

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Domaine : Science de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Département : Écologie et Génie de l'Environnement

Thème :

Evaluation de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du milieu hospitalier cas de l'hôpital Khaledi Abdelaziz -Tébessa.

Présenté par :

Mlle : **HAOUAM Chifa**

Mlle : **BOUCHELIGA Oumaima**

Devant le Jury composé de :

Président : MERZOUG Abdelghani

M.C.B

Université de Guelma

Promoteur : HOUHAMDI Moussa

Prof.

Université de Guelma

Examineur : ROUABHIA Kamel

M.A.A

Université de Guelma

Juin 2020

Table des matières

- Introduction.....	p1
---------------------	----

I. Partie Bibliographique

Chapitre I : Les infections Nosocomiales

1. Les infections nosocomiales.....	p3
1.1. Définition.....	p3
1.2. Les agents responsables.....	p3
1.2.1. Bactéries.....	p3
1.2.2. Virus.....	p5
1.2.3. Parasites et champignons.....	p5
2. Facteurs favorisant les infections nosocomiales.....	p7
3. Les types des infections nosocomiales.....	p7
3.1. Xéno-infection.....	p7
3.2. Auto-infection.....	p7
3.3. Hétéro-infection.....	p8
3.4. Exo-infection.....	p8

Chapitre II : La résistance bactérienne.

1. Définition de résistance bactérienne.....	p10
2. Epidémiologie et évolution de résistance bactérienne.....	p10
3. Types de résistances bactériennes.....	p11
3.1. La résistance bactérienne Naturelle.....	p11
3.2. La résistance bactérienne acquise.....	p12
3.3. Résistance Croisée.....	p12
3.4. Co-résistance.....	p12
3.5. Résistance croisée étendue.....	p13
3.6. Résistance additive.....	p13
3.7. Résistance coopérative.....	p13
4. La multi-résistance des germes nosocomiaux.....	p13
5. Les facteurs de développement de la résistance bactérienne.....	p14
5.1. Prescription inappropriée des antibiotiques.....	p14
5.2. L'automédication et mauvais usage.....	p14
6. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	p14
6.1. Inactivation Enzymatique d'ATBs.....	p15
6.2. Modification / remplacement de cible d'ATBs.....	p15
6.3. Pompe à efflux.....	p16

6.4. Perméabilité réduite	p17
6.5. Protection de la cible d'ATBs.....	p18
6.6. Piégeage d'ATB s.....	p18
7. Génétique de résistance aux antibiotiques.....	p18
7.1. La génétique de résistance acquise.....	p18
7.2. La génétique de résistance naturelle.....	p19
7.3 Mouvements des gènes de résistance.....	p19
7.4. Plasmides de résistance aux antibiotiques.....	p20

II. Partie Expérimentale

Chapitre III : Matériel et Méthode

1. Cadre d'étude	p21
2. Prélèvements.....	p21
3. Enrichissement.....	p23
4. Isolement et purification	p23
5. Identification	p26
5.1. Observation macroscopique.....	p26
5.2. Observation microscopique	p27
5.2.1. Examen à l'état frais.....	p27
5.2.2. Examen après coloration	p27
6. Tests biochimiques.....	p28
6.1. Test catalase.....	p28
6.2. Test oxydase.....	p29
6.3. Test complémentaires	p29
6.3.1. test coagulase.....	p29
6.3.2. test Blastèse.....	p30
7. Galerie Biochimique.....	p30
8. Antibiogramme.....	p32

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Résultats d'enrichissement.....	p34
2. Résultats d'isolement	p34
3. Résultat de purification.....	p37
4. Examen microscopique et identification.....	p39
5. Résultats des tests biochimiques.....	p41
6. Identification biochimique API	p42
7. Résultats de test de sensibilité aux antibiotiques.....	p43

- Discussion.....p48

- Conclusionp50

- Annexe
- Références Bibliographiques
- Résumé
- Abstract
- ملخص



Remerciements

Notre premier remerciement va à **ALLAH**, le tout puissant qui nous a aidés pour réussir à nos choix dans cette vie et réaliser ce modeste travail.

Nous tenons particulièrement remercier tout les membres de jury présent aujourd'hui.

A Dr : **MERZOUG Abdelghani (MCB)** Pour l'honneur qu'elle nous a fait en présidant ce jury.

ET Dr : KAMEL Rouabhia (MAA) Pour avoir accepté d'examiner ce travail.

On souhaite aussi à remercier notre promoteur et directeur de mémoire

Professeur Mr : **HOUHAMDI Moussa**

Nous le remercions de tout cœur, mais ce n'est pas pour avoir fait l'honneur d'accepter de diriger ce travail seulement, nous le remercions pour le partage des savoirs de la vie et la connaissance avec nous, pour la patience et la confiance, pour la disponibilité et de son grand aide durant la réalisation de ce travail. Merci pour les encouragements qui nous ont indiscutablement permis d'évoluer.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté à nos rencontrer et répondre à nos questions durant notre Parcours et nos recherches

On tient à remercier le personnel de - **Khaledi Abed Laaziz-** de la ville de Tébessa

Pour leur accueil bras ouvert et qui nous a faciliter l'acquisition des donnés

Nécessaire de ce travail. On remercie vivement les techniciennes de laboratoire de **Bactériologie** :

Mr : Mourad et Issam ; Mme : Houda, Nabila, Aïcha ; Melle : Wafa et Asma.

Ainsi que le personnel accueillant de la bibliothèque.

A la fin on remercie tout nos collègues d'études particulièrement notre promotion.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

« Ne te laisse pas influencer par tes problèmes, laisse toi guider par tes rêves » 

Chifa et Oumaima

DÉDICACES



Je dédie ce modeste travail :

A Mon très cher Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et le respect que j'ai toujours pour vous. A l'homme qui m'a aidé à comprendre la vie et devenir plus forte ; MERCI pour tous ce que tu m'as appris ; tes conseils, tes leçons qui resteront un héritage précieux pour le reste de ma vie.

A mon grand amour

l'ange qui me protège pour toujours, à ma source de tendresse de soutiens et de sacrifices, à la femme qui ne cesse de me combler d'amour, tu étais toujours mon secret de bonheur et la raison pour laquelle je survive ; à toi la plus belle MAMAN

A mon cher frère «Dhia El Dine »

Merci pour votre soutien et vos encouragements tout au long de mes études. tu es l'être le plus cher que j'aime trop, que dieu te bénisse et te protège.

A mes Très Chères Sœurs « Dhikra et Ikram »

Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous.. Je vous souhaite la réussite et le bonheur dans votre vie. Merci pour votre soutien et vos encouragements tout au long de mes études.

À mon Oncle «Fadi»

Que Dieu fasse que vous suiviez mes traces et que vous fassiez plus que moi.

A toute ma famille paternelle et maternelle

A mon binôme et mon amie «Oumaima»

Pour toutes ces années passées et les moments vécus ensemble, pour ton amitié et pour ton soutien.

À mes proches amies «Soumia, Nour el Houda, Faiza,Achouak,Aya et Rania »

À mes chères collègues« Awatef, Houda ,Zeyneb, Nawel et Safa »

À tous mes camarades de promotion.

Aucun mot, aucun dédicace ne serait exprimer l'amour, le respect et la reconnaissance que J'éprouve pour vous. Je vous aime.



« Chifa »

DÉDICACES

Je dédie ce mémoire

À mes chers parents

Ce travail est le fruit de vos efforts, des longues années de sacrifices. Aucun mot, aussi expressif qu'il soit, ne saurait remercier votre juste valeur.

À mes chères sœurs

A mes fleures adorables, gentilles sœurs «Louiza, Sara, Chaima et Farah»

Merci pour vos encouragements et conseils, Je vous souhaite tout le bonheur et la réussite du monde.

A mon binôme «Chifa»

Je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les moments qu'on a passé ensemble

À mes proches amies «Narimen, Awatef, Zeyneb, Houda, Nawel, Safa.»

À toute ma famille.

À tous personnes qui été dans ma vie, qui m'aider d'être ici aujourd'hui, merci.



« Oumaima »

Liste des abréviations

- ☞ **ADN** : Acide DésoxyriboNucléique
- ☞ **AMX** : Amoxicilline
- ☞ **BLSE** : BêtaLactamases à Spectre Elargi
- ☞ **BM** : Bleu de Méthylène
- ☞ **BMR** : Bactérie Multi-Résistante
- ☞ **C** : Chloramphénicol
- ☞ **CA-SFM** : Comité de l'Antibiogramme - Société Française de Microbiologie
- ☞ **CAZ** : Ceftazidime
- ☞ **CHU** : Centre Hospitalier Universitaire
- ☞ **CLSI** : Clinical & Laboratory Standards Institute
- ☞ **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- ☞ **CN** : Gentamicine
- ☞ **CT** : Colistine
- ☞ **CTX** : Céfotaxime
- ☞ **CZ** : Céfazoline
- ☞ **E** : Erythromycine
- ☞ **EUCAST** : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- ☞ **FO** : Fosfomycine
- ☞ **FRAM** : Flore Mesophile Aerobie Revivable
- ☞ **GHR** : Grossesse à Haute Risque
- ☞ **gyr(A.B.C.E)** : DNA gyrase
- ☞ **IPM** : Imipénème
- ☞ **MH** : Mueller Hinton
- ☞ **OFX** : Ofloxacin
- ☞ **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- ☞ **P** : Pénicilline
- ☞ **PAO1** : Pseudomonas Aeruginosa (séquence génomique)
- ☞ **PLP** : Protéines de Liaison aux Pénicillines
- ☞ **Qnr** : Quinolone résistance
- ☞ **SARM** : Staphylococcus aureus résistant à la méticilline

- ☞ **SFM** : Société Française de Microbiologie
- ☞ **SIDA** : Syndrome d'Immuno- Déficience Acquis
- ☞ **Tet** : Tetracycline resistance protein
- ☞ **VA** : Vancomycine
- ☞ **VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine

Liste des figures

Figure 01 : Schéma de l'infection hospitalière.....	p9
Figure 02 : Phénomène de Co-résistance bactérienne.....	p13
Figure 03 : schéma explicatif de mécanisme de Camouflage de bactérie résistante.....	p15
Figure 04 : Représentation schématique des cinq familles de pompes d'efflux.....	p17
Figure 05 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	p18
Figure 06 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques, d'après Alekshun et Levy (2007).....	p20
Figure 07 : Carte postale et Situation géographique du site d'étude (Google Earth, 2020).....	p21
Figure 08 : les techniques d'isolement Utilisées en strie /Quadrant.....	p24
Figure 09 : le protocole suivi dans le travail pratique.....	p33
Figure 10 : isolement de pus sur Chromagar.....	p38
Figure 11 : purification de pus sur Chromagar.....	p38
Figure 12 : Aspect macroscopique des souches pures aux milieux spécifiques.....	p39
Figure 13 : Les différentes formes des cultures isolées.....	p40
Figure 14 : Souche fongique coloré au bleue de méthylène.....	p41
Figure 15 : le test catalase et oxydase sur la lame.....	p41
Figure 16 : résultat de test coagulase pour souche de <i>Staphylococcus</i>	p42
Figure 17 : Api 20E de la souche <i>P.fluorescens</i> (Code 2270004).....	p42
Figure 18 : Api 20 NE de la souche <i>P.aeruginosa</i> (Code 2754555).....	p42
Figure 19 : Api 20 E de la souche <i>E.coli</i>	p42

Liste des tableaux

Tableau 01 : Philippe Berthelot, Prise en charge des infections nosocomiales virales, mars 2007, Unité d'hygiène inter hospitalière, service des maladies infectieuses, CHU St-Etienne.....	p6
Tableau 02: Les sites et les services des prélèvements effectués.....	p22
Tableau 03: les antibiotiques testés	p33
Tableau 04: résultats de lecture macroscopique.....	p34
Tableau 05 : Résultats de lecture à l'état frais.....	p39
Tableau 06 : Api 20E. de la souche <i>Acinetobacter baumannii</i> (code 0204042).....	p43
Tableau 07 : Api 20E. de la souche <i>Enterobacter cloacae</i> (code 7305573).....	p43
Tableau 08 : Api 20E. de la souche <i>P.aeruginosa</i> (code 2216042).....	p43
Tableau 09 : les Résultats de l'antibiogramme.....	p44



Introduction

INTRODUCTION

Malgré que les bactériémies ne représentent qu'une faible proportion des infections nosocomiales (environ 5 %) mais possèdent un taux de létalité élevé soit plus de 50 % pour certains microorganismes. Leur incidence est en augmentation (**Cherafa et Ziadi,2017**). Plusieurs maladies épidémiques et pandémiques sont causées par des bactéries pathogènes. Heureusement, la découverte des antibiotiques, a permet de sauver tant de vies humaines et améliorer notre espérance de vie (**Ziani et Moumen,2019**).

Ainsi, la découverte des antibiotiques a révolutionné les pratiques de médicales et nous a laissé penser que la guerre contre les infections bactériennes était gagnée. Toutefois. L'adaptation rapide des bactéries et la propagation de leurs résistances, associées à une innovation thérapeutique stagnante, nous a obligé à repenser les faits et à concevoir de nouveau l'appariation élevée de la mortalité par ces infections (**El Abdani, 2016**). Ce phénomène fait de plus en plus parler de lui. Les conséquences de la résistance bactérienne aux antibiotiques sont considérables : augmentation de la morbidité et, dans certains cas, de la mortalité, et augmentation des coûts du système de santé (**El Abdani, 2016**).

En réalité, les maladies infectieuses présentent sans conteste la plus grave menace pour la santé à l'échelle planétaire. A partir des années 1950, de nombreux antibiotiques ont été découverts ou synthétisés et pour chaque nouvelle classe développée, nous avons assisté par la suite à une émergence de nouveaux mécanismes de résistance, entraînant la diffusion de bactéries pathogènes de plus en plus difficiles à traiter (**El Abdani, 2016**).

Comme ce fut le cas de la pénicilline, mise sur le marché en 1961 suivi de la découverte de *Staphylococcus aureus* résistants à la pénicilline G en 1962, suivi par l'émergence des Entérobactéries résistantes à cet antibiotique en 1964, puis des deux céphalosporines mises sur le marché en 1980 suivi de l'émergence des Entérobactéries résistantes en 1981 (**El Abdani, 2016**).

Afin d'envisager et d'enrayer le phénomène d'antibiorésistance, il est essentiel d'en comprendre les mécanismes, d'avoir une vision précise de la situation actuelle et de concevoir que tous avons un rôle à jouer, décisionnaires, professionnels de santé, population générale (**El Abdani, 2016**).

Malheureusement ; La consommation massive et répétée d'antibiotiques en santé humaine et animale génère au fil du temps une augmentation des résistances bactériennes. En effet, les antibiotiques agissent non seulement sur leur cible spécifique, la bactérie responsable de l'infection à traiter, mais aussi, pour la majorité d'entre eux, sur d'autres cibles telles que la flore commensales du tube digestif qui sont des bactéries utiles et non pathogènes (**Ziani et Moumen, 2019**).

L'adaptation rapide des bactéries multi-résistantes et la propagation de leurs résistances est un phénomène complexe (**Ziani et Moumen, 2019**).

Les bactéries ont un grand pouvoir d'adaptation qui leur permet d'acquérir de nouvelles propriétés (modification de leur génome ou information génétique nouvelle) leur permettant de résister aux

INTRODUCTION

antibiotiques. La résistance aux antibiotiques est un phénomène général observé pour toutes les espèces bactériennes rencontrées chez l'homme. De plus, on assiste à des multi-résistances : une bactérie résistante à plusieurs familles d'antibiotiques (**Haskouri, 2002**).

En microbiologie, une souche est dite résistante lorsqu'elle est capable de se cultiver en présence d'une concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées et Cliniquement s'agit de laquelle qui échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit au malade, c'est ce qui se manifeste par un échec clinique relatif ou absolu de l'antibiothérapie) (**Muyleart et Mainil, 2012**).

Dans ce contexte, notre étude sera présentée en trois parties :

1. Une première partie, consacrée à un rappel sur la littérature concernant les infections nosocomiales, et la multi-résistance des agents responsables ainsi que leurs mécanismes de résistance aux antibiotiques. En terminant par les désinfectants et antiseptiques utilisés ; leurs rôles et efficacité suivie de la fin la prévention et de la lutte contre ces infections
2. La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées pour l'élaboration de ce travail (analyse détaillée des souches isolées).
3. La troisième partie, portera sur l'exposé des résultats obtenus et aux discussions. Elle est clôturée par une conclusion et des prescriptives.

Chapitre I

Les infections nosocomiales

1. Les infections nosocomiales

1.1. Définition

On dit infection nosocomiale si elle a été détectée pendant ou après une hospitalisation (ou d'un soin ambulatoire) (**Elizabeth, 2002**). Ces infections sont une menace de santé publique alarmante. Leur propagation en Algérie a atteint 15 % dont 50 à 60 % sont transmissibles par les mains, selon le professeur Soukhiel, chef de service au CHU de Beni-Messous. Sur 100 personnes hospitalisées, 14 contractent des infections urinaires, des septicémies, des pneumo-pathologies et des dermatoses.

Les principaux micro-organismes responsables sont les bacilles gram négatif (53%) et les cocci Gram positif (33%) mais on trouve aussi *Escherichia coli* (21%), *Staphylococcus aureus* (16%), *Pseudomonas aeruginosa* (11%), *Enterococcus* spp. (8%). Ces quatre espèces représentent 56% des micro-organismes retrouvés dans les infections nosocomiales (**Bouras et Belarbi, 2016**).

- L'infection nosocomiale peut être provoquée par des germes :

- provenant d'un autre malade,
- présent sur le matériel médical, les sols, les lavabos, etc...
- apporté par le personnel soignant (infection respiratoire par exemple),
- provenant du malade lui-même (germe initialement sur la peau, les muqueuses ou dans le tube digestif et infectant une plaie opératoire, les urines, les voies respiratoires...etc.) (**Philippe et Reinert, 2011**).

1.2. Les agents responsables

Plusieurs agents pathogènes peuvent être à l'origine d'infections nosocomiales. Les agents infectieux varient selon les populations de patients et les types d'établissements de santé, d'un établissement à l'autre et d'un pays à l'autre.

1.2.1. Bactéries

Les plus courants sont des agents pathogènes responsables d'infections nosocomiales. On peut distinguer:

1.2.1.1. Les bactéries commensales

Les bactéries commensales sont présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé. Elles ont un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes. Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les staphylocoques cutanés à coagulase négatifs provoquent des infections sur cathéter vasculaire et les *Escherichia coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires.

1.2.1.2. Les bactéries pathogènes

Les bactéries pathogènes ont une virulence plus élevée et provoquent des infections (sporadiques ou épidémiques) quel que soit l'état immunitaire de l'hôte, par exemple :

- **Les bacilles anaérobies à Gram positif** : Par exemple *Clostridium* qui provoquent la gangrène.
- **Bactéries à Gram positif** :

Staphylococcus aureus (bactérie cutanée qui colonise la peau et le nez du personnel hospitalier et des patients) provoque une grande variété d'infections pulmonaires, osseuses, cardiaques et sanguines et résiste fréquemment aux antibiotiques. Les *Streptocoques bêta-hémolytiques* sont également des agents pathogènes importants (**Bouras et Belarbi, 2016**).

- ***Staphylococcus aureus***

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 plusieurs individus qui sont des «porteurs asymptomatiques». Cependant ces souches peuvent être à l'origine d'auto-infections ou contaminer d'autres individus (**Louafi et Tachibent, 2017**).

- **Bactéries à Gram négatif**

Les entérobactéries (par exemple *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia marcescens*) peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies (site d'insertion d'un cathéter, d'une canule, sonde urinaire) et provoquer des infections graves (infection du site opératoire, infection pulmonaire, bactériémie, infection du péritoine). Elles peuvent également être hautement résistantes.

- **Les micro-organismes à Gram négatif**

Comme *Pseudomonas* spp. sont souvent isolés dans l'eau et les milieux humides. Ils peuvent coloniser les voies digestives des patients hospitalisés (**Bouras et Belarbi, 2016**).

- ***Pseudomonas aeruginosa***

C'est une bactérie à coloration de Gram négative adaptable, très répandue dans l'environnement, capable d'infecter un large groupe d'organismes (**Timothy et al., 2008**) ; chimio-organotrophe avec un métabolisme strictement respiratoire, elle est caractérisée par la variété des substrats hydrocarbonés utilisés comme source de carbone et d'énergie (**Avril, 1992**).

- *P. aeruginosa* est un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales graves et possède le plus large génome bactérien séquencé. Ce génome englobe 6,3 millions de paires de bases chez la souche de référence PAO1 (**Stover et al., 2000**).
- Le traitement des infections causées par *P. aeruginosa* est difficile en raison de sa résistance intrinsèque élevée contre la plupart des antibiotiques et de sa capacité à acquérir de nouveaux

mécanismes de résistance suite à l'exposition aux antibiotiques pendant les traitements (**Breidenstein et al., 2011**).

➤ *Enterococcus* spp.

La résistance chez les Entérobactéries provient de différents mécanismes. Certaines espèces ont une résistance naturelle. Ainsi les *Proteus* résistent régulièrement à la colistine, les *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia* synthétisent une β -lactamase d'origine chromosomique et la plupart de ces germes ont une paroi épaisse qui entrave l'entrée de la pénicilline G. Mais ce sont surtout les phénomènes de résistance acquise par plasmide qui ont pris une importance considérable. (**Vincent et al., 2008**).

Les Entérobactéries constituent un grand groupe des bactéries possédant une forte similitude et regroupant les microorganismes présentant des propriétés biochimiques et morphologiques communes parmi lesquels on trouve *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* ou *Shigella*. Près de 140 espèces sont des bacilles à Gram négatif de 2-3 μm de longueur sur 0,6 μm de largeur, généralement polymorphes mobiles ou immobiles (**Vincent et al., 2008**).

➤ Plusieurs autres bactéries

Bactéries représentent un risque spécifique dans les institutions sanitaires. Par exemple, les diverses espèces de *Legionella* peuvent provoquer des pneumopathies (sporadiques ou endémiques) par inhalation d'aérosols et impliquant de l'eau contaminée (climatisation, douches, aérosols à visée thérapeutique). (**Vincent et al., 2008**).

1.2.2. Les virus

Il existe une possibilité de transmission nosocomiale pour de nombreux virus, notamment ceux des hépatites B et C (transfusions, dialyse, injections, endoscopie), le virus respiratoire syncytial, les Rotavirus et les Entérovirus (transmis par contact main bouche et par voie féco-orale). D'autres virus comme le Cytomégalovirus, le VIH, le virus Ebola, les virus grippaux, les virus de l'herpès et le virus varicelle zona, sont également transmissibles (**Ducel, 2002**).

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**).

1.2.3. Parasite et champignons

Les modifications épidémiologiques enregistrées ces dernières années portent sur la fréquence des infections fongiques nosocomiales (en augmentation par rapport aux autres types d'infections nosocomiales), sur les germes en cause et sur l'apparition de résistance ou de diminution de sensibilité aux antifongiques usuels, amphotéricine B et triazoles. *Candida* spp., *Aspergillus*, *Trichosporon*, *Fusarium*, *Malassezia*, *Saccharomyces*, *Alternaria*, *mucorales...etc.* (**Dromer, 1996**).

CHAPITRE 01 : LES INFECTIONS NOSOCOMIALES

Les parasites préoccupants sont tous des protozoaires, dont beaucoup ne sont pas endémiques. Pour la transmission nosocomiale, les arthropodes et les vecteurs habituels, leurs cycles de vie doivent être contournés; cela nécessite un transfert du parasite par des voies telles que plaie ouverte au sang ou contact avec les muqueuses, blessures par piqûre d'outils contaminés, produits sanguins, transfusion ou transplantation d'organes (**Lettau, 1991**).

Tableau 01: Prise en charge des infections nosocomiales

	<i>IN bactérienne et fongique</i>	<i>IN virales</i>
<i>Incubation.</i>	Habituellement < 48	Très variable selon les agents (quelques heures à quelques mois)
<i>Principales manifestations cliniques (fréquence).</i>	-Infection urinaire. -infection du site opératoire. -Infection sur cathéters. -Bactériémies. -Pneumonie.	-Infections gastro-intestinales. -Infection de tractus respiratoire. -Hépatites -infections cutanéomuqueuses
<i>Population à risque.</i>	A -Patients soumis à des traitements invasifs (intubation, Ventilation, Sondages, exploration endoscopiques, implantation de matériel étranger..) B -Opérés C -Immunodéprimés D -Sujets âgés	A -nouveaux nés B -Jeunes enfants. C -sujets hospitalières en service de long séjour. D -Immunodéprimés. E -transplantés. F - Hémodialysés. G -Hémophiles K -Person nef soignant.
<i>Prise en compte dans les enquêtes de surveillance.</i>	Très correcte	Fortement sous –estimée
<i>Principaux éléments de prévention de traitement spécifiques.</i>	- Antibioprophylaxie - Antibiothérapie curative - Traitements antifongiques	- Vaccination - Traitements - anti-viraux

2. Facteurs favorisant les infections nosocomiales

Quel que soit le mode de transmission, la survenue d'une infection nosocomiale est favorisée par la situation médicale du patient qui dépend de :

- son âge et sa pathologie : sont particulièrement réceptifs les personnes âgées, les personnes immunodéprimées, les nouveau-nés (en particulier les prématurés), les polytraumatisés et les grands brûlés,
- certains traitements : les antibiotiques qui déséquilibrent la flore bactérienne des patients et sélectionnent les bactéries résistantes ainsi que les traitements immunosuppresseurs.
- la réalisation d'actes invasifs nécessaires au traitement du patient : sondage urinaire, pose d'un cathéter, ventilation artificielle ou intervention chirurgicale (**Vincent, 2008**).
- Les progrès médicaux permettent de prendre en charge des patients de plus en plus fragiles qui cumulent souvent de nombreux facteurs de risque (**Vincent, 2008**)

3. Les Types des infections nosocomiales

3.1. Xéno-infections

L'entrée dans la communauté hospitalière des nouveaux malades, des visiteurs porteurs de maladies infectieuses et éventuellement le personnel médical: 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**).

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.) (**Leminor et Véron, 1982**)

Ce sont des infections qui sévissent sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par les malades, le personnel soignant, ou les visiteurs qui en sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. Ils se transmettent par voie aérienne, par contact direct ou indirect et trouvent à l'hôpital des victimes particulièrement réceptives et des conditions de transmission facilitées. Lorsque la maladie infectieuse est le seul motif d'hospitalisation, les mesures immédiates d'isolement peuvent être prises. Mais dans certains cas l'infection est indépendante du motif d'hospitalisation (**Samou, 2004**).

3.2. Auto-infection

C'est lorsque le malade s'infecte soit par ses propres germes in situ soit à partir de l'environnement immédiat (surface de la peau, vêtement, lit). Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur. Les complications infectieuses respiratoires liées au décubitus et ses conséquences

sur le drainage des voies aériennes peuvent être des auto-infections. Enfin certains malades immunodéprimés (Aplasia médullaire, SIDA) peuvent avoir des bactériémies dues aux germes intestinaux qu'ils hébergent. Ces infections rigoureusement endogènes sont aussi des auto-infections (**Samou, 2004**).

3.3. Hétéro infection

On parle d'hétéro-infection lorsqu'un agent infectieux est transporté d'un malade à un autre provoquant une infection dite croisée ou hétéro-infection. L'agent infectieux est rarement transmis par contact direct ou par voie aérienne. Le plus souvent le vecteur est le personnel soignant par ses mains, et ou ses instruments de travail. On parle d'infection manu portée ou d'infection transmise par le matériel d'exploration ou de soin. C'est le mode de contamination majeure lors de nombreuses épidémies et probablement le plus sensible aux mesures prophylactiques (**Samou, 2004**).

3.4. Exo-infection

Cette infection est liée à des avaries techniques (stérilisation inefficace, filtre à air non stérile, eau polluée). Les matériaux à usage paramédical ou domestique sont utilisés auprès des malades ; ils sont susceptibles d'être contaminés et peuvent ainsi provoquer des infections nosocomiales souvent épidémiques (**Samou, 2004**).

Pression thérapeutique
Et prophylactique

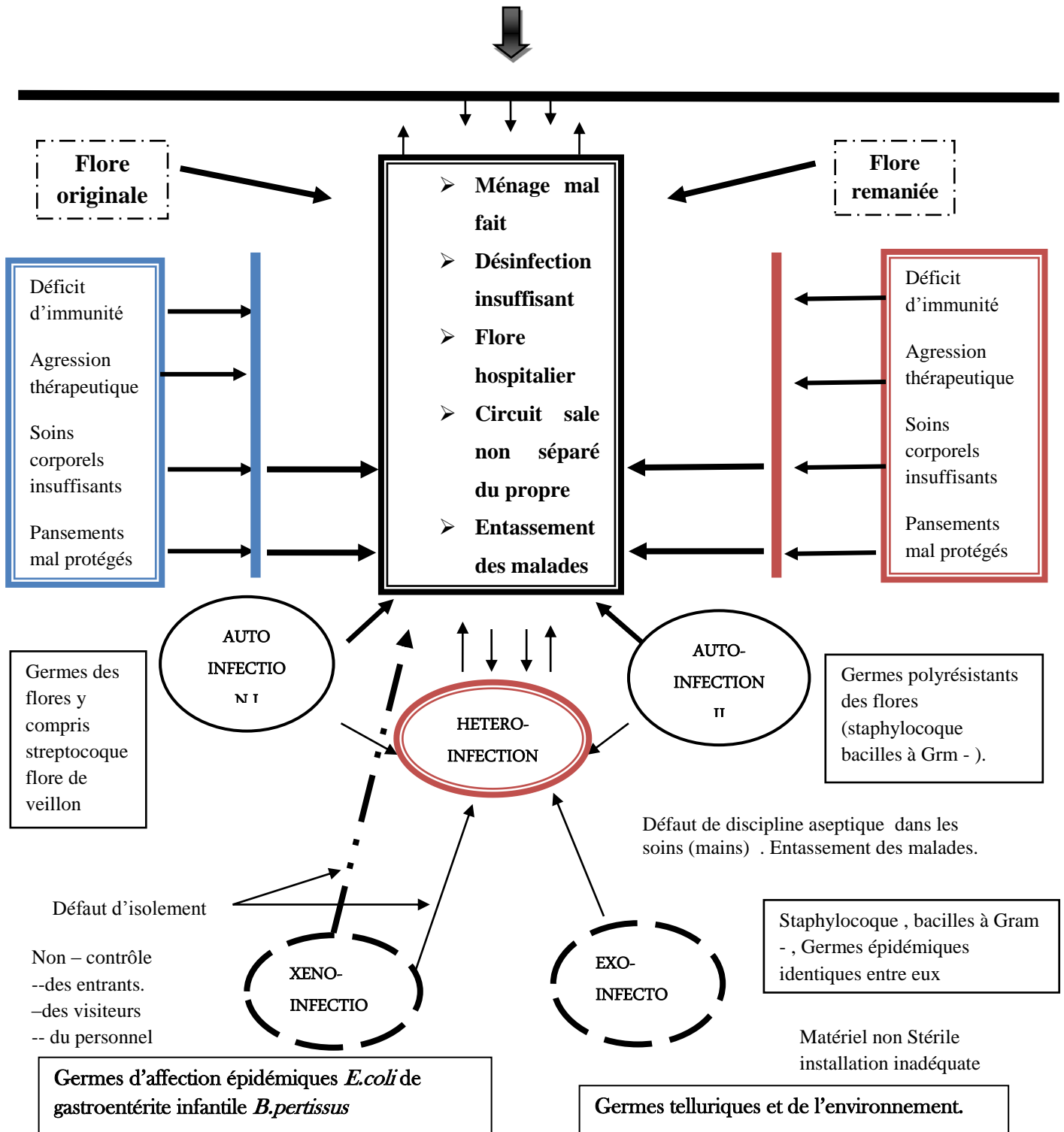


Figure 01 : Schéma de l'infection hospitalière

(Léon le Minor et Micheal Véron, 1984 ,*Bactériologie médicale*, Flammarion médecine sciences paris-France p187)

Chapitre II

La résistance bactérienne

1. La résistance bactérienne

Ce terme a plusieurs approches et définitions. L'organisation mondiale de la santé (OMS) l'a défini dès 1961 de deux façon différentes :

- **Définition thérapeutique** : lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable *in vivo*. On dit souche résistante.
- **Définition épidémiologique** : lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (résistance).

Ces deux définitions ont été complétées par deux autres définitions.

- **Définition génétique** : Une bactérie est résistante si elle héberge des gènes codant pour cette résistance, ce qui se traduit comme un changement dans le code génétique du micro-organisme, codant ainsi un gène altéré
- **Définition clinique** : quand la bactérie échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit au malade, c'est ce qui se manifeste par un échec clinique relatif ou absolu de l'antibiothérapie.

Dans la majorité des infections, un échec clinique se traduit par l'absence d'amélioration (fièvre, état général, etc.) après environ 72 heures de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique (**Haskouri, 2002**).

2. Epidémiologie et évolution de résistance bactérienne

Les fréquences d'apparition des résistances et multi-résistances sont le plus souvent conditionnées par une utilisation importante des antibiotiques. La pression de ces molécules exercée sur les flores bactériennes semble être à l'origine des émergences des résistances bactériennes. De ce fait, sur la recommandation de l'Organisation mondiale de la santé, des structures des surveillances des résistances aux antibiotiques ainsi que des comités sur le bon usage de ces molécules sont mis en places dans la plupart des pays du monde. L'objectif de ces structures est de dresser périodiquement l'état des lieux des résistances bactériennes en vue de mieux adapter l'antibiothérapie (**Aboya Moroh, 2013**).

En 1941, moins de 1 % des souches isolées étaient résistantes à la pénicilline ; dès 1946, 14 % des souches étaient résistantes et bientôt 38 % en 1947. En ce moment, près de 90 % des souches isolées sont résistantes. Tous les germes n'évoluent pas de la même manière et on peut évoquer un cas différent : *Streptococcus pyogenes* est toujours sensible à la pénicilline et l'utilisation de cet antibiotique dans les infections où ce germe est suspecté reste d'actualité.

L'adaptation des bactéries aux agents antimicrobiens n'est pas une notion récente : ce phénomène est connu depuis le tout début de la bactériologie. Un article inspiré par Pasteur lui-même y fait allusion dans le premier numéro des Annales de l'Institut Pasteur; Kossiakoff y signale la modification du comportement de souches bactériennes vis-à-vis de l'acide borique.

Ehrlich, au début de ce siècle, observant le développement de la résistance des Trypanosomes aux dérivés du triphénylméthane, redoute qu'il en soit de même un jour pour les bactéries.

Il semble bien que ces observations des anciens auteurs aient été oubliées lorsque, au cours de la Deuxième Guerre mondiale, fut utilisée pour la première fois la pénicilline. Aussi ne fut-il pas accordé grande attention aux très rares souches de Staphylocoques producteurs de pénicillinase que Fleming lui-même et d'autres auteurs observèrent avant même l'introduction de la pénicilline en thérapeutique. On était loin d'imaginer que l'usage courant, et parfois inconsidéré, que l'on allait faire des antibiotiques aboutirait à une diminution rapide de leur efficacité (**Aboya Moroh, 2013**).

3. Types de résistances bactériennes

3.1. Résistance bactérienne naturelle

Les antibiotiques, des molécules naturelles, sont bio synthétisés (par des micro-organismes) pour supplanter d'autres. Dans un environnement donné, ces substances peuvent être inactives sur des micro-organismes. On dira que ces micro-organismes ont une résistance naturelle (intrinsèque) vis-à-vis cette molécule. Ce caractère est commun chez toutes les souches de la même espèce (**Ziani et Moumen, 2019**)

La S.F.M définit ce type : comme la caractéristique d'une espèce bactérienne qui se traduit a la fin des CMI supérieures à la quelle critique supérieure des tests de sensibilité pour l'antibiotique donnée (**Mehamdia. et Mouassa, 2014**).

- ❖ Ainsi, les bacilles à Gram négatif sont naturellement résistants aux antibiotiques hydrophobes car ces molécules ont des difficultés à traverser la membrane externe de leur paroi.
- ❖ Les mycoplasmes, bactéries dépourvues de parois présentent une résistance naturelle aux beta-lactames, puisque le mode d'action de cette famille d'antibiotique consiste à inhiber la synthèse du peptidoglycane.

Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées afin de déterminer l'activité d'un antibiotique et contribue à définir son spectre antibactérien (**Aboya Moroh, 2013**).

3.2. Résistance bactérienne acquise.

C'est l'acquisition de nouveaux gènes rendent la bactérie insensible à un ou plusieurs antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (**Haskouri, 2002**).

La résistance bactérienne acquise est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique.

C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par transfert génétique d'un autre micro-organisme (**Aboya Moroh, 2013**).

Ce type de résistance n'affecte au départ qu'une seule souche. La modification de la souche provient d'une mutation (10% des cas), ou d'un échange de matériel génétique par des plasmides ou des transposons (90% des cas) (**Eberlin, 1997**).

3.3. Résistance croisée

La résistance croisée correspond à la résistance à tous les membres d'une classe d'antibiotiques due à un seul mécanisme de résistance. La résistance est de niveau variable selon les antibiotiques, en général d'autant plus faible que la molécule est plus active.

Le phénomène de résistance croisée peut survenir parmi tous les membres d'une classe d'antibiotiques, comme c'est le cas pour les 120 sulfamidés, ou être limité à quelques membres d'un groupe, comme pour les aminoglycosides, ou encore impliquer des antimicrobiens appartenant à des classes différentes (**Courvalin, 2008**).

3.4. Co-résistance

Dans la co-résistance, plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun confère (par résistance croisée) la résistance à une classe d'antibiotiques, ce qui entraîne un large phénotype résistant de la bactérie hôte. Là encore, la conséquence de cette organisation génétique est la co-sélection. Ceci est par exemple le cas chez les pneumocoques. (**Courvalin, 2008**). Les gènes correspondants sont souvent adjacents (physiquement liés) et exprimés d'une façon coordonnée comme dans les intégrons

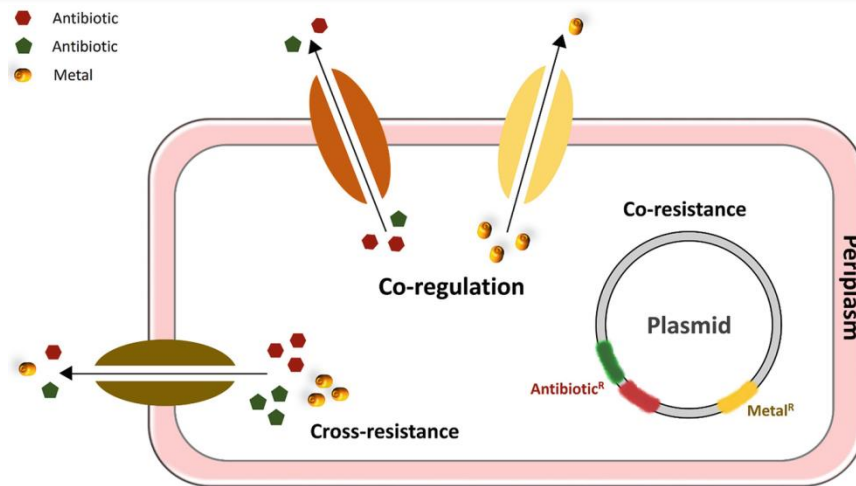


Figure 02 : Phénomène de co-résistance bactérienne
(Piyush Baidara,2019, Baco résiicterial Adaptation to Co-resistance pp 191-210)

3.5. Résistance croisée étendue

Ce type de résistance est du à la présence d'un seul mécanisme de résistance (il s'agit donc bien d'une résistance croisée), mais qui a la capacité de conférer la résistance à plusieurs classes d'antibiotiques, d'où l'adjectif « étendue » (Courvalin, 2008).

6.6. Résistance additive

L'amélioré l'activité des molécules, leurs propriétés pharmacocinétiques et diminué leur toxicité. Pour faire face, les bactéries associent fréquemment deux gènes conférant la résistance à la même classe d'antibiotiques par des mécanismes différents. Dans le cas, par exemple, de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des tétracyclines (Courvalin, 2008)

3.7. Résistance coopérative

Dans d'autres systèmes de résistance, la combinaison de deux mécanismes différents de résistance à la même classe d'antibiotiques peut aboutir à une résistance plus élevée que celle due à la simple superposition des deux composants de l'association, comme pour l'érythromycine chez *Escherichia coli*. (Courvalin, 2008)

4. La multi-résistance des germes nosocomials

Les BMR lorsque, suite à des résistances naturelles ou acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique. Cette résistance étant sans lien avec une virulence accrue par rapport aux bactéries de la même espèce n'ayant pas de mécanismes de résistances.

Chez les patients porteurs de BMR, il convient de distinguer une infection d'une colonisation. On parle de colonisation en absence de signes cliniques ou biologiques d'infection. Une infection se définit par la présence de BMR dans un site anatomique habituellement stérile avec signes cliniques ou biologiques d'infection (e.g. infection de site opératoire, bactériémie) (**Bouras et Belarbi, 2016**).

5. Les facteurs de développement de la résistance bactérienne

Les gènes de résistance aux antibiotiques se dissémineraient dans le monde principalement par deux voies par :

- 1) Diffusion clonale d'une bactérie résistante
- 2) Les transferts horizontaux

Puisque la plupart des gènes de résistance ont été identifiés sur des éléments génétiques mobiles (transposons, cassettes de gène, plasmides, etc.). Toutefois, de nombreux facteurs, dus à l'homme ou à l'environnement, peuvent favoriser cette dissémination (**El Abdani, 2016**).

5.1 : Prescription inappropriée des antibiotiques

La plupart des malades atteints d'infections sont admis à l'hôpital par le biais des urgences où les prescriptions sont multiples et changeantes, souvent par des médecins jeunes et moins expérimentés et par conséquent sont les plus sujets aux prescriptions inappropriées. Parmi ces dernières, on cite les mauvaises indications, l'inadéquation en posologie, en mode d'administration et en durée du traitement. Des enquêtes ont montré que les antibiotiques englobent plus de 25% de la consommation globale en médicament (**Serragui et al., 2013**).

5.2 : L'automédication et mauvais usage

L'automédication antibiotique se caractérise par un traitement injustifié, un choix inapproprié de l'antibiotique, l'emploi de doses insuffisantes et une durée de traitement inadéquate. L'utilisation inappropriée des antibiotiques augmente le risque de sélection de bactéries résistantes conduisant à l'émergence de résistance bactérienne. De plus, les souches bactériennes résistantes se propagent rapidement entre individus dans des environnements où les conditions sanitaires sont défectueuses. L'OMS définit l'automédication responsable comme ; étant la pratique par laquelle les individus traitent des maux et des états de santé avec des médicaments qui sont approuvés et disponibles sans prescription et qui sont sûrs et efficaces une fois utilisés selon les instructions (**Hounsa et Kouadio, 2010**).

6. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les mécanismes ont été largement étudiés, et de nombreuses cibles des fonctions cellulaires ont été impliquées ; Les sites de résistance sont variables entre les espèces bactériennes, et ils sont classés en plusieurs voies. Parfois au sein de la même souche bactérienne, on trouve plusieurs mécanismes de résistance différents (**Bouyahya et al., 2017**)

6.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Nombreuses enzymes bactériennes qui peuvent détruire l'antibiotique par divers réactions, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion.

L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Muylaert et Mainil, 2012).

6.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie (Muylaert et Mainil, 2012)

Les mécanismes enzymatiques et/ou diminution de la perméabilité responsable de la résistance bactérienne naturelle sont les plus fréquents.

- ❖ Les Lactobacilles (bactérie à Gram positif) est naturellement résistant à la Vancomycine et la Teicoplanine par modification de la cible (Yala *et al.*, 2001).

La modification de la cible, décrit pour presque tous les antibiotiques, surtout aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries gram positives, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries gram positives et gram négatives.

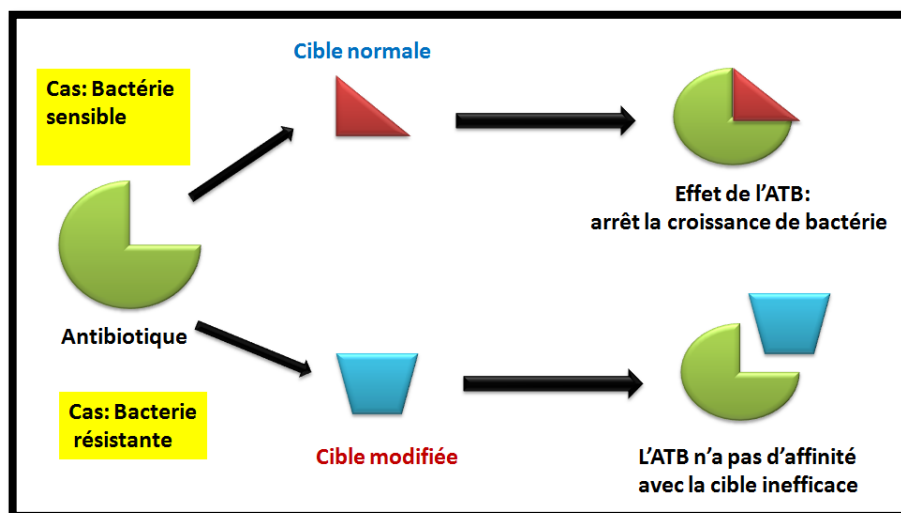


Figure 03 : schéma explicatif de mécanisme de Camouflage de bactérie résistante (Schéma récapitulatif)

Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un

mécanisme décrit pour les sulfamides, les diaminopyrimidines (triméthoprimine) et les bêta-lactames dont les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) ainsi qu'à toutes les bêtalactames d'usage vétérinaire sont un exemple remarquable par la synthèse d'une nouvelle PBP (Penicillin Binding Protein) possédant une affinité moindre pour la méthicilline (**Muylaert et Mainil, 2012**).

- 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**)

7.3.Pompes à efflux (l'efflux actif)

Il s'agit d'un système actif reposant sur la présence de protéines particulières jouant le rôle de pompe permettant l'expulsion des molécules nocives pour la bactérie, dont les antibiotiques, dès qu'ils pénètrent dans la cellule bactérienne. Cela entraîne une diminution de la quantité d'antibiotique atteignant la cible (**Sophie Z, 2014**)

La résistance intrinsèque à de nombreux antibiotiques par efflux actif est largement répandue parmi les bactéries à Gram négatif. Elle est modérément exprimée dans la plupart des cas. Cependant, elle peut atteindre un niveau élevé si plusieurs pompes sont co-exprimées, où en cas d'hyper-expression des gènes encodant des transporteurs. Il existe aussi des associations entre l'efflux actif et les autres mécanismes de résistance. C'est par exemple le cas de la synergie entre l'efflux et des mutations dans les gènes des topoisomérases (*gyrA*, *gyrB* et *parC*, *parE*) dans la résistance aux fluoroquinolones de *Streptococcus pneumoniae*.

La résistance naturelle des bactéries à Gram négatif à de nombreux antibiotiques est le résultat de l'association de l'imperméabilité de la membrane externe et de l'expression de systèmes d'efflux intrinsèques. Ces micro-organismes peuvent aussi acquérir des transporteurs substances spécifiques extrinsèques, portés par des éléments génétiques mobiles. D'autre côté ; les Gram positif, du fait de l'absence de membrane externe, les systèmes d'efflux des bactéries à Gram positif ne sont constitués que d'une pompe d'efflux enchâssée dans la membrane cytoplasmique

Les bactéries utilisent les pompes d'efflux pour se protéger des effets de nombreux toxiques de l'environnement et c'est ce rôle de détoxification (**Cattoir, 2004**).

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).

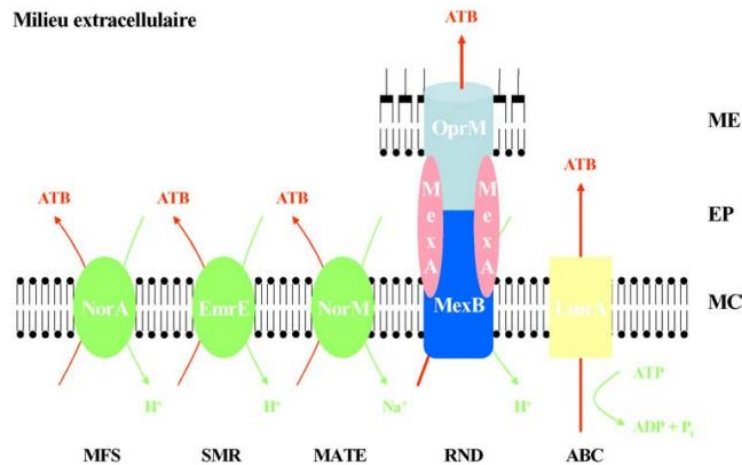


Figure 04 : Représentation schématique des cinq familles de pompes d'efflux

6.4. La perméabilité réduite.

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).

Ce mode de résistance se rencontre chez les bactéries à Gram négatif du fait de leur enveloppe externe plus complexe. En effet, l'antibiotique ne peut pénétrer au niveau intracellulaire que par l'intermédiaire de canaux protéiques transmembranaires, les porines. Ce phénomène passif laisse traverser plus facilement les molécules de petites tailles, neutres et hydrophiles.

- Toute modification de ces porines (mutation des gènes codants, perte, diminution de leur calibre ou de leur expression) confère un bas niveau de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Ce mécanisme de résistance peut s'appliquer sur plusieurs familles d'antibiotiques quand elles empruntent la même porine ou être spécifique lorsque le canal est propre à une famille ; la résistance acquise de *P. aeruginosa* pour l'imipénème par perte de la porine aux carbapénèmes (OprD) en est un exemple. Ce mécanisme seul n'est pas très performant car il suffit dans la plupart des cas d'augmenter la concentration en antibiotique pour y faire face, c'est pourquoi il est souvent associé à d'autres mécanismes (efflux actif, production de β -lactamases) (Cattoir, 2004).

6.5. Protection de la cible d'antibiotique

Ce mode de résistance est bien connu pour la famille des tétracyclines et a été plus récemment décrit pour les quinolones et fluoroquinolones. Il s'opère grâce à un encombrement stérique du ribosome par

production de protéines Tet(M) et Tet(O) qui délogent les tétracyclines de leur cible ou par synthèse de protéines : qnr (*Quinolone Resistance*) qui se fixent sur la topoisomérase, cible des fluoroquinolones, réduisant leur affinité pour celle-ci (Mangin, 2016).

6.6. Piégeage d'antibiotique

Lorsque l'inactivation de l'antibiotique ou la diminution de l'affinité pour la cible n'est pas possible, la bactérie peut être contrainte de séquestrer l'agent antibactérien. Une surproduction de la cible ou la synthèse d'une autre cible avec une affinité pour l'antibiotique permet de diminuer sa concentration libre sur la cible. Ce mécanisme s'observe chez des souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides qui présentent par ailleurs une modification de leur peptidoglycane augmentant l'épaisseur de la paroi bactérienne où l'antibiotique se retrouve piégé (Mangin, 2016).

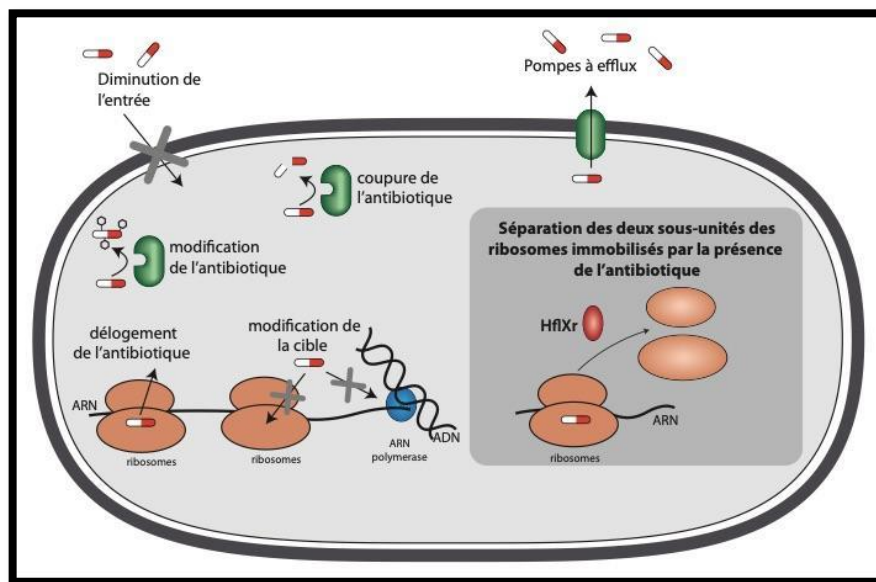


Figure 05 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques.

Mélodie Duval et Pascale Cossart , août-septembre 2019 ,m/s n° 8-9, vol. 35, 613–615, doi : [10.1051/medsci/2019117](https://doi.org/10.1051/medsci/2019117)

7. Génétique de résistance aux antibiotiques

7.1. Génétique de résistance acquise

Le potentiel génétique d'une bactérie est constitué du chromosome et d'un ou de plusieurs génophores facultatifs et extra-chromosomiques, les plasmides. Des gènes sont également portés par des éléments génétiques transposables et par des intégrons. Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique (Lozniewski et Rabaud, 2006).

❖ Afin de pouvoir exercer son activité antibactérienne, un antibiotique doit :

1. Atteindre sa cible, et donc pénétrer la membrane externe, la paroi, et la membrane cytoplasmique.
2. Persister à des concentrations suffisantes.
3. Reconnaître la cible.

Les bactéries développent des mécanismes afin d'empêcher l'une ou l'autre de ces étapes, et ainsi permettre l'émergence de résistances aux antibiotiques (**Ziani, 2014**).

7.2 Génétique de résistance naturelle

Les mouvements des gènes de résistance aux antibiotiques peuvent se produire à deux niveaux distincts, à savoir intra et intercellulaire, impliquant chacun des 116 éléments de mobilité différents. Au niveau intracellulaire, les gènes de résistance aux antibiotiques se déplacent à l'intérieur du génome bactérien composé du chromosome et des éléments répliatifs tels que les plasmides et les phages, via des recombinaisons homologues (homologie de séquences) ou non (site spécifique) des transposons et des intégrons. Quant aux mouvements intercellulaires (transmission horizontale), trois mécanismes en sont potentiellement responsables, à savoir, les transformations (acquisition de segments d'ADN libre), les transductions (transfert via des bactériophages) et les conjugaisons (transfert par des plasmides ou d'autres éléments conjugatifs). (**Muylaert et Mainil, 2012**).

Ainsi, les mycoplasmes appartiennent aux mollicutes, bactéries qui ne possèdent pas de paroi ; il est donc évident que tous les antibiotiques qui agissent sur la paroi bactérienne sont sans effet sur les mycoplasmes (**Eberlin, 1997**).

7.3. Mouvements des gènes de résistance

Les mouvements des gènes de résistance aux antibiotiques peuvent se produire à deux niveaux distincts, à savoir intra et intercellulaire, impliquant chacun des 116 éléments de mobilité différents. Au niveau intracellulaire, les gènes de résistance aux antibiotiques se déplacent à l'intérieur du génome bactérien composé du chromosome et des éléments répliatifs tels que les plasmides et les phages, via des recombinaisons homologues (homologie de séquences) ou non (site spécifique) des transposons et des intégrons. Quant aux mouvements intercellulaires (transmission horizontale), trois mécanismes en sont potentiellement responsables, à savoir, les transformations (acquisition de segments d'ADN libre), les transductions (transfert via des bactériophages) et les conjugaisons (transfert par des plasmides ou d'autres éléments conjugatifs) (**Boerlin et Reid-Smith, 2008**).

7.4. Plasmides de résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques par mutation chromosomique résulte d'un changement des structures cellulaires existantes, qui rend la cellule imperméable à un ou plusieurs antibiotiques, ou encore

CHAPITRE 02 : LA RESISTANCE BACTERIENNE

rend les cibles intracellulaires Spécifiques de ces antibiotiques indifférentes à la présence du ou des antibiotiques.

La résistance liée à la présence de plasmides R est généralement due à une synthèse de protéines. Elle concerne la quasi totalité des antibiotiques. Les exceptions sont rares. La résistance plasmidique peut être due à plusieurs éléments : à l'altération de la cible de l'antibiotiques, à la diminution du transport de l'antibiotique a l'intérieur de la cellule, à la détoxiflcation enzymatique de l'antibiotique et à la substitution de la cible de l'antibiotique.

Les plasmides R peuvent ainsi conférer la résistance à un ou plusieurs antibiotiques de familles différentes. Lorsque des plasmides différents coexistent chez la même bactérie, la conjonction de ces deux phénomènes ajoutée à la résistance intrinsèque (de base ou naturelle) de l'hôte le rend résistant à tous les antibiotiques. Les infections dues à de telles bactéries constituent de véritables impasses thérapeutiques (**Leminor, 1984**).

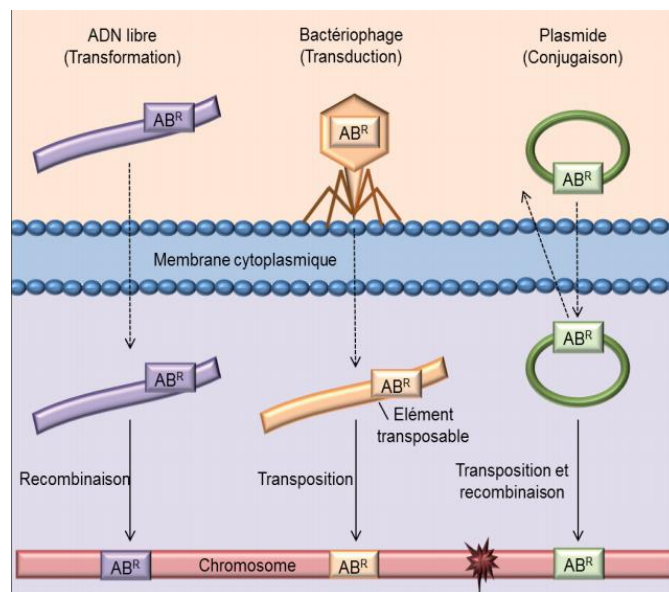


Figure 06 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques (**Alekshun et Levy, 2007**)

Chapitre III

Matériel et Méthodes

1. Cadre d'étude:

Cette étude a été réalisée dans l'hôpital **Khaledi Abdelaziz** (mère et enfant) de la wilaya de Tébessa (Nord-est de l'Algérie) qui comprend plusieurs services :

- Bloc opératoire et Réanimation
- Pédiatrie A (pour les grands enfants)
- Pédiatrie B (pour les bébés)
- Maternité
- Gynécologie
- Néonatalogie
- Grosses à haute risque
- Post opération

Le but de notre travail est l'isolement et l'identification des bactéries responsables d'une infection nosocomiale puis l'étude de leurs résistances aux antibiotiques.

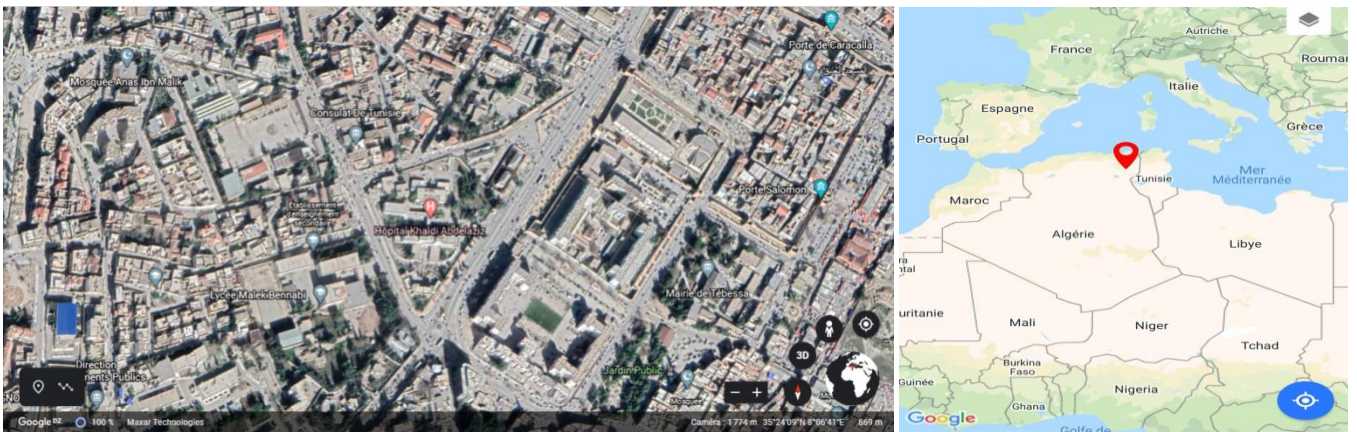


Figure 07 : La Situation géographique du site d'étude (Google Earth, 2020).

2. Prélèvements:

Pendant la période d'étude de deux mois, 14 prélèvements ont été effectués à partir des services suivants : Néonatalogie, GHR, Post opération, Pédiatrie A et B, Maternité et Médecine homme (pus). Cités dans le tableau qui suit (Tableau 02)

- Les prélèvements sont étiquetés (date, heure, site de prélèvement, et service) et utiliser les écouvillons stériles (à usage unique).

2.1: Matériel de prélèvement

- Ecouvillons stériles.
- Portoir.
- Eau distillé et eau physiologique.
- Marqueur.

Tableau 02: Les sites et les services des prélèvements effectués

<i>Service</i>	<i>Médecine</i>	<i>Ped A</i>	<i>Ped B</i>	<i>Néo-</i>	<i>GHR</i>	<i>Post-op</i>	<i>Mat</i>
<i>Site</i>	<i>Homme</i>			<i>Nat</i>			
<i>Pus</i>	•						
<i>Table de soin</i>		•					
<i>Mur</i>			•		•	•	
<i>Lit (salle d'accouchement)</i>			•	•			•
<i>Table</i>			•		•	•	
<i>Paillasse cuisine</i>					•		
<i>Robinet</i>					•		
<i>L'évier</i>					•		

2.2.1: Prélèvement à partir des surfaces sèches

A l'aide d'un écouvillon stérile préalablement humidifié avec de l'eau distillé stérile ou de l'eau physiologique stérile, frotter les surfaces sèche comme : lit, drap, chariot, paillasse, chaise roulante, poignée de la porte et main d'un patient...etc., puis introduire dans des tubes contenant du bouillon nutritif (Cherafa et Ziadi , 2017).

2.2.2 : Prélèvement à partir des surfaces humides

Frotter directement les écouvillons stériles secs sur les surfaces, puis les introduire dans des tubes contenant du bouillon nutritif (Cherafa et Ziadi , 2017).

2.2.3 : Prélèvement à partir d'un patient :

Passage directe d'un écouvillon stérile sur le site d'infection ou le pus (lésion ou blessure...etc.) puis transporté directement l'échantillon dans un bouillon nutritif

1.3 : Après prélèvement

Les écouvillons sont cultivés dans le Bouillon nutritif et incubés dans l'étuve à 37°C pendant 24h.

3. Enrichissement

On a utilisé le Bouillon Nutritif ; qui par sa composition, crée des conditions particulièrement favorables à la multiplication des micro-organismes [1]. Le BN est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Il est recommandé dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments et du lait [2].

4. Isolement et purification

4.1 : Matériel d'isolement :

- Boîtes de Pétri.
- Bec Bunsen.
- Pipettes Pasteur stériles.
- Ecouvillon (échantillon).
- Gélose Nutritive.
- Gélose Chapman, Hektoen, chromagar d'orientation, gélose au sang , cétrimide et Sabouroud
- Portoir.

4.2 : Technique d'isolement:

Après l'enrichissement de prélèvement on l'isole sur plaques gélosé pour avoir des différentes colonies bactériennes, puis on cherche à ré-isoler les bactéries du mélange afin de les identifier (culture pure).

L'isolement a été fait dans différent milieux de culture (Gélose Chapman, Hektoen, chromagar orientation, gélose au sang, cétrimide, GN et Sabouroud) afin d'isoler le maximum des germes responsables de ces infections. Le milieu de culture dépend de germe recherché (**Cherafa et Ziadi , 2017**).

- Prendre une goutte du bouillon nutritif etensemencer des boîtes de Pétri contenant de la gélose, pour cela on utilise la technique d'isolement par stries sur gélose coulée dans des boîtes de Pétri. (**Cherafa et Ziadi , 2017**).

4.3 : Ensemencement en quadrant

L'inoculum, prélevé à partir d'un bouillon de culture est déposé à la périphérie de la gélose. Il est ensuite disséminé par des stries parallèles sur une moitié de la boîte, faire tourner la boîte d'un quart de tour etensemencer par des stries perpendiculaires aux premières stries ; après un autre quart de tour de la boîte,ensemencer le dernier quadrant.

- Les boîtes de Pétri sont toujours incubées renversées. Bien évidemment, il existe d'autres méthodes d'ensemencement par quadrants et d'autres méthodes d'ensemencement de milieux en boîtes (ensemencement en nappe, par piqûre, en masse, par touches,...) [3].

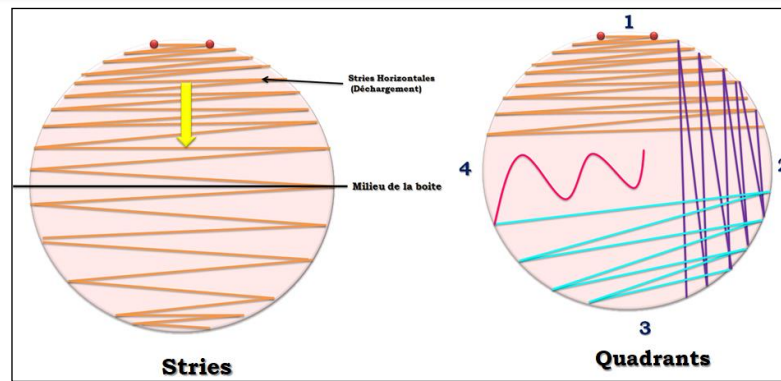


Figure 08: Les techniques d'isolement utilisées en strie /Quadrant (Schéma récapitulatif)

4.4 : Les milieux gélosés utilisés.

Cette étape nécessite des milieux gélosés, contenant de nombreux facteurs de croissance et rendus sélectifs grâce à l'addition d'antibiotiques.

4.4.1 : Gélose nutritive :

Est un milieu d'isolement non-sélectif, l'isolement dans ce milieu est dont le but de contrôler la pureté d'une souche ou de la purifier si elle est contaminée (permet de pousser des colonies différentes)

- Milieu d'isolement utilisé pour la recherche de FMAR (flore mésophile aérobie revivifiable). (Cherafa et Ziadi , 2017)
- La Gélose Nutritive est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Elle est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits [15].

4.4.2 : Gélose au sang

C'est un milieu d'isolement enrichi sur lequel les streptocoques se développent bien. Il permet, la lecture du caractère hémolytique. C'est un milieu riche d'autant plus par la présence de sang (Guillaume, 2004).

- Les germes ont étéensemencés par la méthode des quadrants afin d'obtenir des colonies isolées, ils ont ensuite incubés à 37°C pendant 24h.

4.4.3 : Gélose de Chapman

Est un milieu qui Permet l'isolement de *Staphylococcus aureus* et leur numération et l'utilisation du mannitol. Il est caractérisé par la forte concentration de NaCl qui inhibe des Gram négatif et permet la croissance des bactéries halophiles.

- Ensemencement en stries.
- Incubation : 24-48h

4.4.4 : Gélose Cétrimide

La gélose cétrimide (bromure de cétyltriméthylammonium) est utilisée comme milieu sélectif pour l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* du pus, des expectorations et drains...etc. Également, elle est

utilisé pour déterminer la capacité d'un organisme à produire de la fluorescéine et de la pyocyanine (ATB).

- Le cétrimide (bromure de cétyltriméthylammonium) est incorporé dans le milieu pour inhiber les bactéries
- l'échantillon d'essai peut être inoculé directement sur ce milieu. Les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* peuvent apparaître bleu pigmentées, bleu-vert ou non pigmentées [4].

4.4.5: Gélose Hektoen

La gélose Hektoen est un milieu sélectif différentiel des bactéries entéro-pathogènes, particulièrement de *Salmonella* et de *Shigella*. La composition du milieu permet la différenciation des colonies fermentant rapidement un des trois sucres (virage du bleu au rouge-saumon) et/ou produisant de l'H₂S (centre noir) [5]. D'une façon générale, le protocole suivant peut être appliqué :

1. Ensemencer les boîtes, en stries, la valeur d'une anse du milieu d'enrichissement.
2. Incuber les boîtes pendant 24 à 48 heures à 37°C.
3. Les colonies lactose, saccharose et/ou salicine positif sont rouge-saumon, parfois entourées d'une zone de précipitation biliaire. Les colonies ne fermentant pas ces sucres sont bleu-vert. Les colonies H₂S positif présentent un centre noir [5].

4.4.6 : Chromagar Orientation

L'objectif majeur de ce milieu est la détection des agents pathogènes des voies urinaires comme *E. coli* (colonies rouges), *Klebsiella* (colonies bleues métalliques), *P. mirabilis* (colonies brunes avec halo)...etc.

- a une application plus large en tant que gélose nutritive pour l'isolement des différents micro-organismes. Par exemple, CHROMagar Orientation peut être utilisé pour différencier les divers micro-organismes dans d'autres zones infectées, par exemple dans les cicatrices.
- il est utile lorsqu'il est complété par divers antibiotiques dans la détection des micro-organismes multi-résistants [6].

Lecture :

E. coli : Rose foncé à rougeâtre

Klebsiella, *Enterobacter*, *Serratia* : Bleu métallique

Citrobacter : Bleu métallique avec un halo rouge

Proteus : Halo brun

S. aureus : Doré, opaque, petit

S. saprophyticus : Rose, opaque, petit

Enterococcus : Bleu turquoise [6].

4.4.7 : Gélose Sabouroud :

La gélose Sabouraud est une culture fongique (importante pour étudier les infections mixtes), le thioglycollate est un milieu liquide pour les bactéries et excellent pour la culture des espèces formant de grandes colonies, y compris les anaérobies pour l'effectuation du test de la sensibilité aux antimicrobiens (Segment, 2008) [7].

- Il est utilisé pour l'isolement, la culture et le maintien d'espèces de champignons et de levures non pathogènes et pathogènes. il a été formulé par Sabouraud en 1892 pour la culture des dermatophytes. Le pH est ajusté à environ 5,6 afin d'augmenter la croissance des champignons, en particulier des dermatophytes, et d'inhiber légèrement la croissance bactérienne dans les échantillons cliniques [7].

4 : Ré isolement (purification)

L'opération consiste à avoir une culture pure par repiquages successifs d'une colonie isolée.

- Prélever une colonie isolée, diluer dans un peu d'eau distillée et ensemercer en stries [8].

5 : Identification.

5.1 : Observation macroscopique.

Pour les examens macroscopiques des bactéries communes, aérobies strictes et anaérobies facultatives, les souches bactériennes doivent être cultivées sur un milieu gélosé solide en boîte de Pétri et dans un milieu liquide en tube, afin de déterminer les caractères cultureux de ces bactéries

5.1.1: Culture sur milieu solide:

Après incubation, observer à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire les colonies bactériennes développées sur ces milieux gélosés en boîtes de Pétri et noter leurs caractères cultureux (pureté des souches; La couleur des colonies et virage de couleur du milieu;, la taille, la transparence, les contours...etc.

- L'étude de l'aspect des colonies nécessite l'observation à l'œil nu, en lumière naturelle et artificielle, par éclairage direct et par transparence des colonies (Grosjean et Lacoste, 1999).

Tableau 03 : Guide de lecture macroscopique

Caractère	Lecture		
A. Taille	petites colonies : < 1 mm	colonies moyennes : 1,5 à 3 mm;	-grosses colonie : > 3mm
B. forme de la colonie	à bords circulaires (fréquent) ;	irrégulières et parfois envahissantes ;	- déchiquetées et parfois envahissantes.
C. élévation de la colonie	colonies convexes	colonies légèrement convexes	colonies plates.
D. transparence	colonies transparentes	- colonies translucides	- colonies opaques
E. surface	colonies lisses (parfois brillantes)	-colonies rugueuses (granitées comme le cuir)	-colonies muqueuses (aspect en coulée de miel)
F. consistance	- les colonies grasses, crémeuses		Les colonies sèches donnent

	donnant facilement des suspensions homogènes	difficilement des suspensions homogènes
G. pigmentation	Les colonies apparaissent le plus souvent blanchâtres à crème. Une couleur différente est due à des pigments, qui sont parfois solubles dans le milieu de culture (Camille, 2007).	

5.2 : Observation Microscopique

Au cours d'analyse microbiologique, le technicien peut être amené à observer des bactéries vivantes ou tuées et colorées, le plus souvent, à l'aide d'un microscope optique à fond clair.

5.2.1. Examen à l'état frais

Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de groupement, de leur mobilité éventuelle et la quantité approximative de bactéries (**Camille, 2007**).

- La forme et la mobilité sont des caractères déterminés dans cet examen.
- Le principe consiste à mettre une goutte d'eau distillée et une colonie bien isolée de la souche étudiée entre lame et lamelle puis l'observation se fait à grossissement $\times 40$ ou $\times 60$.

5.2.2. Examen après coloration

A. Coloration de Gram

C'est une coloration complexe et différentielle permettant de voir la composition chimique de la paroi des bactéries étudiées. Elle est également réalisée pour déterminer la forme des cellules, le mode de regroupement ainsi que classer les bactéries en deux grands groupes, les Gram positif et les Gram négatif selon la base de perméabilité de paroi à l'alcool. Avec cette coloration double, les bactéries Gram-positif apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram-négatif sont colorées en rose ou en rouge.

Le protocole

- Préparer un frottis d'un produit pathologique ou d'une culture bactérienne pure ;
- Recouvrir le frottis de violet cristal oxalaté ; laisser agir 1 minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Verser du Lugol et le laisser agir pendant 1 minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95°C, entre 15 et 30 secondes (selon les auteurs) ; rincer à l'EDS ;
- Recolorer avec la fuchsine pendant 1 minutes ; rincer à l'eau distillée ;
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.
- Observer au microscope à l'objectif à immersion (**Cherafa et Ziadi, 2017**)

B. Coloration de bleu de méthylène

Principe:

La coloration au Bleu de méthylène (BM) est une coloration très simple qui permet d'observer les bactéries, les champignons, mais aussi les cellules qui sont en général mieux conservées qu'avec la coloration de Gram. Elle permet de renseigner sur :

- la forme des bactéries
- la taille
- le mode de regroupement [9].

Technique:

- Réaliser un frottis et le fixer.
- Recouvrir la lame de Bleu de méthylène phéniqué, 1 à 2 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Sécher la lame entre 2 feuilles de papier Joseph.
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière [9].

6. Tests biochimiques.

6.1. Test catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégage (Camille, 2008).

A. Première méthode :

Prendre un tube à hémolyse contenant 1 ml d'eau physiologique stérile:

- émulsionner une quantité suffisante d'une culture bactérienne de 24 heures prélevée sur milieu gélosé, afin d'obtenir une suspension épaisse (turbidité importante)
- ajouter 2 à 3 gouttes d'eau oxygénée à 3 % sans agiter. Attendre 1 à 2 minutes avant d'observer (Camille, 2008).

B. Seconde méthode

Prendre une lame porte objet et propre. Déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et émulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose (Camille, 2008).

C. Résultats

Effectuer le test sur les souches à caractériser et observer; Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase positive (Camille, 2008).

6.2 Test Oxydase:

L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoire cytochromiques bactériennes.

A. Première méthode

- Prendre un tube à hémolyse contenant 0,5 ml d'eau physiologique stérile, puis:
- Faire une suspension épaisse de bactéries à partir d'une culture jeune sur gélose

- Ajouter un disque OX (Camille, 2008)

Les bactéries produisant l'enzyme oxydase : oxydent ce réactif pour former un composé violet, la suspension devient alors violette après 30 à 60 secondes et la couleur persiste pendant 15 minutes environ: test oxydase positive. La coloration n'est pas modifiée dans le cas contraire (Camille, 2008).

B. Seconde méthode

Déposer, sur une lame porte-objet propre, un disque « OX » et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile. Prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

Une coloration violette foncée apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes puis vire au noir : test oxydase positive (Camille, 2008).

6.3. Test complémentaires

6.3.1. Test Coagulase

- À l'aide d'une pipette stérile de 1 ml, ajouter 0,5 ml du plasma reconstitué à une éprouvette de 12 mm x 75 mm.
 - . À l'aide d'une anse stérile, émulsifier 2 à 4 colonies de l'organisme du test dans le plasma.
 - Mélanger délicatement.
 - Incuber pendant 4 heures au bain-Marie à 37°C.
 - Au bout d'une heure, examiner le tube pour détecter toute formation de caillot en le penchant doucement sur le côté. En l'absence de toute formation de caillot évidente, révéifier toutes les 30 minutes jusqu'à une limite de 4 heures.
- S'il n'y a toujours pas de caillot au bout de 4 heures d'incubation, réincuber le test à température ambiante pendant la durée restante, et vérifier la formation éventuelle de caillot au bout de 24 heures. Ne pas ré incuber les tests ayant déjà produit un caillot au bout de 4 heures étant donné que certaines [10].
- Relever les résultats

6.3.2. Test de filamentation (Blastèse) :

Le bouillon blastèse (sérum) estensemencé à partir d'une colonie suspecte. Après 3 heures d'incubation à 37°C on effectue un montage d'état frais afin de rechercher des tubes germinatifs caractéristiques de *Candida albicans*. Attention, ne pas confondre un tube germinatif avec un pseudo-mycélium (base étranglée)[15] .

7 . Galerie Biochimique

L'identification biochimique basée sur les tests qui étudient la fermentation des sucres, la capacité d'utilisation le citrate comme une seule source de carbone, la production de gaz, le type respiratoire et la mobilité.

7.1 : API 20 E

La galerie API commercialisée, est un système standardisé pour l'identification de bactéries ; elle est composée d'un nombre variable de microtubes (10 ou 20 le plus souvent), contenant des substrats déshydratés qui permettent de réaliser des tests biochimiques (**Camille, 2008**).

A).Préparation de la galerie API

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau dans les alvéoles avec pipette pour créer une atmosphère humide.
- Déposer la galerie dans la boîte d'incubation (**Guibert et al., 1981**).

B).Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule de « Suspension Medium » ou introduire quelques ml d'eau distillée stérile (avec une pipette Pasteur) dans un tube à vis stérile.
- Avec la pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu (**Guibert et al., 1981**).

C).Inoculation de la galerie API 20 E

- Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, remplir tubes et cupules des tests CTI – VP –GEL
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH, LCD, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35 - 37° C pendant 18 à 24 heures
- Lecture et détermination : Elle se fait avec le tableau API 20 E .ou à l'aide du logiciel d'identification apiweb (**Guibert et al., 1981**).

7.2. API 20 NE

API 20 NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non Entérobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*...etc.) [11]. 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.

☐ 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. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe

de la pipette ou de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant [11].

- Ouvrir une ampoule d'API AUX Médium comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" et y transférer environ 200 µl de la suspension précédente. Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir tubes et cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.
- Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) pour former un ménisque convexe [11].
- Refermer la boîte d'incubation et incuber à $29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures (± 2 heures).

8. Antibiogramme

L'antibiogramme permet de catégoriser une souche bactérienne en classe semi-quantitatives (sensible S, résistante R ou Intermédiaire I) et d'orienter l'antibiothérapie (Vedel, 2005).

8.1 : Technique

- nous avons utilisé une gélose Mueller Hinton (MH) dans une boîte de Pétriensemencée par la suspension obtenue (3 à 5 colonies sont prélevées et dissociées dans 5ml d'eau distillée stérile) par des stries bien serrées (Cherafa et Ziadi Chibane, 2017).
- Après étuvage à 37°C pendant 24 heures nous pouvons obtenir des diamètres sans bactérie (zone d'inhibition) autour des pastilles d'antibiotique (Cherafa et Ziadi Chibane, 2017).

8.2 : Gélose Mueller-Hinton

La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et sulfamides. Sa formulation est conforme aux recommandations du CLSI, du CA-SFM ou de l'EUCAST. Contient une concentration importante d'agar. Elle peut également être additionnée de sang pour réaliser l'antibiogramme des germes fragiles, tels que *Haemophilus influenzae*, *Neisseria* et *Streptococcus pneumoniae* [12].

8.3 : Ecouvillonnage

C'est l'ensemencement pour l'antibiogramme ce fait sur la plaque gélosée MH à l'aide d'un écouvillon imbibé d'inoculum puis essoré sur les parois du tube pour des bonnes résultats (zone claire) [13].

8.4 : les disques d'ATB

CHAPITRE 03 : MAETRIELS ET METHODES

Chaque disque est imprégné d'un antibiotique sélectionné permettant de tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis de celui-ci. Le principe consiste à placer la culture de bactéries déposée dans une boîte de Pétri en présence d'un ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci [14].

Entérobactéries	<i>Pseudomonas</i>	<i>Staphylococcus</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Colistine (CT) • Ceftazidime (CAZ) • Cefotaxime (CTX) • Cefazoline (CZ) • Amoxicilline (AMX) • Gentamicine (CN) • Chloramphénicol (C) • Ofloxacin (OFX) 	<ul style="list-style-type: none"> • Ofloxacin (OFX) • Colistine (CT) • Imipénème (IPM) • Cefazoline (CZ) • Ceftazidime (CAZ) • Gentamicine (CN) • Fosfomycine (FO) 	<ul style="list-style-type: none"> • Vancomycine (VA) • Ofloxacin (OFX) • Chloramphénicol (C) • Erythromycine (E) • Gentamicine (CN) • Pénicilline G (P)

Tableau 03: les antibiotiques utilisés

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). Selon le logiciel ATB Whonet 5,3 et les diamètres mesurés on a distingués des bactéries résistantes et d'autres sensibles ou intermédiaires (R, S ou I) [14].

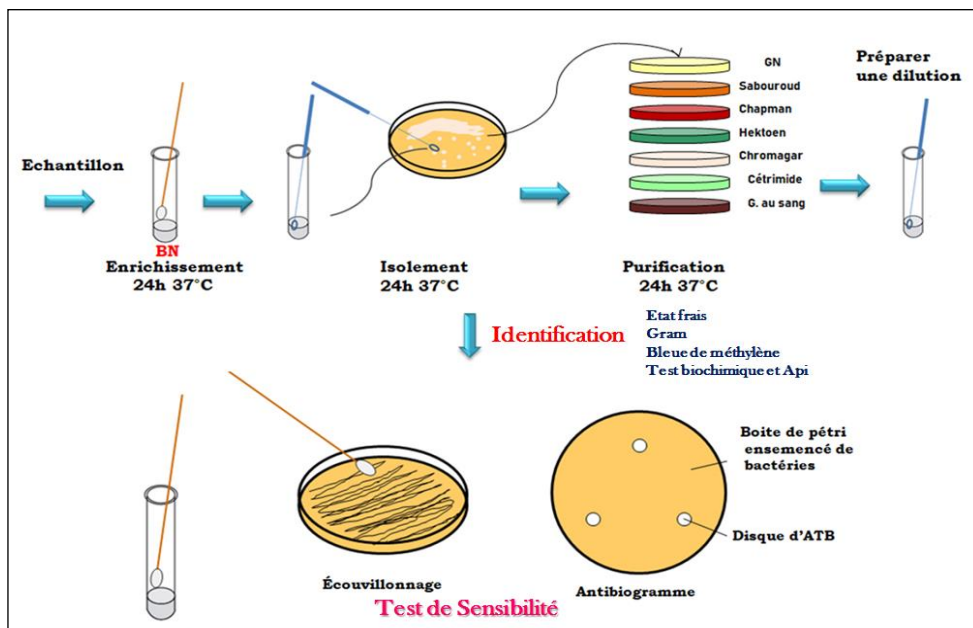


Figure 09 : Protocole suivi dans le travail pratique (Schéma récapitulatif).

Chapitre IV

Résultats et discussion

1. Résultats d'enrichissement :

2. Résultats d'isolement :

2.1 : Examen macroscopique.

Pour chaque prélèvement, on fait l'isolement puis une purification des souches bactériennes sur les différents milieux utilisées, les principaux caractères cultureux sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 04: résultats de lecture macroscopique

	Gélose nutritif	Chromagar orientation	Chapman	Hektoen	Gélose au sang (frais/cuit)	Cétrimide	Sabouroud
01 Pus	Petites colonies vert, translucides, réguliers, plates, rugueuses, crémeuses.	4 aspects, petits, lisses, réguliers, plats, crémeux, vert + violet + blanc sont opaques et blanc avec centre vert translucide.	/	/	/	Petites colonies, vert, transparentes, régulières, lisses, plates, crémeuses	/
02 Ped A (table de soin)	3 aspects, blanchâtres, translucides, irrégulières, 2 de tailles moyenne, plates, crémeuses et lisses + 1 petite, rugueuse, semi bombé et sec.	2 aspects, la premier est grand, blanc, semi bombé et la deuxième est de taille moyenne, vert, plate. Les 2 sont opaques, crémeuses, lisses, régulières.	Petite, crémeuse, blanc et milieu jaune, opaque, lisse, régulier, plate. Petite crémeuse, blanc milieu rose, opaque, régulier, lisse, plate.	Moyenne, muqueuse, vert, opaque, lisse, régulier, semi bombé.	Petite, crémeuse, gris, opaque, régulier, lisse, plate.	De petites tailles, crémeuses, blanchâtres, translucides, régulières, lisses et plates.	/

CHAPITRE 04 : RESULTATS ET DISCUSSION

03 Mat (lit)	3 aspects, blanchâtres, 2 sont grands, irréguliers, plates, crémeuses, opaques, rugueuses et 1 est petit, réguliers, semi bombé, sec, lisse, translucide.	/	Petit, blanc et milieu jaune (mannitol ⁺), opaque, lisse, régulier, plate, crémeuse.	Petit, saumon (lac ⁺), opaque, régulier, lisse, semi bombé, sec, forme de chapeau mexicain.	/	/	Petit, blanc, opaque, lisse, régulier, crémeuse, semi bombé.
04 Ped B (lit)	Petit, vert, translucide, lisse, crémeuse, régulier, plate.	3 aspects, petites, lisses, crémeuses, réguliers, plates, 2 opaques et 1 translucide, vert blanc et violet.	Petit, blanc et milieu rose, opaque, lisse, crémeuse, régulier, plate.	Petit, saumon (lac ⁺), opaque, régulier, lisse, semi bombé, sec, forme de chapeau mexicain. Petite, vert et milieu vert foncé, semi bombé, crémeuse, régulier, translucide, lisse.	Petite, blanc et milieu foncé, crémeuse, régulier, plate, opaque, lisse.	Petit, vert, transparent, lisse, crémeuse, régulier, plate.	Petit, bombé, régulier, blanc, opaque, lisse, crémeuse.
05 Ped B (mur)	Petit, blanchâtre, translucide, lisse, crémeuse, régulier, semi bombé.	Petit, vert, opaque, lisse, crémeuse, régulier, plate.	Petit, blanc et milieu jaune (mannitol ⁺), opaque, lisse, crémeuse, régulier, plate.	Petit, saumon (lac ⁺), opaque, régulier, lisse, semi bombé, sec, forme de chapeau mexicain.	Petite, blanc, crémeuse, régulier, plate, opaque, lisse.	Petit, blanchâtre, transparent, lisse, crémeuse, régulier, semi bombé.	/

CHAPITRE 04 : RESULTATS ET DISCUSSION

<p>06 Ped B (table)</p>	<p>2 aspects, plates, blanchâtres, la 1^{ère} est transparent, lisse, crémeuse, petite, régulier. Et la 2^{ème} est opaque, rugueuse, sec, moyenne, irrégulier.</p>	<p>Petit, vert, opaque, lisse, crémeuse, régulier, plate.</p>	<p>Petit, blanc et milieu rose, opaque, lisse, crémeuse, régulier, plate.</p>	<p>Petit, saumon (lac⁺), opaque, régulier, lisse, semi bombé, sec, forme de chapeau mexicain.</p>	<p>Petite, blanc, peu sec, régulier, plate, opaque, lisse.</p>	<p>Petit, blanchâtre, transparent, lisse, crémeuse, régulier, plate.</p>	<p>Petit, bombé, régulier, blanc, opaque, lisse, crémeuse.</p>
<p>07 GHR (lit)</p>	<p>/</p>	<p>2 aspects, vert et blanc, petites, plates, lisses, crémeuses, réguliers, opaque.</p>	<p>Moyenne, plate, lisse, crémeuse, régulier, opaque, blanc.</p>	<p>Petit, saumon (lac⁺), opaque, régulier, lisse, semi bombé, sec, forme de chapeau</p>	<p>Petite, plate, lisse, crémeuse, irrégulier, blanc, opaque.</p>	<p>Petite, blanc, plate, lisse, crémeuse, transparent, régulier.</p>	<p>Petite, blanc, plate, lisse, crémeuse, opaque, régulier.</p>
<p>08 GHR (mur)</p>	<p>/</p>	<p>3 aspects, vert, rose et blanc, petites, plates, lisses, crémeuses, réguliers, opaque.</p>	<p>2 aspect Moyennes, plates, lisses, crémeuses, réguliers, opaques, blancs (la 1^{ère} mannitol⁻ et la 2^{ème} mannitol⁺).</p>	<p>Petit, saumon (lac⁺), opaque, régulier, lisse, semi bombé, sec, forme de chapeau mexicain</p>	<p>Petite, plate, lisse, crémeuse, irrégulier, blanc, opaque.</p>	<p>Petite, blanc, plate, lisse, crémeuse, transparent, régulier.</p>	<p>Petite, blanc, plate, lisse, crémeuse, opaque, régulier.</p>
<p>09 GHR (table)</p>	<p>/</p>	<p>2 aspects, vert et blanc, petites, plates, lisses, crémeuses, réguliers, opaque.</p>	<p>Moyenne, plate, lisse, crémeuse, régulier, opaque, blanc.</p>	<p>2 aspects Petit, saumon (lac⁺), opaque, régulier, lisse, semi bombé, sec, forme de chapeau mexicain. Moyenne, plate, lisse, muqueuse, irrégulier, vert, translucide</p>	<p>Petite, plate, lisse, crémeuse, irrégulier, blanc et milieu foncé, opaque.</p>	<p>Petite, vert, plate, lisse, crémeuse, transparent, régulier.</p>	<p>Petite, blanc, plate, lisse, crémeuse, opaque, régulier.</p>

CHAPITRE 04 : RESULTATS ET DISCUSSION

10 GHR (pailla s-se de cuisin e)	/	3 aspects, vert, rose et blanc, petites, plates, lisses, crémeuses, réguliers, opaque.	2 aspect Moyennes, plates, lisses, crémeuses, réguliers, opaques, blancs (la 1 ^{ère} mannitol ⁻ et la 2 ^{ème} mannitol ⁺).	Petite, plate, lisse, crémeuse, irrégulier, blanc et milieu foncé, opaque.	Petite, plate, lisse, crémeuse, irrégulier, blanc et milieu foncé, opaque.	Petite, vert, plate, lisse, crémeuse, transparent, régulier.	Petite, blanc, plate, lisse, crémeuse, opaque, régulier.
11 Post opérat ion (lit)	/	2 aspects, petites, réguliers, lisses, plates, crémeuses, la verte est opaque et la blanche est translucide.	Petite, blanc, plate, lisse, crémeuse, opaque, régulier.	2 aspects Petites, lisses, plates, la 1 ^{ère} est sec, régulier, opaque, saumon (lac ⁺). Et le 2 ^{ème} est muqueux, irrégulier, translucide, vert.	Petite, opaque, régulier, blanc, lisse, plate, crémeuse.	Petite, transparent, lisse, crémeuse, vert, régulier, plate.	/
12 Néo Nat (mur)	/	2 aspects, réguliers, lisses, plates, crémeuses, 2 sont opaques, petites et 1 seul translucide, moyenne. Vert, blanc, bleu métallique.	/	2 aspects Petites, lisses, plates, la 1 ^{ère} est sec, régulier, opaque, saumon (lac ⁺). Et la 2 ^{ème} est muqueuse, irrégulier, translucide, vert.	Petite, plate, lisse, crémeuse, irrégulier, blanc et milieu foncé, opaque.	Petite, transparent e, lisse, crémeuse, plate, régulier, vert.	/

3. Résultat de purification

Cette étapes est pour l'obtention de souches pures, la démonstration de la présence ou l'identification des souches ; sur des milieux de cultures spécifique .La photo qui suit présente l'isolement de pus puis sa purification sur la plaque gélosé de Chromagar orientation (Chaque couleur signifie une espèce différente) . (Figure 10-11 présentent la purification à partir de gélose chromagar).

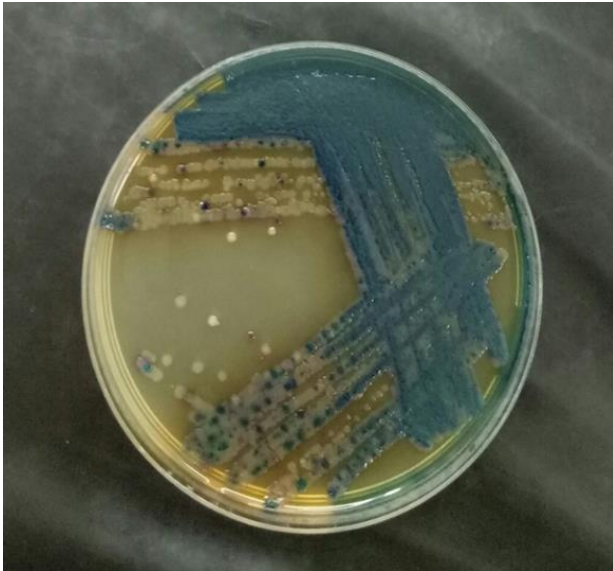


Figure 10: isolement de pus sur Chromagar



Figure 11: purification de pus sur chromagar

❖ Ci-joint d'autres souches dans le tableau suivant :

Tableau : Aspects macroscopiques des souches pures sur milieux spécifiques

<p><i>Staphylococcus epidermidis</i> sur milieu Chapman</p>	<p><i>E. coli</i> sur gélose Héктоen</p>
<p><i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Chapman</p>	<p><i>Pseudomonas</i> sur gélose cértimide</p>

4. Examen microscopique et identification

4.1 : Etat frais

A partir des observations microscopiques des échantillons entre lame et lamelle, on a obtenue les résultats qui suivent :

Tableau 05 : Résultats de lecture à l'état frais

	Chapman	Héktoen	Gélose au sang (frais/cuit)	Cétrimide	Sabouroud
Pus				Bacille, très mobile.	
Ped A (table de soin)	Cocci.		Cocci.	Bacille, très mobile.	
Mat (lit)	Cocci.	Bacille, mobile.	/	/	Forme sphérique.
Ped A (mur)	Cocci.	Bacille, mobile.	Bacille, mobile.	Cocci.	Bacille, mobile.
Ped A (lit)	Cocci.	Bacille, mobile.	Bacille, très mobile.	Bacille, très mobile.	Bacille, mobile
Ped A (table)	Cocci.	Bacille, mobile.	Bacille, mobile.	Cocci.	Bacille, mobile
GHR (table)	Cocci.	Bacille, très mobile.	Bacille, très mobile.	Bacille, très mobile.	
GHR (paillasse de cuisine)	Cocci.	Bacille, mobile.	Bacille, très mobile.	Bacille, très mobile.	
GHR (lit)	Cocci.	Bacille, mobile.	Cocci.	Bacille, mobile.	
GHR (mur)	Cocci.	Bacille, mobile.	Cocci.	Bacille, mobile.	
Post opération (lit)	Cocci.	Bacille, mobile.	Bacille, très mobile.	Bacille, très mobile.	
Néo Nat (mur)	Cocci.	Bacille, mobile.	Bacille, très mobile.	Bacille, très mobile.	

4.2 : Coloration de Gram

La coloration différentielle de Gram, nous a permet d'isoler des bâtonnets avec des couleurs différentes. Les photos suivantes montrent l'aspect microscopique de quelques bactéries isolées.

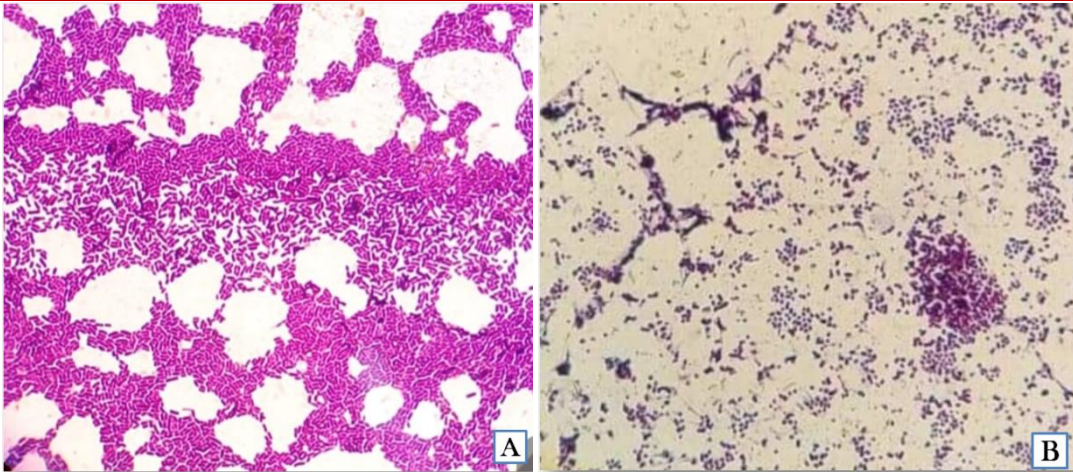


Figure 13: Les différentes formes des cultures isolées.

A : Culture de bacilles Gram (-).

B : Culture de cocci Gram (+).

4.2 : Coloration au bleu de méthylène :

Après incubation des souches fongiques isolées on a fait la coloration au bleu de méthylène pour observer la morphologie sous microscope. Les photos suivantes résument les résultats obtenus.

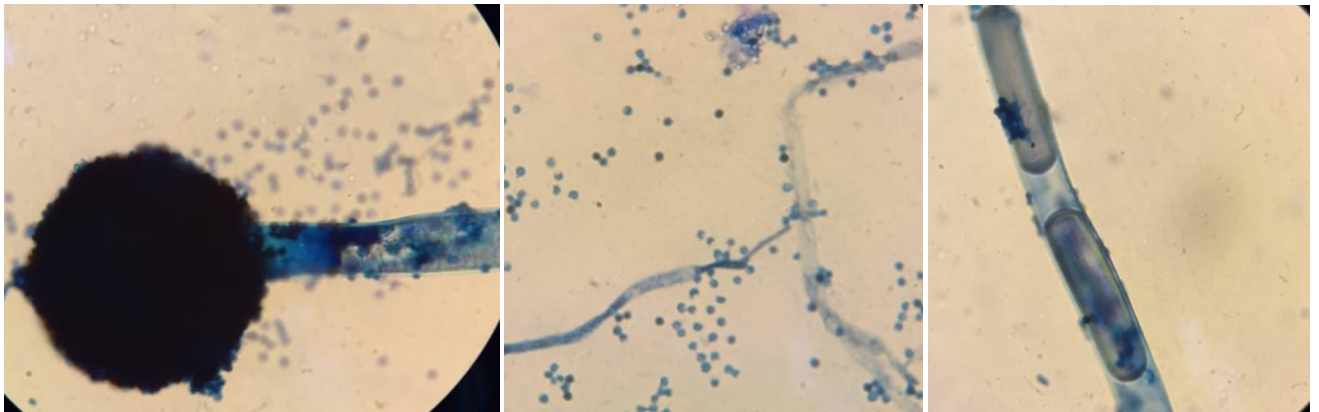


Figure 14: Souche fongique coloré au Bleu de méthylène.

5. Résultats des tests biochimique :

5.1 Test oxydase et catalase :

Pour les bactéries Gram (-), on a fait test pour mettre en évidence une enzyme : **la phénylène diamine oxydase** des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. La recherche de la catalase a été faite pour les Gram (+). Les photos qui suivent présentent les résultats d'une bactérie isolée.

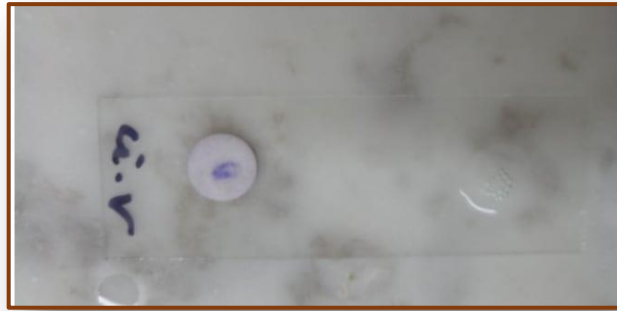


Figure 15 : le test catalase et oxydase sur la lame

5.2 : Test coagulase pour les staphs :

Pour les souches *Staphylococcus* trouvées on termine par le test complémentaire de coagulase , pour la confirmation de souche *Staphylococcus aureus*. Le test à la coagulase différencie les souches de *Staphylococcus aureus* de *S. epidermidis* des autres espèces à coagulase négative. La coagulase est une protéine semblable à une enzyme qui provoque la coagulation du plasma en convertissant le fibrinogène en fibrine. Coagulase (+) : *S.aureus* et *S. epidermidis* et Coagulase (-) : les autres espèces.

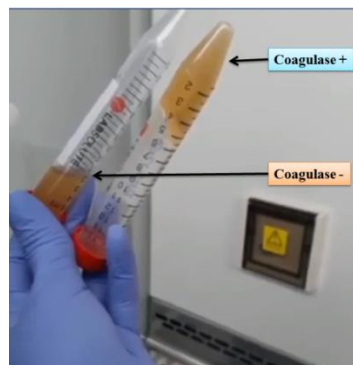


Figure 16 : résultat de test coagulase pour les souches de *Staphylococcus*.

6. Identification biochimique API

Nous avons utilisés deux types de galeries 20E, 20NE (Voir figures N° 17, 18 et 19 et Tableau N° 6, 7 et 8) qui suivent. Après la préparation et l'incubation des galeries on a observé plusieurs espèces de cellules bactériennes.



Figure 17: Api 20E de la souche *P. fluorescens* (Code 2270004)

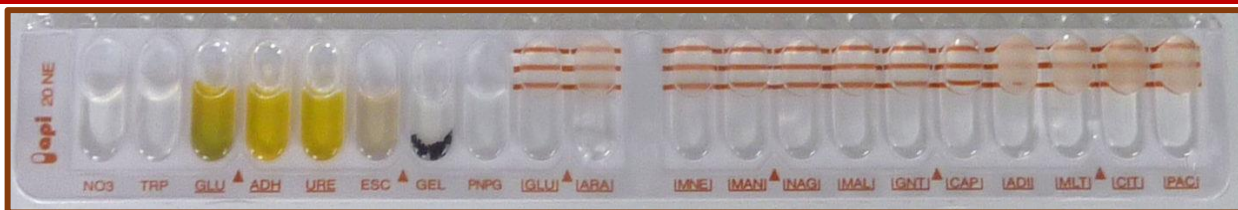


Figure 18: Api 20 NE de la souche *P. aeruginosa* (Code 2754555)



Figure 19: Api 20 E de la souche *E. Coli*

Tableau 06 : Api 20E de la souche *Acinitobacter baumannii* (code 0204042).

-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SPR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX

Tableau 07 : Api 20E de la souche *Enterobacter cloacae* (code 7305573).

+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SPR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX

Tableau 08 : Api 20E de la souche *P.aeruginosa* (code 2216042).

-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SPR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX

☐ Les codes de souches ont été obtenus puis confirmés à partir le catalogue de galerie API 20E et parfois le logiciel Apiweb.

7. Test de Sensibilité aux antibiotique :

7.1 : Antibiogramme.

Après incubation sur milieu Mueller Hinton à 37C° pendant 24h, nous avons obtenus les résultats suivants. le tableau qui suit résume les résultats obtenues. (Tableau 09)

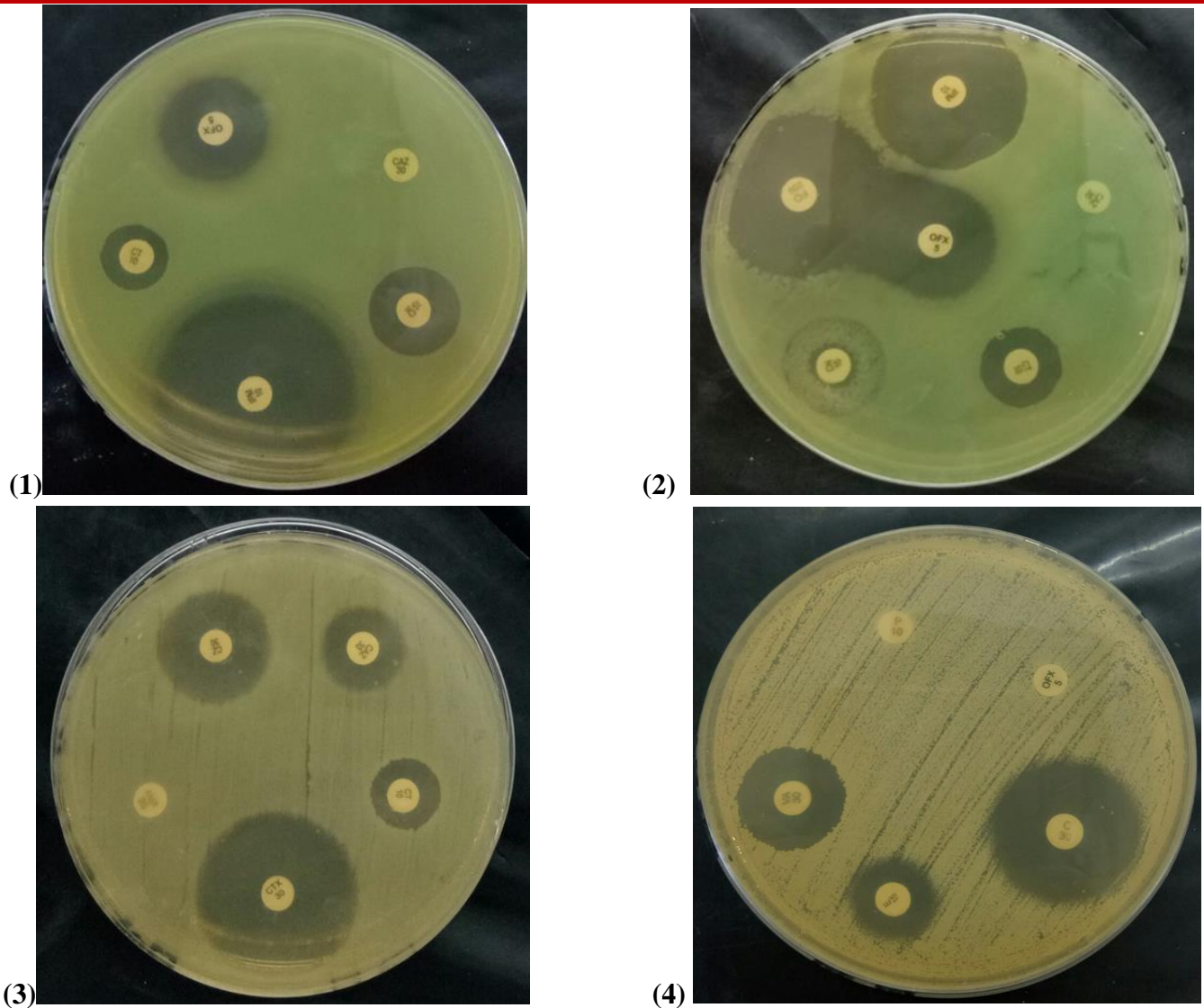
Tableau 09 : Résultats de l'antibiogramme

<i>ATB souche</i>	CT	CAZ	CTX	CZ	AMX	CN	C	OFX	IPM	FO	VA	E	P
E.coli (Mat)	S	R	S	I	R	/	/	/	/	/	/	/	/
P.aeruginosa (Pus)	S	R	/	/	/	R	/	S	S	/	/	/	/
P.aeruginosa (Ped B)	S	S	/	S	/	/	/	S	/	/	/	/	/
S.aureus (Ped A)	/	/	/	/	/	/	S	R	/	/	S	I	R
P.aeruginosa (GHR)	S	R	/	/	/	S	/	S	S	/	/	/	/
E.coli (GHR)	S	R	S	S	/	/	S	/	/	/	/	/	/
A.baumanii (Ped B)	S	R	S	R	S	S	/	/	/	/	/	/	/
P.aeruginosa (Post -opp)	S	R	/	/	/	S	/	S	S	S	/	/	/
S.saprophyticus (Mat)	/	/	/	/	/	S	S	S	/	/	S	S	/
E.coli (Post opp)	/	/	R	R	R	S	S	I	/	/	/	/	/
E. cloacae (Neo Nat)	/	/	R	R	R	R	S	S	/	/	/	/	/
E.coli (Neo Nat)	/	/	R	R	R	R	S	I	/	/	/	/	/
P.aeruginosa (Neo Nat)	S	R	/	/	/	S	/	S	S	S	/	/	/

R : Résistante

S : Sensible

I : Intermédiaire



(1) , (2) :Antibiogramme de *P. aeruginosa*

(3) :Antibiogramme de *S. saprophyticus*

(4) : Antibiogramme de *S. aureus*

➤ Les graphes qui suivent expriment les résultats obtenus.

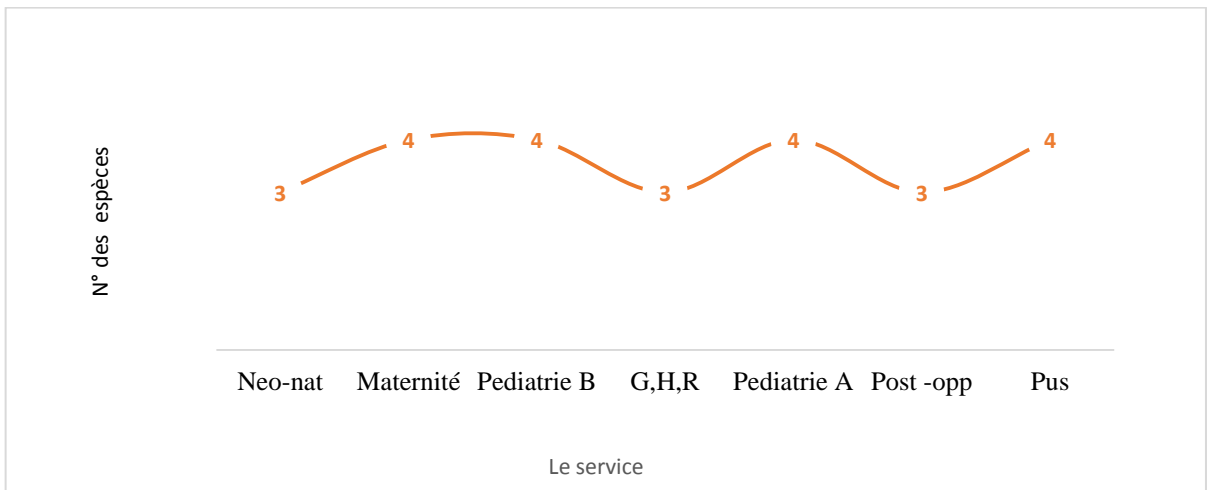


Figure : Distribution des espèces présentes au niveau des services étudiés

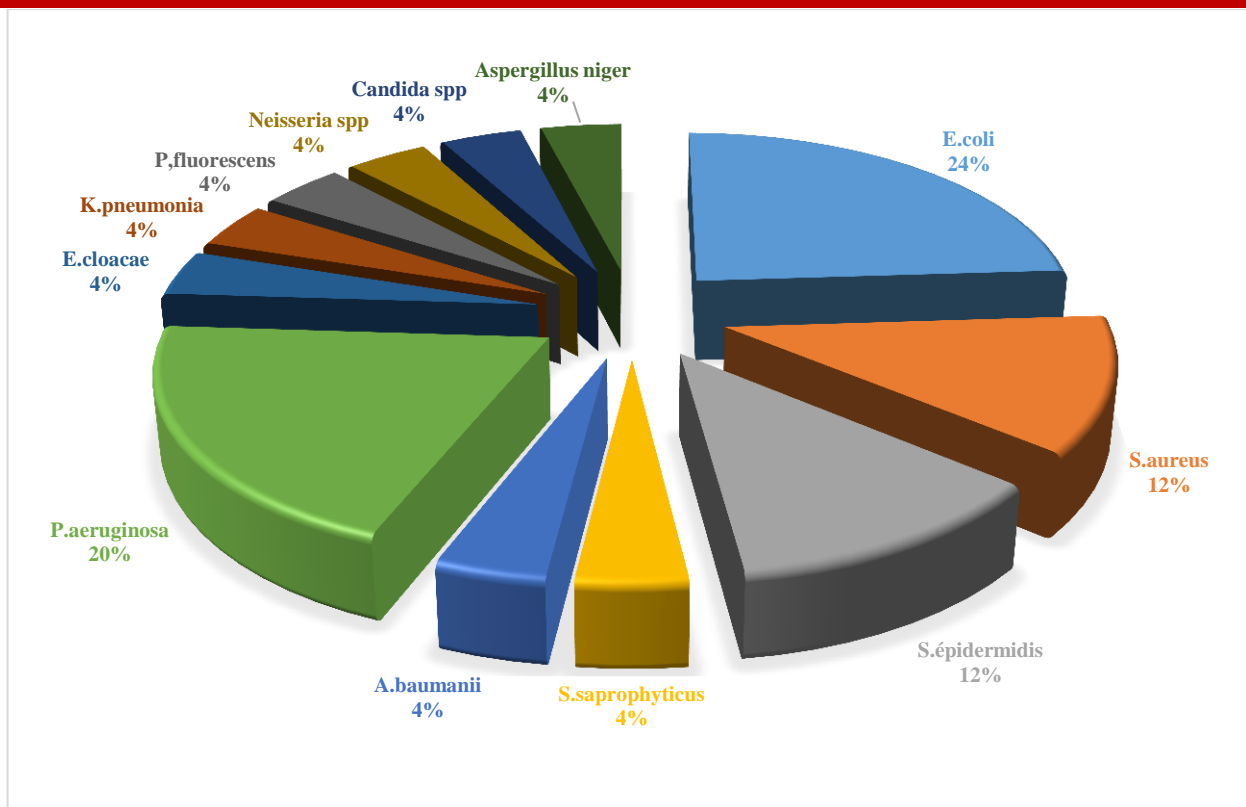


Figure : Pourcentage des espèces présentes

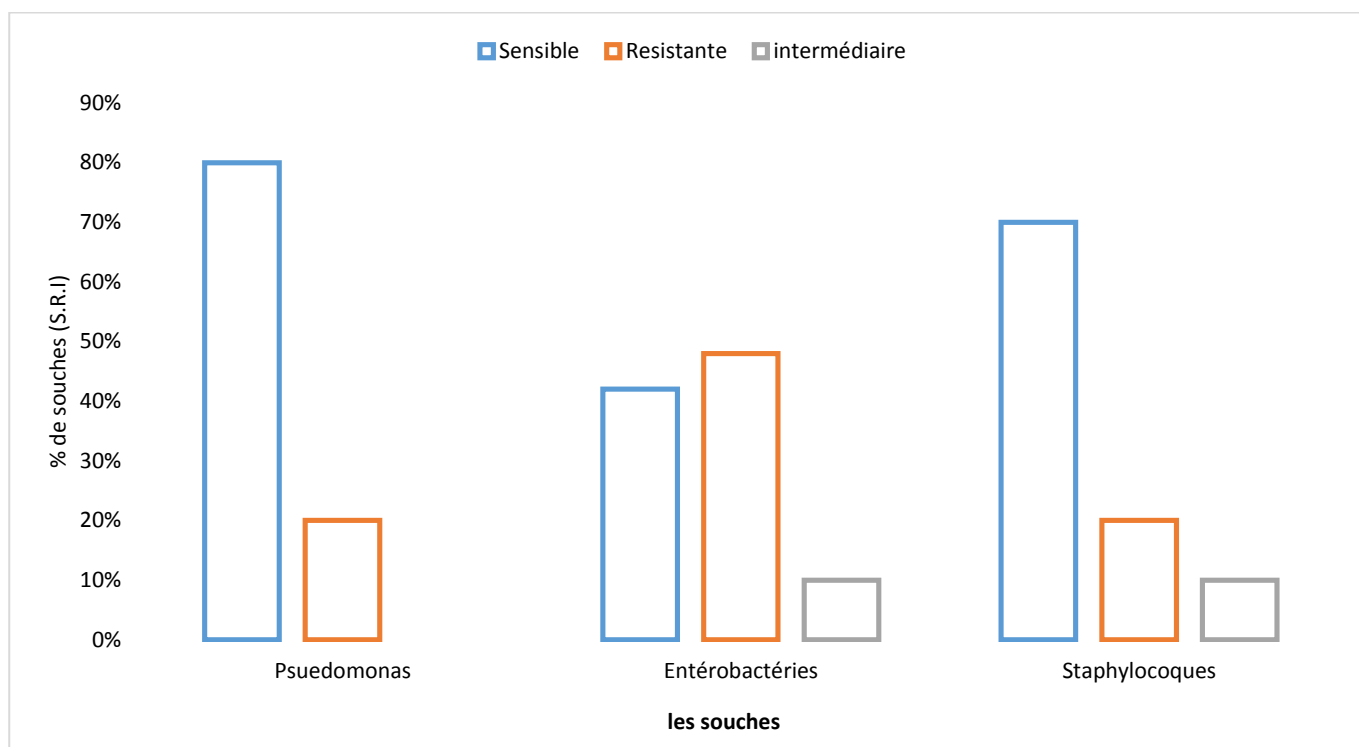
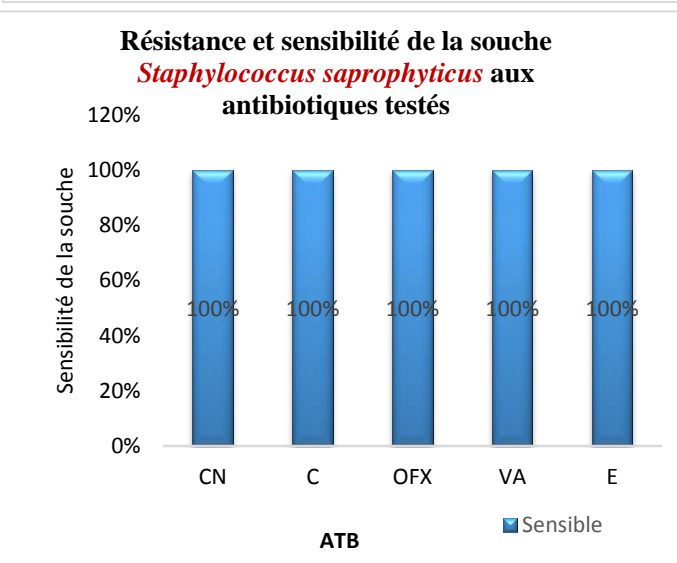
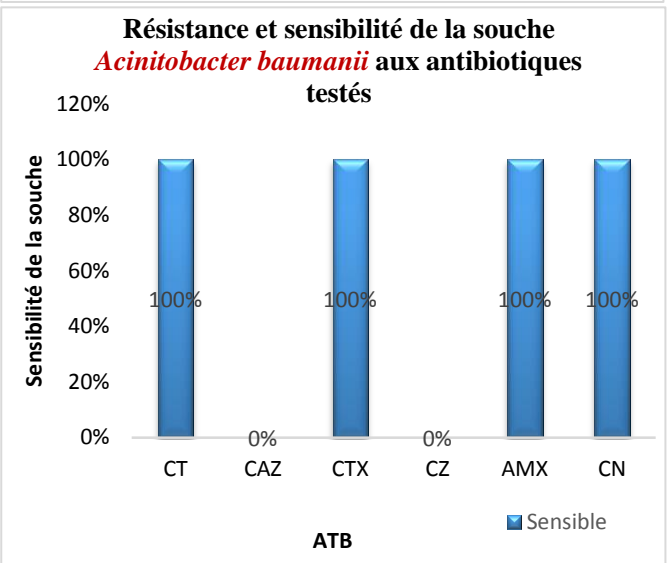
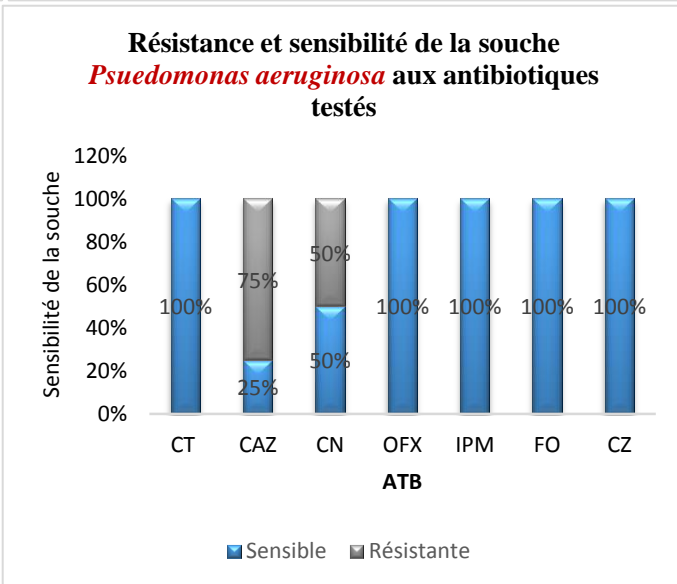
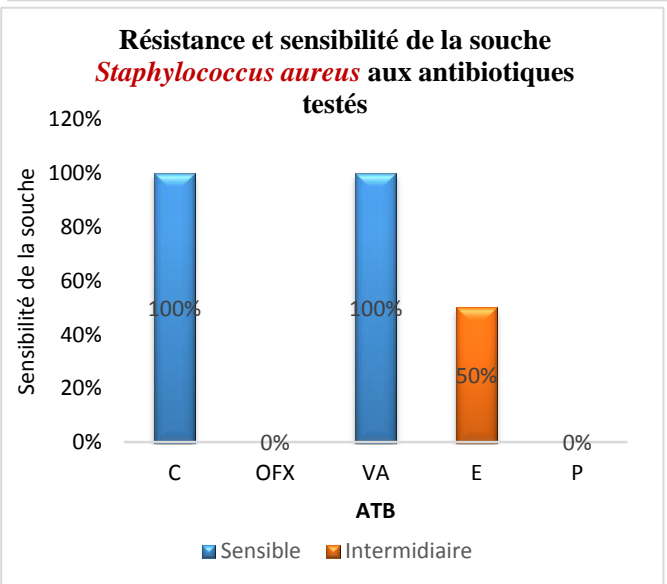
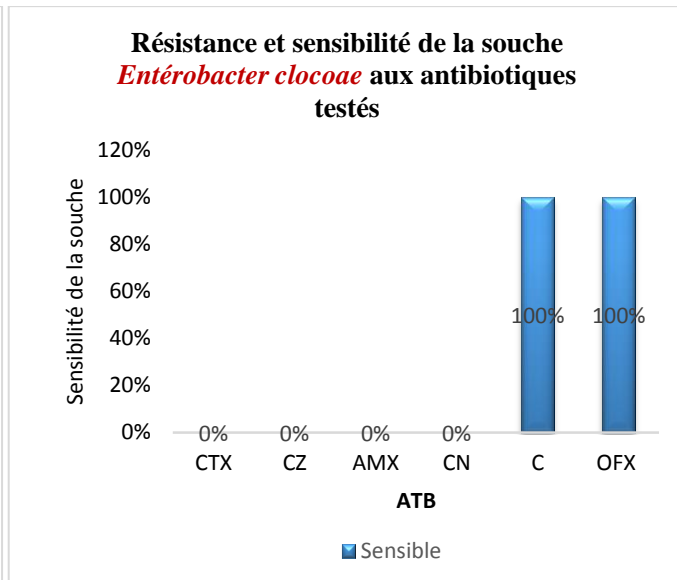
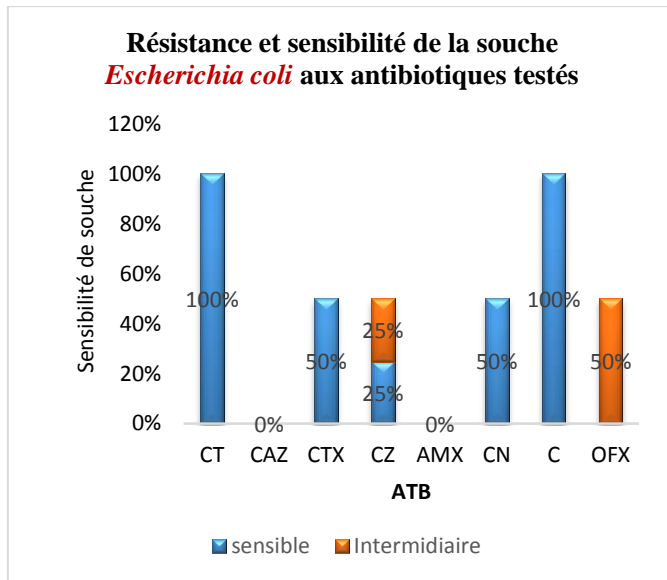


Figure : Resistance des souches étudiés aux antibiotiques testés

CHAPITRE 04 : RESULTATS ET DISCUSSION

Les histogrammes suivants présentent les résultats de la sensibilité et de la résistance des souches testées.



% = N° de souches sensibles au ATB (x) / (le Totale (Meme esp))

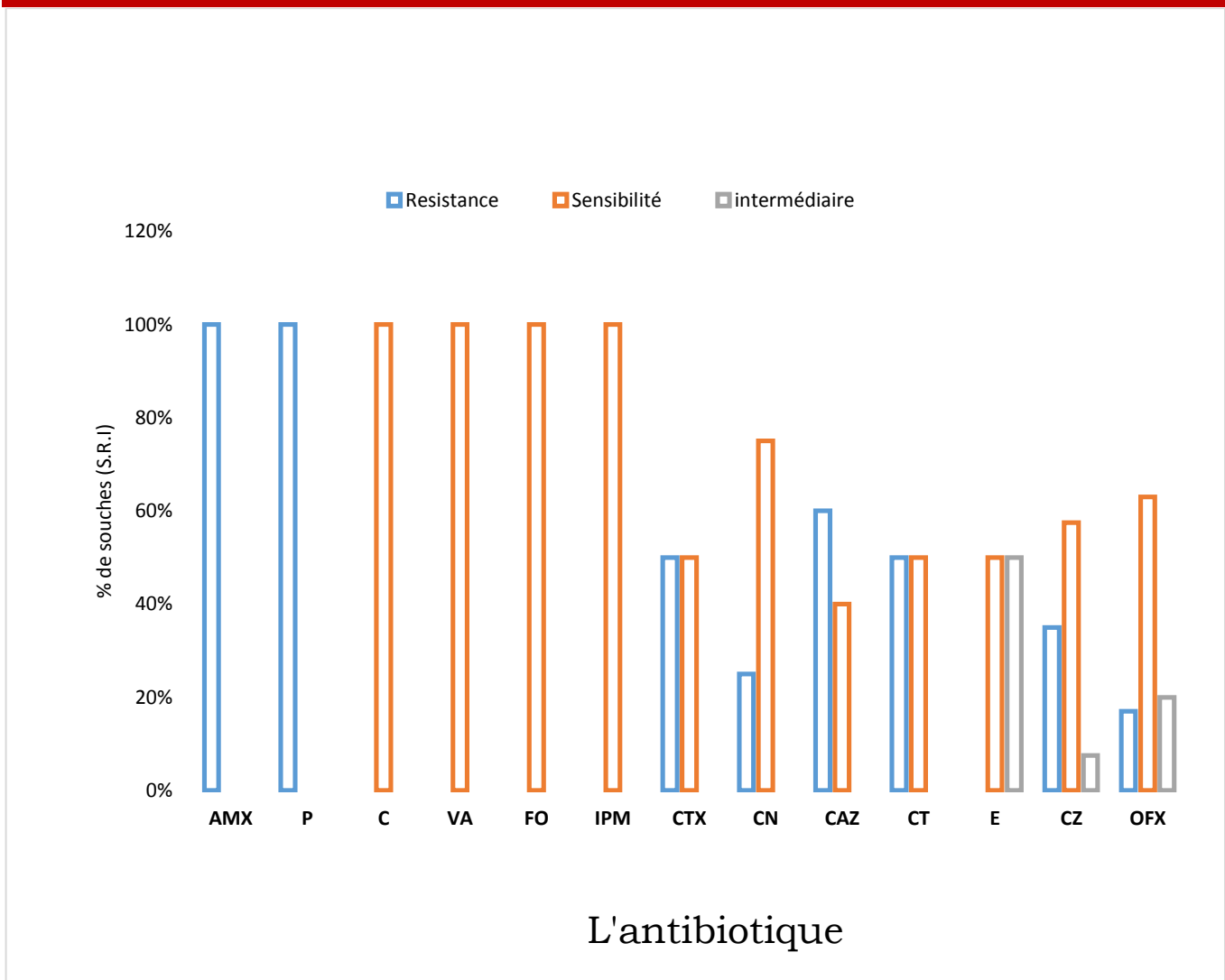


Figure : Resistance des souches aux antibiotiques testés

Discussion.

Notre étude a été pour le but d'isoler, identifier et évaluer la multi résistance des germes microbiens responsables des infections nosocomiales à partir de 14 prélèvements effectués sur des surfaces de sept services de l'hôpital Khaledi Abd Laziz - Tébessa.

A partir des résultats des différentes analyses que nous avons réalisées, nous avons trouvé que les prélèvements sont souvent poly-microbiens. D'une manière générale, nous avons isolés 12 espèces microbiennes (2 fongiques et 10 bactériennes) dont la majorité appartient à la famille des Enterobacteriaceae qui dominent avec un pourcentage de 26%. Elles sont suivies des Staphylocoques avec 25% puis *Pseudomonas aeruginosa* et *P. fluorescens* avec 17%. Enfin, une équivalence entre les souches fongiques (*Candida spp.* et *Aspergillus niger*) isolées et d'autres bactéries (*A. baumannii* et *Neisseria spp.*) de 16% pour chacune.

L'examen macroscopique de ces bactéries a montré de multiples formes et aspects des colonies qui ont poussés sur les différentes géloses utilisées pour l'isolement. La coloration de Gram a montré presque une égalité de nombre de présence des Gram négatifs et des Gram positifs et de multiples formes de cocci et de bacilles.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques testés sur 13 souches : *E. coli*, *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *Neisseria spp.*, *E. cloacae*... nous a montré et confirmé que parmi les espèces bactériennes isolées, certaines exhibent une multi résistance aux différents antibiotiques utilisés.

À l'issue de cette expérimentation, la variation des germes et leur distribution au niveau des services peut être expliqué par contamination directe ou indirecte par : le matériel non stérile, les déplacements du personnels et des visiteurs venant de l'extérieur entre les différents services sans aucun respect des règles de prévention. Les contaminations ont concerné presque la majorité des sites de prélèvements, aussi bien chez les patients que pour les différents matériels et instrument analysés.

À côté de la mortalité et la morbidité, comme une conséquence d'une infection nosocomiale on distingue aussi une augmentation de la durée de séjour hospitalier des patients, un surcout et une sélection des germes multi résistants. C'est la raison pour laquelle un certain nombre de recommandations à titre de prévention doivent être présent en considération par tout le monde (des responsables du nettoyage aux médecins traitants).

Dans les études réalisées dans les hôpitaux de la région méditerranéenne (**Amazian et al., 2010**). Il a été montré que 273 germes ont été identifiés. Quatre espèces bactériennes représentaient presque la moitié des germes isolés : *Escherichia coli* (17,2 %), *Staphylococcus aureus* (12,5 %), *Pseudomonas aeruginosa* (9,2 %) et *Klebsiella pneumoniae* (9,2 %). Ainsi, par rapport aux études les plus récentes, la fréquence et

la distribution des germes qu'on a isolé sont trouvés avec des taux moindres. Nos prélèvements sont dominés souvent par les bactéries appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. L'isolement de ces germes au niveau des services et dans les instruments et ustensiles de travail est synonyme d'un manque apparent d'hygiène au niveau de la structure hospitalière englobant aussi bien l'hygiène individuelle des patients que celle du personnel, donc l'hygiène collective et le non-respect des règles et des conditions d'asepsie rigoureuses.

Cette étude nous a permis de faire un premier état des lieux sur la situation des infections nosocomiales dans les différents services de cet hôpital. Elle a aussi permis de mieux comprendre et appréhender les spécificités de chaque service où il en ressort que le services de maternité et de pédiatrie constitue un service à haut risque et de ce fait, une nécessité d'établir des programmes de prévention adaptés aux caractéristiques épidémiologiques de cette spécialité). Une forte prescription d'antibiotiques nécessite souvent les normes de la bonne pratique tout en sachant que le risque zéro est universellement admis inexistant lors d'une hospitalisation mais ce risque doit néanmoins être réduit au maximum en prenant en considération les bonnes pratiques d'hygiène et de prévention.

A decorative red border with rounded corners and small circular accents at the top and bottom, resembling a scroll or a frame.

Conclusion et perspectives

CONCLUSION

Un des problèmes majeurs de santé publique est la multi-résistance des germes microbiens aux antibiotiques qu'est devenue une préoccupation mondiale. En effet, depuis ces dernières années, nous avons assisté à une augmentation fulgurante de la résistance aux antibiotiques dont leur utilisation en médecine humaine n'est pas encore irréprochable. Les tests de diagnostic rapide ne sont pas utilisés, les coopérations entre professionnels de santé restent anecdotiques. Cette mauvaise utilisation des antibiotiques engendre de lourdes conséquences en termes de santé publique et rend la situation loin d'être satisfaisante.

Les infections nosocomiales constituent depuis toujours un problème qui se répercute avec un grand risque pour le patient, pour le personnel hospitalier et pour les visiteurs à cause du manque du respect des modalités préliminaires d'hygiène. Face à cette situation, une prise de conscience est indispensable pour trouver les solutions à proposer et lutter contre la diffusion de la résistance aux antibiotiques tout en bloquant la transmission des infections hospitalières.

Dans notre étude réalisée au niveau de certains services de l'hôpital Khaledi Abd Laziz de la ville de Tébessa, on a pu isoler, identifier puis évaluer la multi-résistance des principales bactéries responsables des infections nosocomiales dans ce dernier. Les souches trouvées sont déjà citées par la littérature scientifique comme des germes responsables de ce type d'infection. Il a été clairement vu que les isolats étudiés montrent une résistance importante aux antibiotiques commercialisés testés mais ils ne s'expriment pas de la même manière.

Globalement, les souches bactériennes isolées et identifiées appartiennent aux familles des Enterobacteriaceae, des Pseudomonadaceae, des Staphylococcaceae, des Neisseriaceae et Moraxellaceae en plus des souches fongiques tels les Trichocomaceae et les Candidas. Les principales bactéries les plus fréquentes sont : *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* et *P. fluorescens*.

À la lumière des résultats obtenus, il faut être conscient de l'importance de ce sujet et il est impératif dans le but d'éradiquer ces infections d'essayer de les minimiser au maximum malgré qu'en pratique le risque zéro est inexistant par la mise en place d'un programme opérationnel de contrôle de l'hygiène hospitalière. Ceci nécessite aussi une surveillance attentive et la mise en œuvre d'une politique de consommation des antibiotiques aussi bien en dehors des hôpitaux qu'en milieu hospitalier.

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

Références Bibliographiques .

- 📖 ABOYA MOROH J-L. (2013). *Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de Morindamorindoides*. Agricultural sciences. Université de Bretagne occidentale, Brest. Université Félix Houphouët- Boigny, French, p30 ,34
- 📖 AVRIL J-L et *al.* (1992). *Bactériologie clinique*. 2eme édition. p 596.
- 📖 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. P 54.
- 📖 BOERLIN P et REID-SMITH R.J. (2008). *Antimicrobial resistance: its emergence and transmission*. Anim. Health Res. Rev. 2008, 9, P. 115-126.
- 📖 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, p187
- 📖 BOURAS N et BELARBI A-Y. (2016). *Etude de quelques germes responsables des infections nosocomiales au niveau des services de la maternité et de la médecine interne (CHU D'ORAN)*. 2016, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. p1, 4-5, 7
- 📖 BOUYAHYA, A et al. (2017). *Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries*. Phytothérapie. doi:10.1007/s10298-017-1118-z. p 2-3
- 📖 Breidenstein, E.B.M. de la Fuente-Núñez, HANCOCK C, R.E.W. (2011). *Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistance*. Trends in Microbiology. p 19(8), 419-426.
- 📖 DELARRAS C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*. Lavoisier. Editions TEC and DOC. 11, rue la voisier F-75008 Paris :2007 p463. ISBN : 978-2-714-30-0945-8 Pages: 102, 103, 105, 128, 129.
- 📖 CATTIOR V. (2004). *Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries*. Pathologie Biologie. 52 (10), 607–616. doi:10.1016/j.patbio.2004.09.001
- 📖 CHRINGEL. les milieux de culture en bactériologie (en ligne).bio303. p12.disponible sur «• <https://chringel.files.wordpress.com/-les-milieux-de-culture.pdf> »
- 📖 COURVALIN P. (2008). *LA RÉSISTANCE DES BACTÉRIES AUX ANTIBIOTIQUES : COMBINAISONS DE MÉCANISMES BICHIMIQUES ET GÉNÉTIQUES*. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, (1), 7. doi:10.4267/2042/47917, p 8-11
- 📖 YALA D et *al.* (2001). *RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES*, Médecine du Maghreb 2001. P 91, 13-14
- 📖 DROMER F. (1996). *Épidémiologie des infections fongiques nosocomiales*. Réanimation Urgences, 5(4), 3s–6s. doi:10.1016/s1164-6756(96)80168-x

- 📖 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
- 📖 ELIZABETH F. (2002). CDC definition for nosocomial infections, 1988 Am.J. Infect control. 1988. P 6, 40, 128.
- 📖 G.DUCEL. *Prévention des infection nosocomiale guide pratique* (en ligne). in J.Fabry. France . organisation mondiale de santé.WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12.p 71. [consulté le 28 /03/2020].
- 📖 GROSJEAN M & LACOSTE M. (1999). *Communication et intelligence collective: le travail à l'hôpital*. Presses Universitaires de France-PUF.
- 📖 GUIBERT J,GOLDSTEIN F-W et *al.* (1981). *Infection à entérobactérie EMC, Paris, Maladies infectieuses*. p 16, 80,105. 1981.
- 📖 HASKOURI S. (2002). *Résistance aux antibiotiques : mécanismes et évolution*. Thèse doctorat en pharmacie. Rabat : université mohammed V faculté de médecine et de pharmacie de rabat, 2002. p 104.
- 📖 HENRIET L. GUILLEMOT D. (2000). *Pharmaco-épidémiologie des résistances,consommation des antibiotiques*. Médecine et Maladies Infectieuses. 2000, vol 30. p 160-163.
- 📖 HOUNSA A. Kouadio L. (2010). De Mol P. *Automédication par les antibiotiques provenant des pharmacies privées de la ville d'Abidjan en Côte d'Ivoire*. Médecine et Maladies Infectieuses. 2010, Vol 40, Issue 6. p 333-340.
- 📖 KAYSER F et *al.* (2008). *Manuel de poche de microbiologie médicale*. 11^e édition Médecin – Sciences Flammarion, paris. p 66.
- 📖 LEON le MINOR et MICHEAL VERON. (1984). *Bactériologie médicale*, Flammarion médecine sciences paris-France. P 60-65, 120, 181-186, 187.
- 📖 LETTAU L-A. (1991). *Nosocomial Transmission and Infection Control Aspects of Parasitic and Ectoparasitic Diseases Part II*. Blood and Tissue Parasites. Infection Control and Hospital Epidemiology, 12(2), 111–121. doi:10.2307/30147055
- 📖 LOZNIEWSKI A. RABAUD C. (2010). *Résistance bactérienne aux antibiotiques*. CCLIN sud-est. Nancy, 2010.
- 📖 LUCIE MANGIN. (2016). *Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public*. 2016. université de LORREIN, p27.
- 📖 MACSAI M-S. & FONTES B-M. (2008). Cornea. Anterior Segment, 93–173. doi:10.1016/b978-0-323-04406-6.50009-4.
- 📖 MEHAMDIA N et MOUASSA S. (2014). *Mécanisme de résistance aux antibiotiques*. Université 8 mai –Guelma. p15-16, 41.
- 📖 MELODIE D et PASCALE C. (2019). *Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques*. , m/s n° 8-9, vol. 35, 613–615, doi : 10.1051/ medsci /2019117

- 📖 MUYLAERT A. MAINIL J-G. Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, 20 Boulevard de Colonster, bâtiment 43a, 4000 Liège. Manuscrit soumis le 09/07/2012 Ann. Méd. Vét., 2012, 156, pp 109-123, Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur (contagiosité)
- 📖 BERTHELOT P. (2007). *Prise en charge des infections nosocomiales virales*. Unité d'hygiène inter hospitalière, service des maladies infectieuses, CHU St-Etienne.
- 📖 REINERT P. (2011). *Infection Nosocomiale* (en ligne) ,13 SEPTEMBRE 2011,Pédiatre, Créteil, France.
- 📖 PIYUSH B. (2019). *Baco résicterial Adaptation to Co-resistance* ,p 191-210
- EL ABDANI S. (2016). *Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie*. Université MOHAMMED V-RABAT ;faculté de médecine et pharmacie – RABAT. p34
- 📖 SAMOU.. Fotso hamel said. *Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie « b » de l'hopital du point g*. (en ligne).Mali : Université du Mali, 2004/2005, p 106. [consulté le 20/03/2020].
- 📖 SERRAGUI S et *al.* (2013). *Résistance bactérienne : états des lieux au Maroc*. Maroc Médical. 2013, tome 35 n°3, pp. 199-205.
- 📖 ZIAI S. (2014). *La résistance bactérienne aux antibiotiques : apparition et stratégies de lutte*,2014, université de LUMOGES, faculté de pharmacie.
- 📖 Stover C et *al.* (2000). *Complete genome sequence of Pseudomonas aeruginosa PAO1*, an opportunistic pathogen. Nature. p 406, 959–964.
- 📖 TIMOTHY F et *al.* (2008). *Pseudomonas aeruginosa in Chronic Obstructive Pulmonary Disease* . american journal of respiratory and critical care medicine. P. 853-860.
- 📖 VINCENT A. (2008). *Infection associées aux soins définition, fréquences et facteurs de risque* (en ligne).Laprugne-GARCIA E, Saint genis laval.2008.CCLIN sud-est.CCLIN.octobre 2008, p5.disponible sur «http://cclin-sudest.chulyon.fr/Doc_Reco/guides/FCPRI/IAS/IAS_définitions.pdf » [consulté le 20/03/2017].
- 📖 VINCENT A et *al.* (2008). *Infection associées aux soins (définition, fréquence et facteurs de risque)*. p 2
- 📖 WEISS K. (2002). *la résistance bactérienne la nouvelle guerre froide*. Le médecin du québec, 2002, vol 37, n° 3, pp. 41-49.
- 📖 ZIANI S et MOUMEN S-I. (2019). faculté médecine université SAAD DAHLEB -Blida- ; *Évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie*. p 32-33, 35

Sites d'internet:

- ① [1]: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:11133:ed-1:v2:fr>
- ① [2]: https://www.humeau.com/media/blfa_files/TC_300-Nutritif-bouillon_FR_230215.pdf
- ① [3]: https://fsnv.univ-setif.dz/telecharger/EDT2017/TP_Microbiologie_2eAnnee_SNV.pdf.
Travaux pratiques de microbiologie générale- Université Sétif-
- ① [4]: https://www.humeau.com/media/blfa_files/TC_045-Cetrimide_FR_230215.pdf
fiche technique (18-04-2020)
- ① [5]: https://www.humeau.com/media/blfa_files/TC_180-Hektoen_FR_030315.pdf
fiche technique version 02.2010; indicia production
- ① [6]: <https://www.humeau.com/chromagar-orientation-rt412qsp-5l-57200049574.html>.
Laboratoire Humeau 14-04-2020
- ① [7]: <https://microbiologyinfo.com/sabouraud-dextrose-agar-sda-composition-principle-uses-preparation-and-colony-morphology/> ; téléchargé Aout 15, 2019 par Sagar Aryal
- ① [8]: http://www.imra-ratsimamanga.org/purification_souches.html
- ① [9]: http://stl.bgb.liberte.free.fr/microbio_fiches/gram1.pdf fiche technique n°5
- ① [10]: https://www.pro-lab.com/wp-content/uploads/2017/01/PL850products_Rabbit-Coagulase-Plasma_French.pdf
- ① [11]: https://www.mediray.co.nz/media/15781/om_biomerieux_test-kits_ot20050_package_insert-20050.pdf
- ① [12]: https://www.humeau.com/media/blfa_files/TC_290-Mueller-Hinton_gelose_FR_030315_1.pdf
- ① [13]: https://www.esst-inrs.fr/3rb/ressources/adp18_antibiogramme.pdf
- ① [14]: <http://www.sonodis.fr/p5297/disques-antibiotiques-pour-antibiogrammes>
- ① [15]: https://www.humeau.com/media/blfa_files/TC_305-Nutritive_gelose_FR_030315_4.pdf?fbclid=IwAR2yTs1YChJpvifrV6vcBJWwXWr-0Ds6aoc7SUp5ZwqEZpw1aURE_7fXGaM.



Annexes

Annexe I

Milieux de culture, réactifs et colorants.

➤ **Les milieux de culture** (Guiraud, 2003 ; Rodier *et al.*, 2005 ; Delarras, 2014).

1. Gélose au cétrimide (g/ litre d'eau distillée)

Peptone	20
Chlorure de sodium	3
Sulfate de potassium	10
Monohydrogénophosphate de potassium	0.3
Cétrimide (bromure de tétradonium)	0.2
Acide nalidixique	0.015
Agar-agar	12

pH = 7.1 / autoclavage 20 min à 121°C.

2. Chapman (g/ litre d'eau distillée)

Peptone trypsique de caséine	10
Extrait de viande	1
Chlorure de sodium	75
Mannitol	10
Rouge de phénol	0.025
Agar-agar	15

pH = 7.6 / autoclavage 20 min à 121°C.

3. Gélose Mueller-Hinton (g/ litre d'eau distillée)

Infusion de viande de bœuf	3.0
Peptone de caséine	17.0
Amidon de maïs	1.5
Agar-agar	17.0

pH= 6.7/ autoclavage 15 min à 121°C.

4. Gélose nutritive (G.N) (g/ litre d'eau distillée)

Peptone pepsique de viande	5
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2
Chlorure de sodium	5
Agar-agar	15

pH: 7.4±0.2/ autoclavage 15 min à 121°C. Pour les vibrions ajuster le pH à 8.

5. Bouillon Nutritif (g/ litre d'eau distillée)

Peptone	5.0
Extrait de viande	1.0
Extrait de levure	2.0
Chlorure de sodium	5.0

pH=7.4 ± 0.2 à 25 °C / autoclavage à 121° C pendant 15 min

6. Clark et Lubs (g/ litre d'eau distillée)

Peptone trypsique de caséine	5
Phosphate bi potassique	5
Glucose	5

pH = 7.5 /autoclavage 15 min à 121°C

7. Gélose sabouroud (g/ litre d'eau distillée)

Péptone	10g
Glucose	40g
Agar	15g

pH = 5.6 / autoclavage à 121° C pendant 15 min

8. Gélose Héктоen

Protéose-Peptone	12g
Extrait de levure	3g
Désoxycholate de sodium	9g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Salicine	2g
Bleu de bromothymol	65mg
Fuchsine acide	100mg
Thiosulfate de sodium	5g
Citrate ferrique ammoniacal	1.5g
Chlorure de sodium	5g
Agar	15g

pH = 7.5 / autoclavage à 121° C pendant 15 min.

9. Gélose au sang

Mélange de péptones	18g
Extrait de levure	5g
Amidon de maïs	1g
Chlorure de sodium	5g
Agar	10g

pH= 7.3/ autoclavage à 121° C pendant 15 min

➤ **Les réactifs et colorants** (Guiraud, 2003 ; Rodier *et al.*, 2005).

1. Violet de Gentiane

Violet de gentiane	1g
Ethanol à 90%	1ml
Phénol	2g
Eau distillée	100ml

2. Lugol

Iode	1g
Iodure de potassium	2g
Eau distillée	100ml

3. Fuschine

Fuchsine basique	1g
Alcool éthylique	100ml
Phéno	15g
Eau distillée	100ml

4. Réactif du rouge de méthyle

Rouge de méthyle	0.5 g
Alcool à 80°	100ml

5. **Réactif TDA** (pour la recherche de tryptophane désaminase)

Perchlorure de fer	3.4g
Eau distillée	100ml

6. **Réactif Kovacs** (pour la recherche de l'indole)

Paradiméthylaminobenzaldéhyde	5.0 g
Alcool isoamylique	75.0 ml
HCL 37%	25.0 ml

7. **Réactif VPI** (pour la recherche de l'acétoïne)

Hydroxyde de potassium	40g
Eau distillée	100ml

8. **Réactif VPII** (pour la recherche de l'acétoïne)

Alpha naphthol	6g
Ethanol	100ml

9. **Réactif NIT I** (pour la recherche du nitrate réductase)

Acide sulfamilique	0.8 g
Acide acétique 5N	100 ml

10. **Réactif NIT II** (pour la recherche du nitrate réductase)

Naphtylamine	0.5 g
Acide acétique 5N	100 ml

Annexe II : Tableaux de lecture des Galeries biochimiques .

Tableau de lecture de Galerie biochimique **API 20E**

Test	Groupement active	Réaction/enzyme	Résultats	
			Négative	Positive
ONPG	Ortho-nitro-phényle B-D Galactopyranoside	Beta-Galactosidase	incolore	Jaune
ADH	L-Arginine	Arginine dihydrolase	jaune	Rouge/orangé
LDC	L-Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
ODC	L-Orthine	Omithine décarboxylase	jaune	Rouge/orangé
CIT	TriSodium citrate	Utilisation de citrate	vert	Bleu-vert/orangé
H2S	Thiosulfate de sodium	Production de H2S	incolore	Noire
URE	Urée	Urease	jaune	Rouge - orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	jaune	Marron
IND	Tryptophane	Production d'indole	incolore	Rose
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	VP1+VP2	
			incolore	Rose/rouge
GEL	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase	Pas de diffusion de pigments noirs	Diffusion de pigments noirs
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune /jaune-gris
MAN	D-Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
SOR	D-Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
RHA	L-Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
SAC	D-Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
MEL	D-Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
Réduction de nitrate (GLU tube)	Potassium Nitrate	Production de NO2	Nit1+Nit2 , 2-3 min	
			Jaune	Rouge
		Réduction au N2	Zn / 5 min	
			Orange /rouge	Jaune
OF-O	Glucose	Oxydation de Glucose	Vert	Jaune
OF-F	Glucose	Fermentation de glucose sous l'huile	Vert	Jaune

Tableau de lecture de Galerie biochimique API 20NE

Tests	Substrat	Enzymes/Réaction	Résultats	
			Négative	Positif
NO3	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	Nit 1+Nit 2 / 5min	
			Incolore	Rose/Rouge
		Réduction des nitrates en azote	Zn/5mn	
			Incolor	Rose
TRP	tryptophane	Formation d'indole	TRP / 3-5mn	
			Incolore	Rose/Rouge
GLU	Glucose	Fermentation	Bleu à vert	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/ rose/ rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge
ESC	Esculine	Hydrolyse(β-glucosidase)	Jaune	Gris/marron/noir
GEL	Gélatine	Hydrolyse(protéase)	Pas de diffusion du pigmen	Diffusion du pigment noir
PNPG	p-Nitro-phényle-βD-Ggalactopyranoside	B-galactosidase	incolor	Jaune
GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	Arabinose			
MNE	Mannose			
MAN	Mannitol			
NAG	N-acétyl-glucosamine			
MAL	Maltose			
GNT	Potassium Gluconate			
CAP	Acide Caprique			
ADI	Acide Adipique			
MLT	Acide Malique			
CIT	Trisodium Citrate			
PAC	Phényl-acétate			
OX	Tetraméthyl-p-phenyléne diamine	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet

Annexe III

Les tables des valeurs critiques des diamètres de zone d'inhibition/CMI

Table de lecture (1)

Valeurs critiques des diamètres de zone d'inhibition/CMI pour *Entérobactéries*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)			CMI critique (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline	10µg	≤13	14-16	≥17	≥32	16	≤8
Amoxicilline+ Ac.clavulanique	20/10µg	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/4
Céfazoline	30µg	≤19	20-22	≥23	≥8	4	≤2
Céfalotine	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8
Céfoxitine	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8
Céfotaxime	30µg	≤22	23-25	≥26	≥4	2	≤1
Céftriaxone	30µg	≤19	20-22	≥23	≥4	2	≤1
Imipénème/Méropénème	10µg	≤18	20-22	≥23	≥4	2	≤1
Ertapénème	10µg	≤14	19-21	≥22	≥2	1	≤0.5
Amikacine	30µg	≤12	15-16	≥17	≥64	32	≤16
Gentamicine	10µg	≤13	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Acide nalidixique	30µg	≤16	14-18	≥19	≥32	≤16
Ciprofloxacine	6µg	≤16	16-20	≥21	≥4	2	≤1
	6µg	≤20	21-30	≥31	≥1	0.12-0.5	≤0.06
Chloramphénicol	30µg	≤12	13-17	≥18	≥32	16	≤8
Colistine	----	----	----	----	----	----	----
Furanes	300µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32
Fosfomycine	200µg	≤12	13-15	≥16	≥256	128	≤64
Triméthoprim +sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	----	≤2/38

Antibiotiques testé	Charge des disques	Diamètre critique (mm)			CMI critique ($\mu\text{g} / \text{ml}$)		
		R	I	S	R	I	S
Pénicilline	10 UI	≤ 28	---	≥ 29	0.25	---	≤ 0.12
Oxacilline (<i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i>)	----	----	----	----	4	----	≤ 2
Céfoxitine (<i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i>)	30 μg	≤ 21	----	≥ 22	8	----	≤ 4
Oxacilline (S.C.N.sauf <i>S.lugdunensis</i>)	-----	----	----	----	0.5		≤ 0.25
Gentamicine	10 μg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Kanamycine	30 μg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 64	32	≤ 16
Amikacine	30 μg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Erythromycine	15 μg	≤ 13	14-22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0.5
Clindamycine	2 μg	≤ 14	15-20	≥ 21	≥ 4	1-2	≤ 0.5
Céfoxitine (S.C.N.sauf <i>S.lugdunensis</i>)	30 μg	≤ 24	----	≥ 25	----	----	---

☰ **Table de lecture (2)**

Valeurs critiques des diamètres de zone d'inhibition/CMI pour *Staphylococcus spp*

☰ **Table de lecture (3)**

Valeurs critiques des diamètres de zone d'inhibition/CMI pour *Acinetobacter spp*

Antibiotiques Testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)			CMI critique ($\mu\text{g} / \text{ml}$)		
		R	I	S	R	I	S
Ticarcilline	75 μg	≤ 14	15-19	≥ 20	≥ 128	32-64	≤ 16
Ticarcilline+ac.clavulanique	75/10 μg	≤ 14	15-19	≥ 20	$\geq 128/2$	32/2-64/2	$\leq 16/2$
Pipéracilline	100 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 128	32-64	≤ 16
Céftazidime	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Imipénème	10 μg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4
Amikacine	$\mu 30\text{g}$	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	$\mu\text{g} 10$	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Tobramycine	$\mu\text{g} 10$	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Nétilmicine	CMI	≥ 32	16	≤ 8
Ciprofloxacine	5 μg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Lévofloxacine	5 μg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
Doxycycline	30 μg	≤ 9	10-12	≥ 13	≥ 16	8	≤ 4
Triméthprime+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75 μg	≤ 10	11-15	≥ 16	$\geq 4/76$	$\leq 2/38$
Colistine	≥ 2		≤ 2

Rifampicine	30µg	≤14	14-18	≥19	≥16	16-8	≤4
-------------	------	-----	-------	-----	-----	------	----

☰ **Table de lecture (4)**

Valeurs critiques des diamètres de zone d'inhibition/CMI pour *Psuedomonas aeruginosa*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critiques (mm)			CMI critique (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ticarciline	75µg	≤15	16-23	≥24	≥128	32-64	≤16
ticarciline+ac.clavulanique	75/10	≤15	16-23	≥24	≥128/2	32/2-64/2	≤16/2
Pipéracilline	100	≤14	15-20	≥21	≥128	32-64	≤16
Céftazidime	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8
Aztréonam	30µg	≤15	16-21	≥22	≥32	16	≤8
Imipénème	10µg	≤15	16-18	≥19	≥8	4	≤2
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17	≥64	32	≤16
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Nétilmicine	30µg	≤12	13-14	≥15	≥32	16	≤8
Tobramycine	10µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16-20	≥21	≥4	2	≤1
Lévofloxacine	5µg	≤13	14-16	≥17	≥8	4	≤2
Fosfomycine	50µg+50µg G6P	≤14	≥14	≥32	...	≤32
Rifampicine	30µg	≤14	14-18	≥19	≥16	16-8	≤4
Colistine	10µg	≤10	≥11	≥8	4	≤2

Résumé :

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. L'émergence de cette résistance est un phénomène naturel, mais qui est accéléré par le mauvais usage et la prescription inappropriée des antibiotiques chez l'homme et l'animal. Les principales bactéries isolées en pathologie humaine : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii* et *Klebsiella pneumoniae*. Ces bactéries additionnent les résistances à diverses familles d'antibiotiques et deviennent ainsi des multi-résistants (résistance acquise) aux antibiotiques utilisés, alors que le milieu hospitalier est un réservoir des germes potentiellement pathogènes pour l'homme et responsable des infections nosocomiales qui représente un risque pour la santé publique incitant à prévenir les infections nosocomiales chez les patients. Il est indispensable d'observer les " bonnes " pratiques d'hygiène : lavage des mains, utilisation d'un antiseptique moussant puis d'un antiseptique dermique pour la réfection d'un pansement, désinfection du matériel (endoscope), hygiène et entretien de l'environnement (sol).

Mots clés : Résistance aux antibiotique – Infection nosocomiale – bactéries multi-résistantes – Entérobactéries.

Abstract :

Bacterial resistance to antibiotics emerged quickly after their introduction into the treatment of infectious diseases. The emergence of this resistance is a natural phenomenon, but is accelerated by the misuse and inappropriate prescription of antibiotics in humans and animals. the main bacteria isolated in human pathology: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*; *P.fluerosces*; *Enterobacoeae* ; *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*. These bacteria add resistance to various families of antibiotics and thus become multi-resistant (acquired) to the antibiotics used, while the hospital environment is a reservoir of germs potentially pathogenic to humans and responsible for nosocomial infections that pose a public health risk to prevent nosocomial infections in patients, it is essential to observe "good" hygiene practices: hand washing, use of a foaming antiseptic and a dermal antiseptic for dressing repair, disinfection of equipment (endoscope), hygiene and environmental maintenance (soil).

Keywords : (Antibiotic resistance - nosocomial infection - multi-resistant bacteria - Enterobacteriaceae.)

ملخص:

نشأت المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية بعد إدخالها في معالجة الأمراض المعدية. ويمثل ظهور هذه المقاومة ظاهرة طبيعية وإن كان ذلك يتسارع بسبب سوء استخدام المضادات الحيوية ووصفها غير الملائمة بين البشر والحيوان. البكتيريا النائية الكبرى في علم الأمراض البشرية : الزائفة الزنجارية , الزائفة المتألقة , المكورة العنقودية الذهبية , الاشريكية القولونية , كليبسيلا , الراكدة البومانية و الأمعائية المدرقية ... وهذه البكتيريا تجمع بين مقاومة مختلف الأسر من المضادات الحيوية مما يجعل منها مضادات حيوية متعددة (مكتسبة) في المضادات الحيوية المستخدمة في المستشفى وهي مستودع للجراثيم التي يحتمل أن تكون مسببة للأمراض للإنسان ومسؤولة عن الأمراض المعدية الشائعة التي تهدد الصحة العامة والتي تحول دون الإصابة بالعدوى غير الصحية بين المرضى. ومن الضروري أن ندرس الممارسات السليمة في مجال النظافة الصحية: غسل اليدين باستخدام مضادات رغوي ثم مطهرات جلدية للتحصين قبل اجراء الضماد تعقيم المنظار الداخلي (الغدد الصخرية) وحفظ الصحة البيئية (المحيط الاستشفائي).

الكلمات المفتاحية: مقاومة المضادات الحيوية - عدوى المستشفيات - بكتيريا متعددة المقاومة - بكتيريا المعوية)