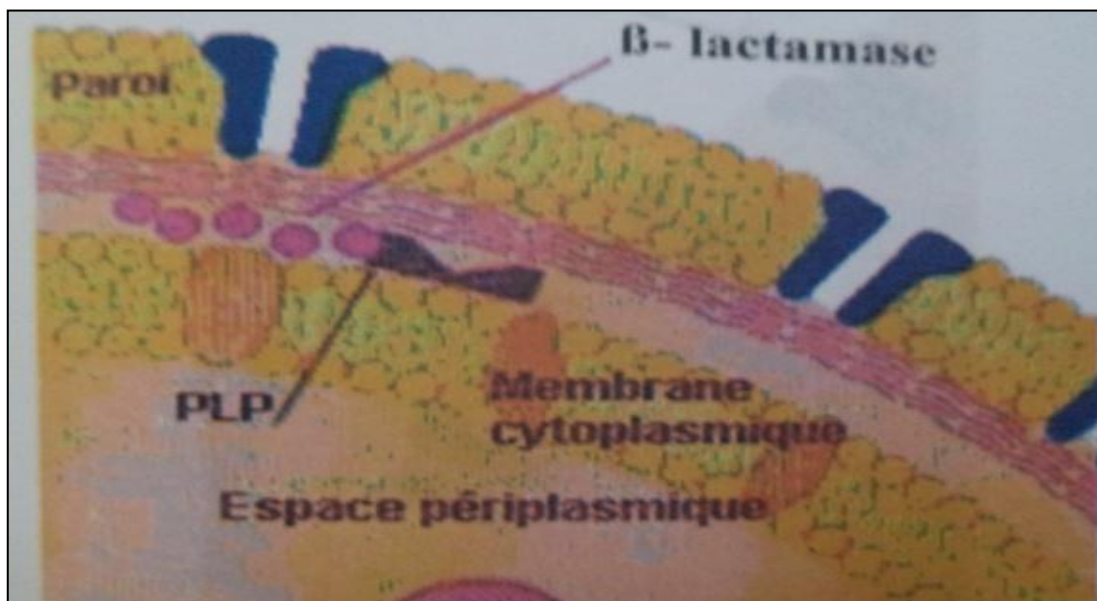


Figure 12 : Résistance par production de bêta-lactamase (Lavaivre *et al.*, 2011).

6. Résistance aux antibiotiques chez Staphylocoques

La facilité avec laquelle cette espèce bactérienne devient résistante aux antibiotiques a été observée dès les premiers essais de la pénicilline G, qui furent suivis quelques mois après de la sélection de souches résistantes capables d'inactiver l'antibiotique par une enzyme, la pénicillinase. La résistance à la pénicilline G et ses dérivés, ainsi qu'aux ampicillines et produits voisins, se fait presque toujours par production d'une pénicillinase de type inductible et extracellulaire. Il existe plusieurs types antigéniques différents de pénicillinases, A, B, C, D ; ces protéines ont été purifiées et leurs constantes enzymatiques déterminées ; elles sont presque toujours codées par des plasmides.

La tolérance est un mode de résistance décrit récemment vis à vis des beta-lactamines. Il s'agit de souches pour lesquelles les CMI de beta-lactamines sont faibles (souches sensibles)

mais les CMB sont très élevées. Ces souches libèrent un inhibiteur des auto lysines naturelles, en particulier des hydrolases du peptidoglycane (**Leminor et Véron, 1982**).

7. Résistance aux antibiotiques chez Entérocoques

Les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) sont en augmentation constante depuis leurs premières identifications dans les années 80 (Europe et États-Unis) et 90 (Canada) (**INSPQ, 2015**).

Ce sont des bactéries Gram positif ayant développé des mécanismes d'adaptation leur permettant de survivre dans les tractus digestif et génital humains (**Mandell *et al.*, 2010; Higuita et Huycke, 2014**).

Le principal réservoir pour les ERV dans les milieux de soins est constitué par les selles des résidents colonisés. Ces bactéries peuvent survivre dans l'environnement pendant des périodes de temps variant de 5 jours à environ 4 mois, selon les conditions environnementales (**ASPC, 2010**).

E. faecalis et *E. faecium* sont les espèces les plus fréquemment retrouvées parmi la trentaine d'espèces reconnues (**INSPQ, 2015; Higuita et Huycke, 2014**).

Chapitre III : Matériel et Méthodes

Chapitre III : Matériel et Méthodes

Les analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Ibn Zohr.

1. Site d'étude

Pour satisfaire les objectifs de la présente étude, un hôpital a été choisi dans la ville de Guelma, il s'agit de l'hôpital Ibn Zohr. Avec une capacité d'accueil 220 lits, cet hôpital dispose de trois services, un pour la Phtisiologie, un pour les Maladies infectieuses dont notre étude est incluse et un dernier service pour l'Hémodialyse (**Fig. 13**).

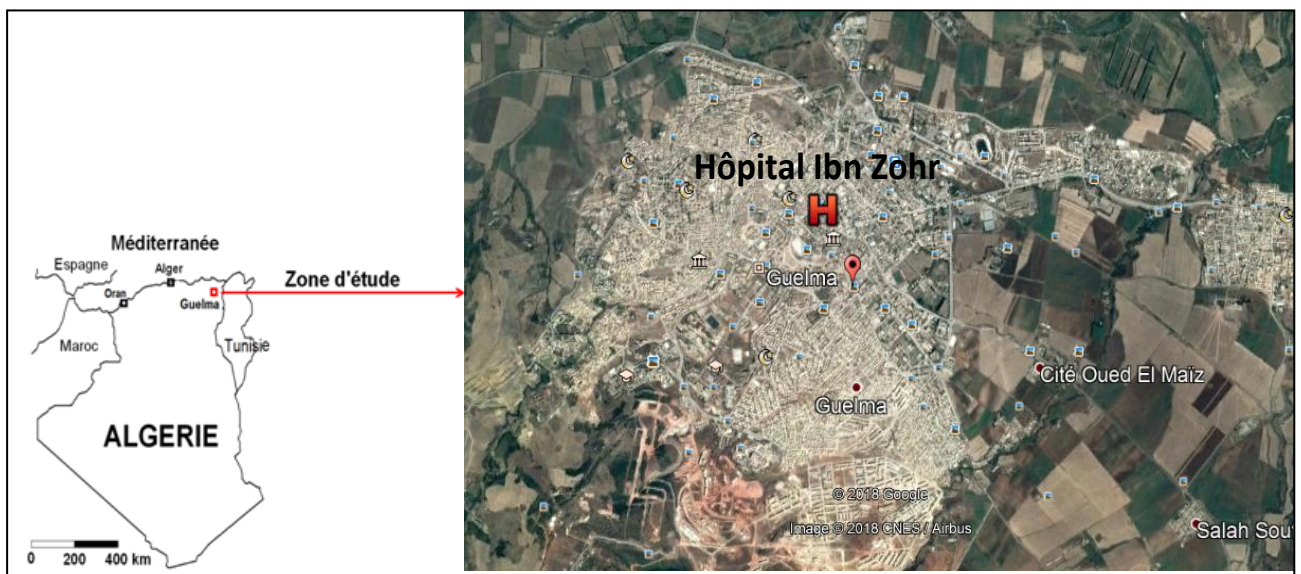


Figure 13 : Situation géographique du site d'étude (modifiée) (Google Earth, 2018).

2. Prélèvement

Dans le but d'identifier les bactéries du milieu hospitalier, des prélèvements ont été établis sur une période allant de 12 mars au 29 mars, 2018, à partir des surfaces inertes des différentes salles (coté hommes et coté femmes), du matériel et du personnel du service des maladies infectieuses comme ci-dessous :

➤ Coté hommes

Le prélèvement a été effectué à partir des surfaces inertes (tables, potences, lits, portes, poignées des portes, robinets, porte-savons et chariots) des 7 salles de soin, une salle d'isolement, un bureau de médecins, les toilettes et des interrupteurs.

➤ **Coté femmes**

Le prélèvement a été effectué à partir des surfaces inertes (tables, potences, lits, armoires, portes, frigo, chaises roulantes, poignés des portes, robinets, porte-savons et chariots) des 7 salles de soin, une salle d'isolement, les toilettes et des interrupteurs. Aussi, des prélèvements ont été réalisés à partir du personnel du service (trois femmes).

➤ **Prélèvement après stérilisation**

Durant la période de 25 Avril au 6 Mai 2018, prélèvements ont été effectués à partir des surfaces inertes désinfectées où il y aura des souches bactériennes présentant une résistance aux antibiotiques.

2.1. Techniques d'échantillonnage

La méthode utilisée pour prélever des échantillons de surface est la technique par écouvillonnage. Elle consiste à balayer la surface à contrôler à l'aide d'un écouvillon stérile humidifié. Les étapes sont les suivantes :

- Humidifier un écouvillon en le trempant dans un tube contenant du bouillon nutritif ;
- Eliminer l'excès de liquide en pressant légèrement le coton sur la paroi du tube ;
- Rouler doucement l'écouvillon sur la surface à contrôler (par exemple 2 cm²) ;
- Placer l'écouvillon dans un tube contenant un volume connu (2 ml) du bouillon nutritif (Fig. 14).

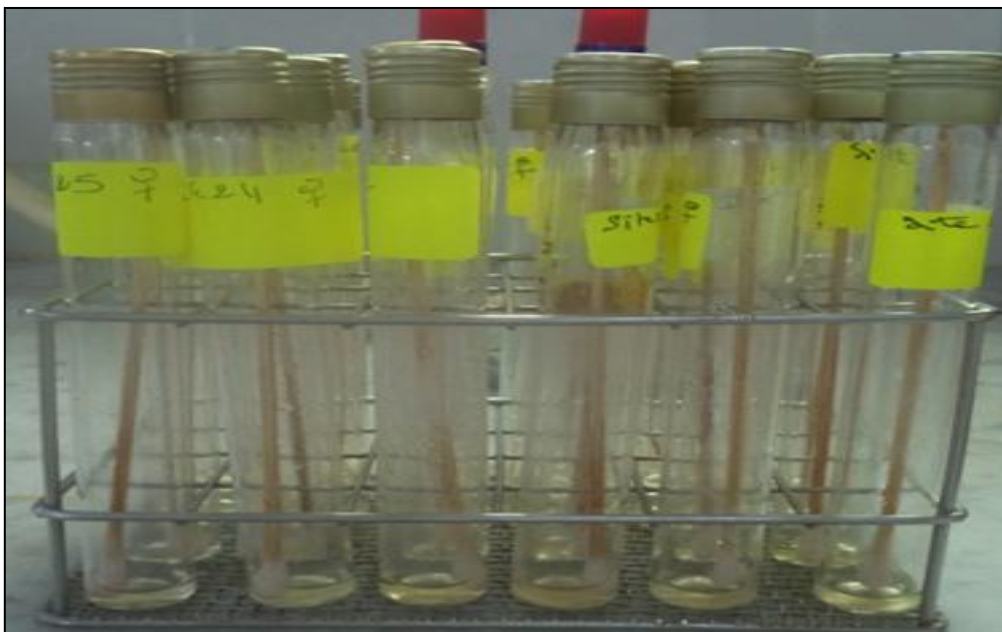


Figure 14: Prélèvement de surface par écouvillonnage.

2.2. Transport

Les échantillons prélevés ont été transmis immédiatement vers le laboratoire de microbiologie de l'hôpital Ibn Zohr.

3. Méthodes d'analyse

Il est noté que l'analyse des surfaces inertes du milieu hospitalier a été réalisée en deux étapes, la première une avant désinfection et la deuxième après désinfection de ces surfaces.

3.1. Ensemencement

Chaque échantillon a été ensemencé directement à l'aide d'une pipette Pasteur sur trois (03) milieux de culture (Gélose nutritive, Mac Conckey, Chapman) par la méthode de quatre (04) quadrants avec le même écouvillon du prélèvement. Ensuite, les milieux sont incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures.

3.2. Purification des souches

Après incubation, la purification des colonies suspectes est procédé par repiquage successif sur les mêmes milieux de cultures afin d'obtenir des cultures pures.

4. Identification

Après une observation macroscopique et microscopique à l'état frais, l'identification s'est déroulée comme suit :

4.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram est basée sur la différence de perméabilité des bactéries à l'alcool, donc sur leur capacité à retenir dans leur cytoplasme et leur paroi un colorant primaire. Cette différence de perméabilité est liée à une différence de structure pariétale des deux grands groupes Gram + et Gram – (**Béraud, 2014**).

- **Technique**

➤ Réalisation d'un frottis :

- Déposer au centre d'une lame propre une petite goutte d'eau distillée stérile ;
- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur une parcelle de la culture ;
- En décrivant avec pipette pasteur un mouvement circulaire de façon à obtenir un étalement mince et homogène de un à deux centimètres carrés ;
- Passer le frottis sous le bec benzène sans trop le chauffer.

➤ Coloration

- Recouvrir la lame de la solution de violet de gentiane pendant 1 min ;
- Rincer avec l'eau de robinet ;
- Recouvrir la lame de la solution de lugol, laisser agir 1 min ;
- Rincer avec l'eau de robinet ;
- Décolorer avec l'utilisation de l'alcool. Laisser agir 30 seconds ;
- Rincer avec l'eau de robinet ;
- Recouvrir de fuchsine pendant 1 min.
- Rincer avec l'eau de robinet.
- Laisser la lame sécher et puis déposer une goutte d'huile de vasline sur le frottis pour une image plus nette.
- Observer au microscope à immersion à l'objectif $\times 100$

➤ Lecture

Les bactéries Gram + apparaissent en bleu foncé ou violet, les Gram – en rose ou rouge. (Béraud, 2014).

4.2. Catalase et oxydase**• Catalase**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H_2O et $1/2 O_2$.

- Déposer une goutte d'eau oxygéné (H_2O_2) sur une lame ;
- Déposer, à l'aide de l'anse de platine ou d'une pipette Pasteur, une colonie isolée ;
- Observer l'apparition de bulles.

• Oxydase

Le cytochrome oxydase ou oxydase est une enzyme de la chaîne respiratoire bactérienne qui catalyse des réactions d'oxydation. En présence d'oxygène ambiant, cette enzyme peut oxyder un substrat incolore en un produit facilement repérable car coloré.

- Déposer un disque d'oxydase sur une lame ;
- Imbiber le avec une goutte d'eau distillée stérile ;
- Prélever une colonie parfaitement isolée (plusieurs si petites colonies) avec une pipette Pasteur et l'écraser sur le disque pendant une dizaine de secondes ;
- Observer immédiatement le virage de couleur.

4.3. Coagulase

Une coagulase est une enzyme provoquant la coagulation du plasma (Nauciel et Vildé, 2005).

- **Technique**

- Mettre dans un tube sec 1 ml du plasma de lapin ou bien humain, plus de deux colonies ;
- Incuber à 37°C pendant 2 à 24 heures.

4.4. Galerie biochimique

Les souches bactériennes ont été identifiées par les galeries biochimiques Api 20E pour les bactéries non oxydatives (Entérobactéries) et la galerie Api 20NE pour les bactéries oxydatives.

4.4.1. Api 20 E

C'est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés dans des microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. (Bouguenoun, 2017).

- **Technique**

- **Préparation de la galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation. (Bedjaoui, 2016).

- **Préparation de l'inoculum**

- Faire une suspension bactérienne, dans un tube stérile on a été mettre 4 ml de sérum physiologique puis prélever à l'aide d'une pipette pasteur plusieurs colonies.

- **Inoculation de la galerie**

- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne ;
- Remplir uniquement les tubes des autres tests ;
- Créer une anaérobiose dans les tests soulignés : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de vaseline ;
- Refermer la boîte d'incubation et placer à 37°C pendant 18 à 24 heures (Bedjaoui, 2016). (Fig. 15).

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification. (Bouguenoun, 2017).

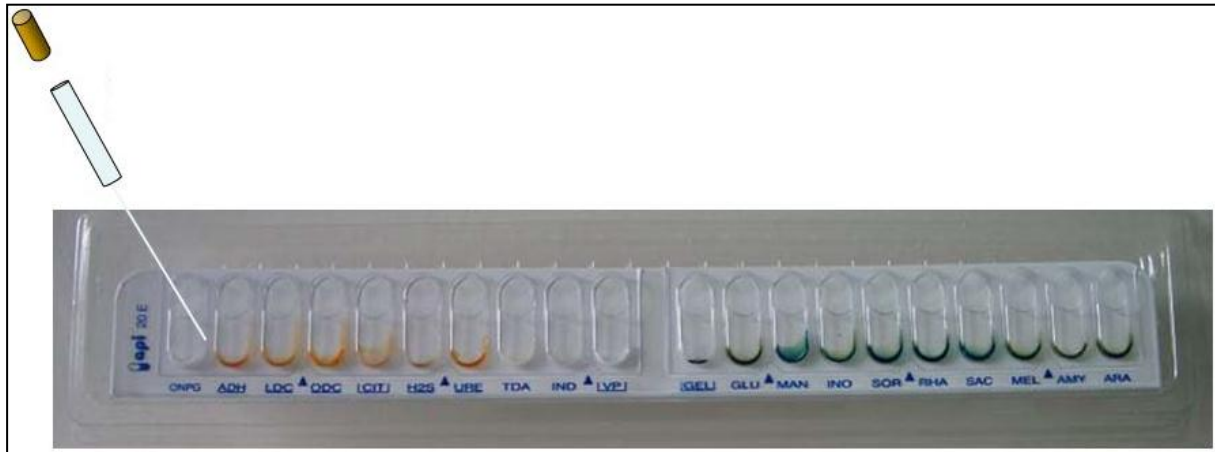


Figure 15 : Ensemencement d'une galerie biochimique Api 20E.

4.4.2. Api 20 NE

C'est aussi un système standardisé pour l'identification des bacilles Gram négatif non Entérobactéries et non fastidieux, elle comporte 20 microtubes combinant 8 tests conventionnels qui sont inoculés avec une suspension bactérienne et 12 tests d'assimilation inoculés avec un milieu minimum. (Bouguenoun, 2017).

- **Technique**

- **Préparation de la galerie**

- Réunir le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum**

- Ouvrir une ampoule d'Api Na Cl 0,85% Medium (2 ml) ;
- A l'aide d'une pipette, prélever 1 à 4 colonies de morphologie identique ;
- Réaliser une suspension d'opacité égale à 0,5 de Mac Farland. (bio-Mérieux).

- **Inoculation de la galerie**

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG avec la suspension précédente en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement ;

- Ouvrir une ampoule d'API AUX Medium et y transférer environ 200 µl de la suspension précédente ;
- Remplir tubes et cupules des tests encadrés GLU à PAC ;
- Remplir d'huile de vasline les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) ;
- Refermer la boîte d'incubation et incuber à 29°C+ou - 2°C pendant 24 heures (**bio-Mérieux**) (**Fig. 16**).



Figure 16 : Ensemencement d'une galerie biochimique Api 20NE.

5. Antibiogramme

5.1. Principe

C'est une méthode qui consiste à déposer à la surface d'une gélose, ensemencée par la souche bactérienne à étudier, des disques de papier filtre imprégnés des antibiotiques à tester. Les antibiotiques diffusent dans la gélose à partir des disques sources. (**Béraud, 2014**).

L'antibiogramme est l'examen biologique destiné à mesurer l'interaction entre chacune des molécules antibactériennes utilisables et une souche bactérienne susceptible d'être pathogène. Le résultat contribue à évaluer la sensibilité de la souche bactérienne examinée ou sa résistance, ce qui signifie que la molécule sera probablement active au sens thérapeutique ou le traitement sera un échec. Le résultat numérique brut est accompagné d'une interprétation ou remplacé par elle : résistant (**R**), sensible (**S**), intermédiaire (**I**), ou (indéterminée). (**Bedjaoui, 2016**).

5.2. Technique

5.2.1. Préparation de la suspension

- Préparer une suspension bactérienne dans 2 ml de sérum physiologique avec plus de deux colonies ;

- Agiter la suspension de manière à obtenir un trouble homogène.

5.2.2. Méthode d'ensemencement (écouvillonnage)

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (inoculum à 0,5 Mac Farland de turbidité) ;

- L'essorer en le passant fermement sur la paroi interne du tube pour le décharger ;

- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée (milieu Muller Hinton), sèche de haut en bas, en stries bien serrées ;

- Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. (Bedjaoui, 2016).

5.2.3. Choix des antibiotiques

Les antibiotiques utilisés sont mentionnés avec leurs familles dans le tableau suivant

Tableau 2 : Principaux antibiotiques utilisés. (Béraud, 2014).

Famille	Groupe	Sous-groupe	Antibiotique
β-lactamines	Pénames	- Pénicillines M, Antistaphylococciques. - Oxapénames ou Clavams	- Oxacilline OX (30) - Association Amoxicilline + Acide clavulanique AMC(30)
	Pénèmes	Carbapénèmes	- Imipénème IPM(10)
	Céphèmes	- Céphalosporines de 2 ^{ème} génération - Céphalosporines de 3 ^{ème} génération.	- Céfoxitine(Céfamycine) FOX(30) - Céfotaxime CTX(30) - Ceftazidime CAZ(30)
Glycopeptides	Glycopeptides		- Vancomycine VA(30)

5.2.4. Mise en place des disques d'antibiotiques

- Déposer les disques manuellement avec une pince stérile ;

- Respecter une distance de 25 à 30 mm entre les disques d'antibiotiques ;
- Appuyer doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu ;
- Mettre les boîtes à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

5.2.5. Lecture

En pratique, il faut mesurer le diamètre de la zone d'inhibition pour chaque antibiotique (en mm), et le comparer aux valeurs de référence fixant la sensibilité de l'espèce bactérienne au type d'antibiotique examiné. **(Bedjaoui, 2016).**

Chapitre IV : Résultats et Discussion

.Chapitre IV : Résultats et Discussion

1. Avant stérilisation

1.1. Mise en culture des prélèvements

Dans la présente étude, 56 prélèvements (25 «coté homme» et 31 «coté femme») ont été réalisés à partir de différents sites des surfaces inertes du service des maladies infectieuses (précédemment décrits dans le chapitre Matériel et méthodes).

Parmi ces prélèvements, seulement 09 prélèvements de coté homme et 18 prélèvements de coté femme ont donné des cultures bactériennes positives (**Fig. 17**).

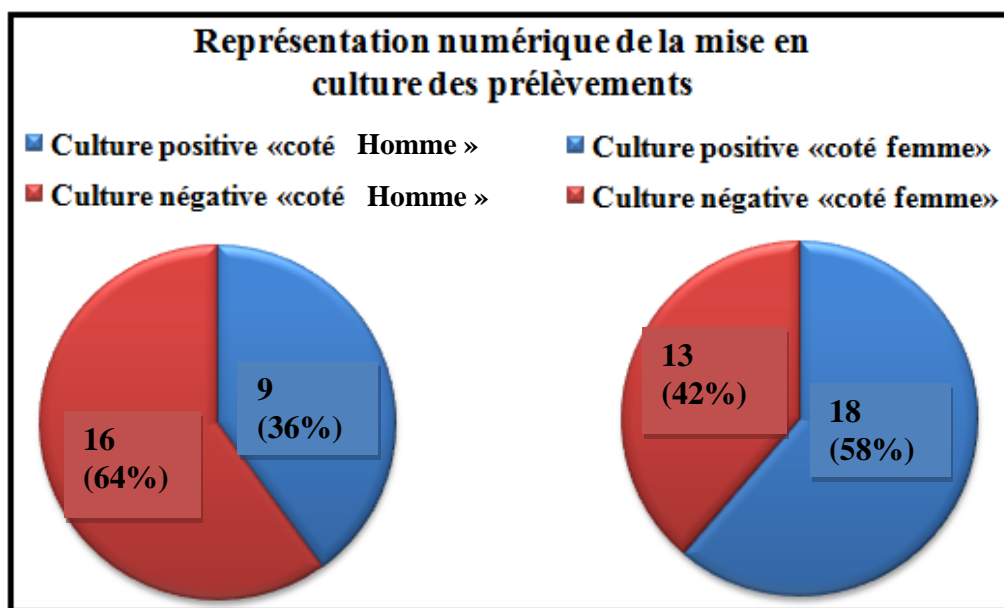


Figure 17: Résultats de la mise en culture des prélèvements.

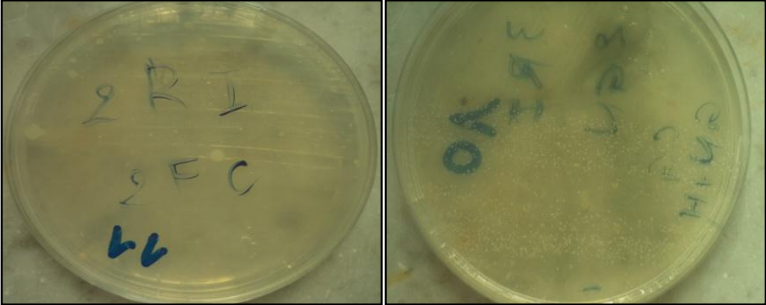
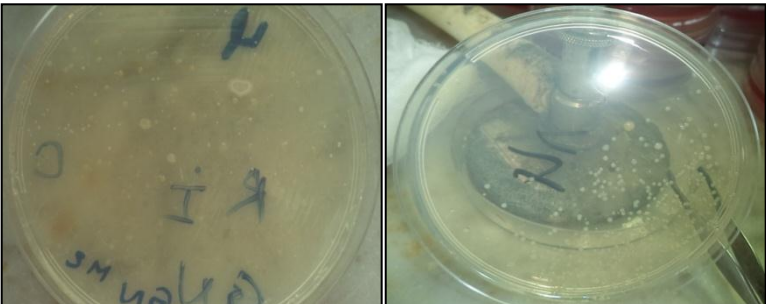
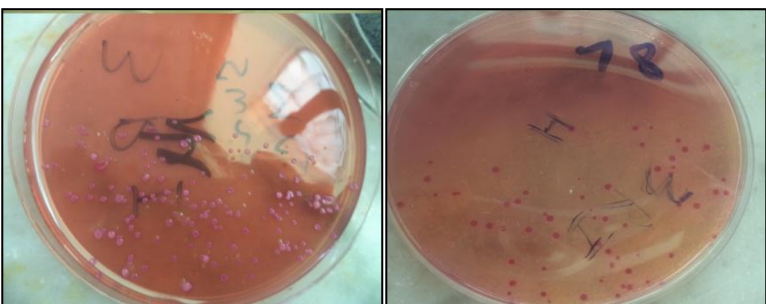

1.1.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique des colonies sur les trois géloses utilisées après la mise en culture et incubation pendant 18 heures à 37°C a montré la présence de plusieurs types de colonies, dont les résultats obtenus sont les suivantes :

- Fines colonies transparentes (cultures ♂ et ♀) ;
- Grosses colonies blanches (cultures ♂ et ♀) ;
- Petites colonies blanches (cultures ♂ et ♀) ;
- Grosses colonies roses (cultures ♂ et ♀) ;
- Petites colonies roses (cultures ♂ et ♀) ;
- Grosses colonies jaunes et orangés (cultures ♂) ;
- Petites colonies jaunes et orangés (cultures ♂) (**Tab. 03**).

Le repiquage utilisé dont le but de purifier les souches, nous a permis de distinguer les caractères des colonies sur leurs milieux d'isolement. Les colonies bactériennes ont montré divers aspects cultureux, en fonction du milieu de culture.

Tableau 03: Résultats de l'observation macroscopique

Boîte	Aspect
	<p>Fines colonies transparentes</p>
	<p>Grosses et petites colonies blanches</p>
	<p>Grosses et petites colonies roses</p>
	<p>Grosses et petites colonies jaunes et orangés</p>

1.1.2. Examen microscopique

Les résultats de coloration de Gram des différents types de colonies après repiquage sont illustrés dans le (Tab.04).

Tableau 04 : Résultats de la coloration de Gram.

Coloration de Gram	Site
Cocci Gram + (CGP)	17♂ : Demi-table 10 de la salle 6 8♂ : Table 13 de la salle 4 12♂ : Poigné de La porte de toilette 10♂ : Lit 15 de la salle 7 16♂ : Potence 11 de la Salle 6 3♀ : Poigné de la porte de la salle de soin 9♀ : Poigné de la porte de la Salle 3 13♀ : Potence 9 de la salle 4 15♀ : Poigné de salle 7 d'isolement 17♀ : Poigné de la porte de toilette 19♀ : Robinet 2 de toilette 20♀ : Interrupteur 22♀ : Table 15 de la salle 6 24♀ : Potence 13 de la salle 6 28♀ : Appareil de téléphone 29♀ : Personnel 1
Bacille Gram + (BGP)	20♂ : Table 6 de la salle 5 1♀ : Chariot de la salle de soin 4♀FC1 Lac(-) : Table 3 de la salle 1 6♀ : Table 6 de la salle 2 10FC1, 10FC2 ♀ : Table 8 de la salle 3 10GC♀ : Table 8 de la salle 3 11♀ : Table 7 de la salle 3 30♀ : Personnel 2
Bacille Gram – (BGN)	4 ♀FC2 Lac+ : Table 3 de la salle 1 1♂ : table 2 de salle 1 4♂ : table 4 de salle 2 14♂ CB Lac+ : robinet de toilette 14♂ CP Lac+ : robinet de toilette 18♀GCT : robinet de toilette 18♀CR : robinet de toilette 18♀FCT : robinet de toilette

L'examen cytologique nous a révélé que les Cocci Gram (+) sont les plus représentés :

- Souches (20CT, 20CB) ♂ sont des Bacilles à Gram Positifs (BGP) ;
- Souches (8,10, 12,16) ♂ sont des Cocci à Gram Positifs (CGP) ;
- Souches (3,9,13,15,17,19,20,22,24,28,29) ♀ sont des Cocci à Gram Positif (CGP) ;
- Souches (4 FC2 Lac+,18GCT,18CR,18FCT) ♀ et (1,4,14CB Lac+,14CP Lac+) ♂ sont des Bacille à Gram Négatifs (BGN) ;
- Souches (1,4 FC1, 6, 10 FC1, 10 FC2, 10 GC, 11, 30) ♀ sont des Bacilles à Gram Positifs (BGP).

L'observation microscopique a montré trois aspects l'une des bacilles à Gram négatif, l'autre des bacilles a Gram positif et le troisième aspect correspond aux Cocci à Gram positif. Cependant, les souches identifiées conformément aux données de la littérature.

1.1.3. Enzymes respiratoires

Les résultats des tests oxydase et catalase sont comme suit :

- Souche 1GC ♂ dépourvue d'oxydase ;
- Souches (1FC, 8, 12, 16,17) ♂ possèdent une catalase ;
- Souches (1,4 FC1 Lac(-), 4FC2 Lac(+), 10GC, 18, 30) ♀ dépourvues d'oxydase ;
- Souches 6♀ et 18 ♀ ne possèdent pas une catalase ;
- Souches (1,3,4, 4 FC2 Lac(+), 9, 10 FC1,10 FC2,10 GC,11,13,15,17,19,20,22,24,28,29,30) ♀ possèdent une catalase.

1.1.4. Test de coagulation

Seules les souches 12 ♂ et 20 ♀ possèdent une coagulase positive alors que les souches 1FC ♂, 8♂,16 ♂ et 17♂, (13,4,9,10FC1,10FC2,10GC,11,13,15,17,19,20,22,24,28,29,30)♀ sont dépourvues de cette enzyme. Les souches coagulase positive sont le plus probablement des souches de *Staphylococcus aureus*. (Fig.18).

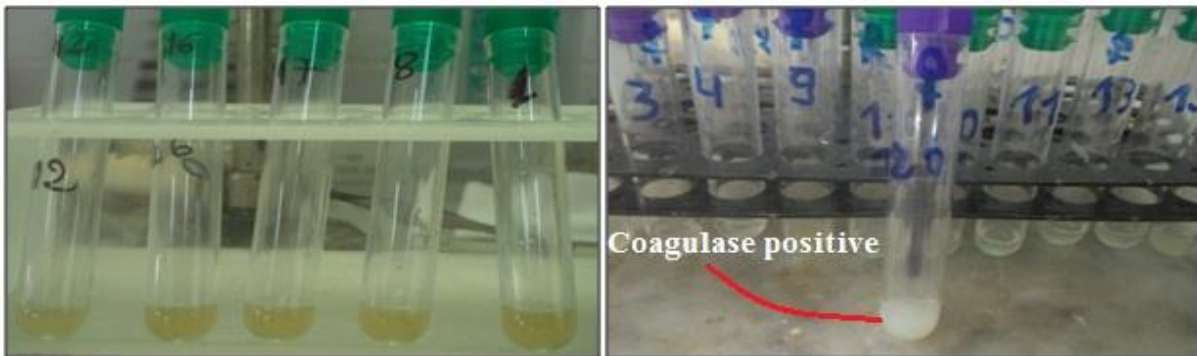


Figure 18 : Résultats de la recherche de coagulase.

1.1.5. Identification biochimique

L'identification biochimique des souches bactériennes a été réalisée selon les critères précédemment cités tout en utilisant les systèmes BioMérieux (système Api). Les résultats obtenus sont illustrés dans le (Tab. 05).

Tableau 05 : Résultats de l'identification par la galerie API 20E.

Souches	Localisation	Espèces
1♂	Table 2 de la salle 1	<i>Enterobacter sakazakii</i>
4♂	Table 4 de la salle 2	<i>Enterobacter cloacae</i>
14CB Lac(+) ♂	Robinet de Toilette	<i>Pantoea spp</i>
14CP Lac(+) ♂	Robinet de Toilette	<i>Enterobacter cloacae</i>
4FC2Lac(+) ♀	Table 3 de salle 1	<i>Pantoea spp.</i>
18GCT♀	Robinet 1de toilette	<i>Pantoea spp.</i>
18CR♀	Robinet 1de toilette	<i>Enterobacter sakazakii</i>
18FCT♀	Robinet 1de toilette	<i>Pantoea spp.</i>

En comparant nos résultats avec ceux reportées par la littérature nous pourrions dire que notre identification de *Pantoea spp.* est en accord avec (Guillaum, 2010) (Fig.19).



Figure 19 : *Pantoea spp.* (Photo personnelle, Chefchoufi, H et Lamouri, G.)

Pantoea spp est une bactérie de l'environnement on l'a identifiée comme BLSE, le risque qu'elle pose est qu'elle va être véhiculé d'un établissement à un autre et va être disséminé vers d'autres bactéries. L'utilisation excessive de l'Imipénème par les cliniciens comme traitement thérapeutique favorise la production des Carbapénèmes par *Pantoea spp* qui deviendra résistante à ce dernier et finalement on assistera un échec thérapeutique. (Fig.20).



Figure 20 : *Pantoea spp.* (Photo personnelle, Chefchoufi, H et Lamouri, G.)

En comparant nos résultats avec ceux de la littérature, nous pouvons dire que notre identification de *Enterobacter sakazakii* est en accord avec (Leminor, 1982) pour les caractères LDC -, tandis que les résultats sont non conformes pour les caractères ODC et VP, la variabilité du ODC qui est normalement négatif et VP qui est normalement positif peut être la conséquence d'une contamination ou d'une mutation. (Fig.21).



Figure 21 : *Enterobacter sakazakii*. (Photo personnelle, Chefchoufi, H et Lamouri, G.)

En comparant nos résultats avec ceux de la littérature, nous pouvons dire que notre identification de *Enterobacter cloacae* est en accord avec (Leminor, 1982) pour les caractères LDC -, ODC et ADH + et VP+. (Fig.22).



Figure 22: *Enterobacter cloacae*. (Photo personnelle, Chefchoufi, H et Lamouri, G.)

Les surfaces hospitalières présentant des taux de contamination légèrement différents les uns des autres dont le robinet de toilette représentent les surfaces les plus contaminées. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Bouguenoun, 2017).

1.1.6. Antibiogramme

La résistance des bactéries aux antibiotiques pose un grand problème au niveau des hôpitaux Algériens et dans le monde entier surtout après la grande diffusion des clones résistants qui ne cessent de se renforcer notamment par l'acquisition de β -lactamases à spectre élargi (Bouguenoun, 2017).

Comme nous l'avons mentionné précédemment, chaque souche identifiée a été soumise à un antibiogramme afin de déterminer la sensibilité ou la résistance aux différents antibiotiques. Les résultats sont exprimés en mm après lecture des diamètres des zones d'inhibition et sont interprétés en trois catégories : S = sensible, R = résistant, et I = intermédiaire, en se référant à la CA-SFM (comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie, 2015) (Tab. 06, 07, 08).

En dépit des résultats obtenus, nous avons constatés que :

- *Enterobacter sakazakii* (site 1♂) est sensible aux : Ceftazidime, Cefotaxime, Céfoxitine, Amoxicilline + acide clavulanique, Imipénème ;
- *Enterobacter cloacae* (site 4♂) est sensible aux : Ceftazidime, Cefotaxime et résistante au Céfoxitine, Amoxicilline + acide clavulanique et sensible au Imipénème ;
- *Enterobacter cloacae* (site 14♂) est résistante aux Cefotaxime, Céfoxitine, Amoxicilline + acide clavulanique et sensible au Imipénème ;
- *S. aureus* (site 12♂) est sensible aux : Céfoxitine, Oxacilline⁵, Vancomycine ;
- *Pantoea spp* (site 18♀) est résistante aux Cefotaxime, Céfoxitine, Amoxicilline + acide clavulanique, et sensible au Imipénème ;
- *Enterobacter sakazakii* (site 18♀) est résistante aux Ceftazidime, Cefotaxime, Céfoxitine, Amoxicilline + acide clavulanique et sensible au Imipénème ;
- *Pantoea spp* (site 18♀) est résistante aux Ceftazidime, Cefotaxime, Céfoxitine, Amoxicilline + acide clavulanique et sensible au Imipénème.

Tableau 06: Résultats de l'antibiogramme ♂.

Antibiotiques	Signe Charge (µg)	Souche et leur résistance			
		1♂ <i>Enterobacter sakazakii</i>	4♂ <i>Enterobacter Cloacae</i>	12♂ <i>S. aureus</i>	14♂CP <i>Enterobacter Cloacae</i>
Ceftazidime	CAZ (30)	S (28 mm)	S (31 mm)	/	/
Cefotaxime	CTX (30)	S (30 mm)	S (30 mm)	/	R (15 mm)
Céfoxitine	FOX (30)	S (24 mm)	R (6 mm)	S (24 mm)	R (6 mm)
Amoxicilline	AMC (30)	S	R	/	R

+ acide clavulanique		(23 mm)	(6 mm)		(6 mm)
Imipénème	IPM (10)	S (32 mm)	S (29 mm)	/	S (25 mm)
Oxacilline⁵	OX ⁵ (5)	/	/	S (20 mm)	/
Vancomycine	VA (30)	/	/	S (20 mm)	/

Tableau 07: Résultats de l'antibiogramme ♀.

Antibiotiques	Signe Charge (µg)	Souche et leur résistance				
		4FC2Lac(+) ♀ <i>Pantoea</i> <i>spp.</i>	18FCT♀ <i>Pantoea</i> <i>spp.</i>	20♀ <i>S. aureus</i>	18CR♀ <i>Enterobacter</i> <i>sakazakii</i>	18GCT♀ <i>Pantoea</i> <i>spp.</i>
Ceftazidime	CAZ (30)	/	/	/	R (10 mm)	R (18 mm)
Cefotaxime	CTX (30)	S (34 mm)	R (15 mm)	/	R (6 mm)	R (10 mm)
Céfoxitine	FOX (30)	S (20 mm)	R (6 mm)	S (27 mm)	R (6 mm)	R (6 mm)
Amoxicilline + acide clavulanique	AMC (30)	R (6 mm)	R (7 mm)	/	R (6 mm)	R (10 mm)
Imipénème	IPM (10)	S (36 mm)	S (33 mm)	/	S (29 mm)	S (35 mm)
Oxacilline⁵	OX ⁵ (5)	/	/	S (26 mm)	/	/
Vancomycine	VA (30)	/	/	S (18 mm)	/	/

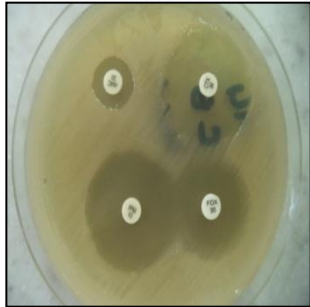

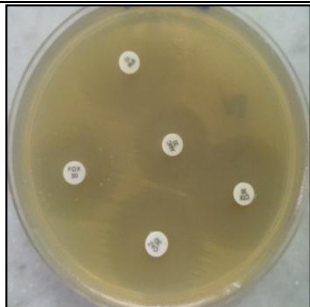
On constate que toutes les souches identifiées sont sensibles aux Imipénème appartenant aux carbapénèmes de la famille de β -lactamines. En effet, la diffusion des BMR en milieu


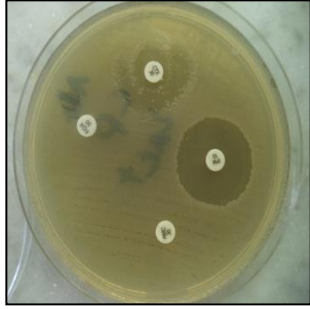



hospitalier se fait à partir de patients infectés ou colonisés ; ces patients ; appelés porteurs de BMR. En effet, les facteurs de diffusion des BMR sont :



- La réadmission d'un porteur de BMR dans un autre service ou un autre établissement de soin, au niveau duquel il va véhiculer et disséminer le germe ;
- La méconnaissance du portage de BMR ;
- La durée prolongée de portage de BMR.

Alors, la pression de sélection pour traiter les infections nosocomiales graves dues à des BMR nécessite l'emploi des molécules à large spectre ; ceci expose l'écologie microbienne hospitalière à une forte pression de sélection qui favorise l'émergence des BMR : c'est ce qu'on appelle « la spirale de la résistance » (Rahal, 2013).

Tableau 08 : Résultats de l'antibiogramme ♂ + ♀.

Souches	Antibiotiques	Zone d'inhibition
<i>Pantoea spp.</i> 14CB Lac(+) ♂	IPM, AMC, FOX, CTX	
<i>Staphylococcus aureus</i> 12♂	VA, FOX, OX ⁵	
<i>Enterobacter sakazakii</i> 1♂	IPM, AMC, FOX, CTX, CAZ	

<p><i>Enterobacter cloacae</i> 4♂</p>	<p>IPM, AMC, FOX, CTX, CAZ</p>	
<p><i>Enterobacter cloacae</i> 14CP Lac(+) ♂</p>	<p>IPM, AMC, FOX, CTX</p>	
<p>Suite</p>		
<p><i>Staphylococcus aureus</i> 20♀</p>	<p>VA, FOX, OX⁵</p>	
<p><i>Enterobacter sakazakii</i> 18CR♀</p>	<p>IPM, AMC, FOX, CTX, CAZ</p>	
<p><i>Pantoea spp</i> 4FC2 Lac(+) ♀</p>	<p>IPM, AMC, FOX, CTX</p>	

<p><i>Pantoea spp</i> 18GCT♀</p>	<p>IPM, AMC, FOX, CTX, CAZ</p>	
<p><i>Pantoea spp</i> 18FCT♀</p>	<p>IPM, AMC, FOX, CTX</p>	


2. Après stérilisation




2.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique des colonies sur la gélose MacConkey après la mise en culture et incubation pendant 18 heures à 37°C a montré la présence de deux types de colonies :

- Fines et petites colonies transparentes (cultures H et F) ;
- Fines et petites colonies roses (cultures H et F) (**Tab. 09**).

Tableau 09: Résultats de l'observation macroscopique

Boite	Aspect
	<p>Fines colonies transparentes (1H Lac(-))</p>

	<p>Fines et petites colonies transparentes (3F Lac(-))</p>
	<p>Fines colonies roses (1H Lac(+))</p>
	<p>Fines et petites colonies roses (3F Lac(+) clair, 3F Lac(+) foncé, 4F Lac(+))</p>

2.2. Enzymes respiratoires

Les résultats du test oxydase ont montré que la souche 1H Lac(-) est oxydase positif (+) à l'inverse de la souche 3F Lac(-) (oxydase négatif).

2.3. Identification biochimique

L'identification biochimique des souches bactériennes a été réalisée selon les critères précédemment cités en utilisant l'Api système 20 E et 20NE. Les résultats obtenus sont illustrés dans le (Tab. 10).

Tableau 10: Résultats de l'identification par les galeries API 20E, API 20NE.

Souches	Localisation	Espèces
1H Lac(-)	Robinet de toilette	<i>Shewanella putrefaciens</i>
1H Lac(+)	Robinet de toilette	<i>Enterobacter amnigenus 1</i>
3F Lac(+) clair	Robinet de toilette	<i>Raoultella terrigena</i>
3F Lac(+) foncé	Robinet de toilette	<i>Pantoea spp2.</i>

3F Lac(-)	Robinet de toilette	<i>Pseudomonas oxyzihabitans</i>
4F Lac(+)	Robinet de toilette	<i>Lecpercia adecarboxylata</i>



Figure 23: *Shewanella putrefaciens*(Photo personnelle, Chefchoufi, H et Lamouri, G.)



Figure24 : *Enterobacter amnigenus 1*(Photo personnelle, Chefchoufi, H et Lamouri, G.)



Figure25 : *Raoultella terrigena*(Photo personnelle, Chefchoufi, H et Lamouri, G.)



Figure26 : *Pantoea spp2.* (Photo personnelle, Chefchoufi, H et Lamouri, G.)



Figure27 : *Pseudomonas oxyzihabitans* (Photo personnelle, Chefchoufi, H et Lamouri, G.)



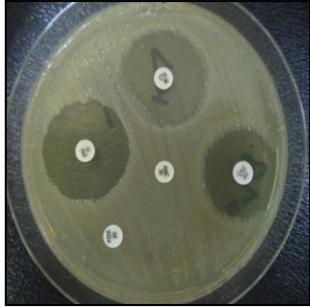
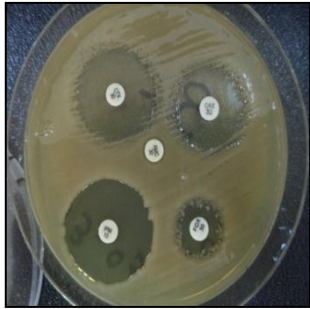
Figure 28: *Lecpercia adecarboxylata* (Photo personnelle, Chefchoufi, H et Lamouri, G.)

2.4. Antibiogramme

Selon résultats obtenus, nous avons constatés que :

- *Enterobacter amnigenus 1* est résistante aux Céfoxitine, Amoxicilline + acide clavulanique et sensible aux Imipénème, Ceftazidime et Cefotaxime;
- *Pantoea spp2.* est résistante aux Amoxicilline + acide clavulanique et sensible aux Imipénème, Ceftazidime Cefotaxime et Céfoxitine (Tab. 11).

Tableau 11: Résultats de l’antibiogramme.

Souches	Diamètre (mm)					Zone d’inhibition
	CAZ	CTX	FOX	AMC	IPM	
1H Lac(+) : <i>Enterobacter amnigenus 1</i>	25 mm S	28 mm S	6 mm R	6 mm R	28 mm S	
3F Lac(+) foncée : <i>Pantoea spp2.</i>	23 mm S	26 mm S	16 mm I	6 mm R	29 mm S	

3. Récapitulation

La récapitulation des résultats obtenus de la présente étude sont regroupées dans les tableaux suivants :

➤ *Coté homme*

Tableau12 : Résultats des germes identifiés

N	Localisation	Germes	Remarque	Profil de résistance
1	Table 2 salle 1	<i>Enterobacter sakazakii</i>	Germe potentiellement Pathogène	Germe sensible
2	Potence 1 salle 1	Négatif	/	/
3	Lit 3 salle 2	Négatif	/	/
4	Table 4 salle 2	<i>Enterobacter cloacae</i>	Germe potentiellement Pathogène	Germe sensible
5	Potence 8 salle 3	Négatif	/	/
6	Potence 7 salle 3	Négatif	/	/
Suite				
7	Table 12 salle 4	Négatif	/	/
8	Table 13 salle 4	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore Cutanée	/
9	Demi-table 11 salle 7	Négatif	/	/
10	Lit 15 salle 7	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore Cutanée	/
11	Potence 14 Salle 7	Négatif	/	/
12	Poigné de La porte de Toilette	<i>Staphylococcus aureus</i>	Germe potentiellement Pathogène	Germe sensible
13	Interrupteur	Négatif	/	/
14	Robinet Toilette	<i>Enterobacter cloacae</i>	Germe potentiellement Pathogène	BLSE (BMR)
15	Poigné de la porte salle d'isolement	Négatif		
16	Potence 11 Salle 6	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore cutanée	
17	Demi-table	Staphylocoque à	Germe de la flore	/

	10 salle 6	coagulase négative	Cutanée	
18	Table 9 salle 6	Négatif	/	/
19	Potence 5 salle 5	Négatif	/	/
20	Table 6 salle 5	Bacille à Gram Positif	Germe de l'environnement	/
21	Interrupteur Du couloir	Négatif	/	/
22	Poigné de La porte d'entrée	Négatif	/	/
23	Chariot	Négatif	/	/
24	Savonnier	Négatif	/	/
25	Poigné de la porte de bureau de médecins	Négatif	/	/

➤ *Coté femme*

Tableau 13: Résultats des germes identifiés.

N	Localisation	Germes	Remarque	Profil de résistance
1	Chariot salle de soin	BGP	Germe de l'environnement	/
2	Poigné d'armoire salle de soin	Négatif	/	/
3	Poigné de la porte salle de soin	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore cutanée	/
4	Table 3 salle 1	BGP	Germe de l'environnement	/
		<i>Pantoea spp</i>	Germe potentiellement pathogène	Germe sensible
5	Potence 4 salle 1	Négatif	/	/
6	Table 6 salle 2	BGP	Germe de l'environnement	/
7	Potence 5	Négatif		/

	salle 2			
8	Poigné de la porte Salle 2	Négatif		/
9	Poigné de la porte Salle 3	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore cutanée	/
10	Table 8 salle 3	BGP	Germe de l'environnement	/
11	Table 7 salle 3	BGP	Germe de l'environnement	/
12	Poigné de la porte salle 4	Négatif	/	/
13	Potence 9 salle 4	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore cutanée	/
14	Poigné du frigo	Négatif		/
15	Poigné de salle 7 d'isolement	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore cutanée	/
16	Chaise roulent	Négatif		/
17	Poigné de la porte de toilette	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore cutanée	/
18	Robinet 1de toilette	<i>Pantoea spp</i>	Germe potentiellement Pathogène	BLSE(BMR)
		<i>Pantoea spp</i>	Germe potentiellement pathogène	BLSE(BMR)
		<i>Enterobacter sakazakii</i>	Germe potentiellement pathogène	BLSE(BMR)
19	Robinet 2 de toilette	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore cutanée	/
20	Interrupteur	<i>Staphylococcus aureus</i>	Germe potentiellement pathogène	Germe sensible
21	Poigné 1 de la salle 6	Négatif	/	/
22	Table 15 salle 6	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore cutanée	/
23	Poigné 2 de la salle 6	Négatif	/	/
24	Potence 13 salle 6	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore cutanée	/

25	Poigné de la porte salle 5	Négatif	/	/
26	Table 12 salle 5	Négatif	/	/
27	Poigné de la porte d'entrée	Négatif	/	
28	Appareil de téléphone	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore cutanée	/
29	Personnel 1	Staphylocoque à coagulase négative	Germe de la flore cutanée	/
30	Personnel 2	BGP	Germe de l'environnement	/
31	Personnel 3	Négatif	Négatif	Négatif

CONCLUSION

Conclusion

Conclusion

A la lumière de la présente étude sur l'identification des germes responsables d'infections nosocomiales, nous avons constaté que ces derniers posent un problème majeur de santé publique face à l'émergence des bactéries multi résistantes aux antibiotiques dans le milieu hospitalier. Afin de comprendre la situation, nous avons mené une recherche sur les germes responsables des infections nosocomiales ainsi que les BMR et leur propagation sur les surfaces hospitalières au niveau du service d'infectiologie à l'hôpital Ibn Zohr. Les résultats obtenus ont révélé la présence de différentes espèces bactériennes à savoir *E sakasakii*, *E cloacae*, *Pontoaspp.*, les Staphylocoques à coagulase négative (SCN), *S. aureus*. L'étude de la sensibilité aux ATB a montré que certaines souches isolées expriment une résistance aux pénicillines et céphalosporines de 2^{ème} et 3^{ème} génération et une sensibilité aux carbapénèmes et glycopeptides. Les taux de résistance les plus élevés étaient marqués à l'égard des différents β -lactamines avec une sensibilité remarquable vis-à-vis de l'imipénème. Différents mécanismes d'action ont été décrits dont le plus fréquents est celui de la production de β -lactamases ce qui est explique la multi-résistante des germes dans l'environnement hospitalier.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Ati, S., Baba arbi, S. et Zermani, A. (2009). Recherche et identification des bacilles Gram négatifs isolées des surfaces sèches et humides en milieu hospitalier. Mémoire de Master, Université Badji-Mokhtar –Annaba, Algérie.36p

Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F.et Monteil, H. (1992). Bactériologie clinique. 2^eédition Ellipses, 522 p. ISBN 2-7298-9218-4 p10 , 188, 150

Bar-Oz, B., Preminger, A., Peleg, O., Block, C. et Arad, I. (2001). Enterobacter sakazakii infection in the newborn. Acta Paediatrica, 90(3), 356-358.

Bedjaoui, A. (2016). Isolement et identification des entérobactéries en milieu hospitalier et leur multirésistance aux antibiotiques (service réanimation et brûlés). Mémoire de master, Université Badji-Mokhtar –Annaba, Algérie.54p.

Béraud, J. (2014). Le technicien d'analyses biomédicales. 2^e édition TEC et DOC Lavoisier. p959 ,961

Bouguenoun, W. (2017). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie, 176p. p 20, 21, 187

Cheng, A., Liu, C. Y., Tsai, H. Y., Hsu, M. S., Yang, C. J., Huang, Y. T. et Hsueh, P.R. (2013). Bacteremia caused by Pantoea agglomerans at a medical center in Taiwan, 2000–2010. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 46(3), 187-194.

Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C., Bingen, E. et Quentin, R. (2011). Bactériologie médicale Techniques usuelles. 2^e édition, largement revue et actualisée, 631p. p 287

Duval, J. et Soussy, C.J. (1977). Antibiothérapie bases bactériologiques pour l'utilisation des antibiotiques. 6^e.Dépôt légal : 4^e trimestre, © Masson, Paris New York Barcelone Milan, 159p. ISBN : 2-225-46596-7

Eberlin, T. (1997). Les infections microbiennes Tome 2. © éditions Nathan. 9, rue Méchain-75014 Paris, 128p. ISBN 2-09-190492-9. P 6, 66,67, 68 , 69

Guillaume, A., Christophe, D.C. et Muriel, F. (2010). Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale. Edition des compte-rendus individuels. p10.

Hamilton, J.V., Lehane, M.J. et Braig, H.R. (2003). Isolation of *Enterobacter sakazakii* from midgut of *Stomoxys calcitrans*. Emerging infectious diseases, 9(10), 1355.

Hawkins, R.E., Lissner, C.R. et Sanford, J.P. (1991). *Enterobacter sakazakii* bacteremia in an adult. Southern medical journal, 84(6), 793-795.

Higuita, N.I.A. et Huycke, M.M. (2014). Enterococcal disease, epidemiology, and implications for treatment.

INSPQ. (2015). Institut National de Santé Publique de Québec. Entérocoques résistants à la vancomycine : mesures de prévention et contrôle pour les milieux d'hébergement et de soins de longue durée. Gouvernement du Québec. p7.

Joffin, J.N. et Leyral, G. (2006). Microbiologie technique Tome 1 dictionnaire des techniques. 4^e édition, 363p.

Kayser, F., Bottger, H. Erik, C., Zinker, N., Rolf, M., Haller, O., ECKERT, J. et Deplazes, P. (2008). Manuel de poche de microbiologie médicale. 11^e édition Médecin – Sciences Flammarion, paris. p 66.

Lai, K.K. (2001). *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children, and adults: case reports and a review of the literature. Medicine, 80(2), 113-122.

Lavaivre, C., Marais, D., Meslier, F. et Oustalniol, J. (2011). Biologie et microbiologie appliquées. Nathan, avenue Pierre de Coubertin – 75013 Paris. ISBN : 978-2-09-161802-9

Leminor, L., Véron, M. (1982). Bactériologie médicale 1^e édition Flammarion, paris, 2^e tirage 1984,773p. ISBN : 2-257-10418-8 p149, 189, 223, 280, 511,523

Mandell, G.L., Bennett, J.E. et Dolin, R. (2010). Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases, 2.

Martin, L., Gerad, J., Tortora-Berdell, Funke R. et Christine, L. (2012). Introduction à la Microbiologie. 2^e édition © EDITIONS DU RENOUVEAU PEDAGOGIQUE INC. (ERPI) ,624p. ISBN : 978-2-7613-4139-4 p405 à 408,p 229, p 237.

Nauciel, C. et Vildé, J.-L. (2005). Bactériologie médicale. 2^e édition, © Masson Paris, 257p. ISBN : 2-294-01858-3 .p88

Nichlin, J., Graeme-Cook, K., Paget, T. et Killington, R. (2000). L'essentiel en microbiologie. BERTI Editions© Port Royal Livres, Paris.

Pagotto, F.J., Nazarowec-White, M., Bidawid, S. et Farber, J. M. (2003). *Enterobacter sakazakii*: infectivity and enterotoxin production in vitro and in vivo. Journal of food protection, 66(3), 370-375.

RAHAL, K. (2013). Les antibiotiques. Edition n° 5453, Office des publications universitaires, 165p. ISBN : 978.9961.0.1705.0. P 117,133, 134

Segado-Arenas, A., Alonso-Ojembarrena, A., Lubián-López, S. P. et García-Tapia, A. M. (2012). *Pantoea agglomerans*: a new pathogen at the neonatal intensive care unit?. Archivos argentinos de pediatría, 110(4), e77-9.

Annexes

Annexe 1

I. Milieux de culture

A. milieux solides

Milieu de culture	Composition	Préparation
Gélose nutritive	- Extrait de viande de bœuf.....1.0g -Extrait de levure.....2.0g -Peptone.....5.0g - Chlorure de Sodium5.0g -Agar.....15.0g pH=6.8±0.2 à 25°C	Suspendre 28.0g dans 1 litre d'eau distillée, chauffer jusqu'à la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pendant 15min.
Chapman (gélose)	-Chlorure de Sodium.....75.0g -D-mannitol.....10.0g -Peptone de caséine.....5.0g -Peptone de tissue animal.....5.0g -Extrait de viande de bœuf.....1.0g -Rouge de phénol.....0.025g -Agar.....15.0g pH=7.4±0.2 à 25°C	Suspendre 111g dans un litre d'eau distillée, chauffer jusqu'à la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pendant 15min.
MacConkey (gélose)	- Peptone de gélatine.....17.0g -Monohydrate de lactose.....10.0g - Chlorure de Sodium.....5.0g	Suspendre 50g dans un litre d'eau distillée, chauffer jusqu'à la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pendant

ANNEXE

Hektoen (gélose)	<p>-Peptones (Viande et Caséine)...3.0g -Sels biliaires.....1.5g -Rouge neutre.....0.030g - Le cristal violet.....0.001g -Agar.....13.5g pH=7.1±0.2 à 25°C</p> <p>-Protéose peptone.....12.0g -Extrait de levure.....3.0g -Lactose.....12.0g -Saccharose.....12.0g -Salicine.....2.0g -Citrates de fer II et d'ammonium.....1.5g -Sels biliaires.....9.0g -Fuchsine acide.....0.1g -Bleu de bromothymol.....0.065g -Thiosulfate de sodium.....5.0g -Agar.....13.0g pH=7.5</p> <p>-Peptone de l'acide de caséine(H).....17.5g</p>	<p>15min.</p> <p>Suspendre 75g dans un litre d'eau distillée. Attention : ne pas autoclaver.</p> <p>Suspendre 21g dans un litre d'eau distillée, chauffer jusqu'à</p>
---------------------	--	---

ANNEXE

Muller Hinton	-Infusion de viande de bœuf.....2.0g -Corn starch.....1.5g pH=7.4±0.2 à 25°C	la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pendant 15min.
---------------	--	---

B. milieux liquides

Milieu	Composition	Préparation
Bouillon nutritif	-Peptone de tissu animal.....5.0g -Chlorure de sodium.....5. -Extrait de viande de bœuf.....1.5g -Extrait de levure.....1.5g pH=7.4±0.2 à 25°C	Suspendre 13.0g dans un 1000ml d'eau distillée, chauffer jusqu'à la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pendant 15min.

Milieu	Composition
Sérum physiologique	-Glucose anhydre.....50g -Eau stérile ppl qsq1000ml -Concentration du glucose.....5%

II. Les réactifs

Réactif	Composition
-Kovacs	-P-diméthylamino-benzaldéhyde.....5.00g -Iso-amylque.....75ml -Acide chlorhydrique pur.....25ml
-TDA	-Perchlorure de fer.....3.4g -Eau distillée.....100ml
-VP1 :(KOH) 5ml	-KOH.....40g -Eau distillée.....100ml
-VP2 :(alpha naphthol) 5ml	-Alpha naphthol.....6g -Eau distillée.....100ml
-Réactif NIT 1 5ml	-Acide sulfanilique..... 0,4g -Acide acétique..... 30g -H2O.....70ml
-Réactif NIT 2 5ml	-N, N-dimethyl-1naphtylamine.....0,6g -Acide acétique.....30g -H2O.....70mL

III. Colorants

Colorant	Composition
-Violet de Gentiane	-Violet de gentiane.....1g -Ethanol à 90%.....10ml -Phénol.....2g -Eau distillée.....100ml

ANNEXE

-Lugol	-Iode.....1g -Iodure de potassium.....2g -Eau distillée.....300ml
-Alcool	- Acétone (à conserver au frigidaire)..... 10ml -Alcool absolu..... 50ml
-Fuschine de Ziehl	-Fuschine basique.....1g -Alcool éthylique à 90%.....100ml -Phénol.....5g -Eau distillée.....100ml

ANNEXE**Annexe 2** : Tableau de lecture de la galerie API 20E (Bio-Mérieux).

Tests	Substrats	Réactions Enzymatiques	Résultats	
			Négatifs	Positifs
ONPG	Ortho-nitro-phényl-galactoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine Di hydrolase	Jaune	Rouge/Orangé
LDC	Lysine	Lysine Décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine Décarboxylase	Jaune	Rouge/Orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale/Grisâtre	Bleu- Vert/vert
H2S	Thiosulfate de Sodium	Production d'H2S	Incolore/Grisâtre	Dépôt noir/fin Liseré
URE	Urée	Urèase	Jaune	Rouge/Orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane Désaminase	TDA/immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	JAMES (immédiat) ou IND (2mm)	
			JAMES incolore	James rose
			Vert pale/Jaune	IND
			IND Jaune	Anneau Rouge
VP	Pyruvate de	Production d'acétone	VP1+VP2 (10min)	

ANNEXE

	sodium		Incolore	Rose/Rouge
GEL	Gèlatinase de Khon	Gèlatinase	Non diffusion	Diffusion de pigment noir
GLU	Glucose	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu ver	Jaune
MAN	Mannitol	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu ver	Jaune
INO	Inositol	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu ver	Jaune
SOR	Sorbitol	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu ver	Jaune
RHA	Rhamnose	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu ver	Jaune
SAC	Saccharose	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu ver	Jaune
MEL	Melibiose	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu ver	Jaune
AMY	Amygdaline	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu ver	Jaune
ARA	Arabinose	Ferment/Oxyde	Bleu/Bleu ver	Jaune
OX		Cytochrome	OX (1-2min)	
		Oxydase	Incolore	Violet
NO3-NO3	Tube de Glu	Production de (NO2)	NIT1+NIT2 (2-3min)	
		Production de (NO3)	Jaune	Rouge
			ZN	
			Rouge	Jaune

ANNEXE

Annexe 3 : Tableau de lecture de la galerie API 20 NE (Bio-Mérieux).

Tests	Substrats	Réactions Enzymatiques	Résultats	
			Négatifs	Positifs
NO3	Potassium nitrate	Réduction des nitrates en nitrites	NIT1+NIT2 (2à5min)	
			Incolore	Rose-rouge
			ZN (5min)	
			Rose	Incolore
TRP	L-tryptophane	Réduction des nitrates en nitrites	JAMES (immédiat)	
			Incolore/vert-pale/jaune	Rose
GLU	D-glucose	Fermentation du glucose	Bleu à vert	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine du glucose	Jaune	Orange/rose/rouge
URE	Urée	Urèase	Jaune	Orange/rose/rouge
ESC	Esculine citrate de fer	Hydrolyse (B-glucosidase) (esculine)	Jaune	Grise/marron/noir
GEL	Gèlatine	Hydrolyse protéase gélatine	Pas de diffusion de pigment	Diffusion de pigment noir

PNPG	4-nitrophényl-B-D-galactopyranoside	B-galactosidase (para-nitophényl-B-D-galactopyranoside)	Incolore	Jaune
GLU	D-glucose	Assimilation (glucose)	Transparence	Trouble
ARA	D-arabinose	Assimilation (D-	Transparence	Trouble

ANNEXE

		arabinose)		
MNE	D-mannose	Assimilation (D-mannose)	Transparence	Trouble
MAN	D-mannitol	Assimilation (D-mannitol)	Transparence	Trouble
NAG	N-acétylglucosamine	Assimilation (N-acétylglucosamine)	Transparence	Trouble
MAL	D-maltose	Assimilation (D-maltose)	Transparence	Trouble
GNT	Potassium gluconate	Assimilation (Potassium gluconate)	Transparence	Trouble
CAP	Acide caprique	Assimilation (Acide caprique)	Transparence	Trouble
ADI	Acide adipique	Assimilation (Acide adipique)	Transparence	Trouble
MLT	Acide malate	Assimilation (Acide malate)	Transparence	Trouble
CIT	Trisodium citrate	Assimilation (Trisodium citrate)	Transparence	Trouble
PAC	Acide phénylacétique	Assimilation (Acide phénylacétique)	Transparence	Trouble

Annexe 4 :**Tableau** : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour Entérobactéries

(Communication personnelle)

Antibiotiques testés	Diamètres critiques (mm)		
	R	I	S
Amoxicilline + acide clavulanique	≤ 13	14-17	≥ 18
Cefoxitine	≤ 14	15-17	≥ 18
Céfotaxime	≤ 22	23-25	≥ 26
Céftazidime	≤ 17	18-20	≥ 21
Imipénème	≤ 19	20-22	≥ 23

Tableau : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus*

(Communication personnelle)

Antibiotiques testés	Diamètres critiques (mm)
Cefoxitine	23-29
Oxacilline	19-25
Vancomycine	17-21