

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE



Mémoire de fin d'étude

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master en
Sciences de la nature et de la vie

Option: Microbiologie

Réalisé au sein de laboratoire centrale du Centre des Grands Brulés (CGB) de l'Hôpital
Central de l'Armée (HCA) Mohamed Seghir Nekkache-Kouba

Master domicilié au laboratoire de biotechnologie, environnement et santé, Blida

Thème

Diagnostic bactériologique des
infections chez les brûlés

Soutenu le 09/07/2019.

Par

DJEBBAR KENZA, GRERIFA ZINEB et TAHIR AFIFA

DEVANT LE MEMBRE JURY:

Mme HAMAIDI F.	M.C.A à l'USDB 1	Présidente.
Mme AIT SAADI N.	M.A.A à l'USDB 1	Examinatrice.
Mme MEKLAT A.	M.C.A à l'USDB 1	Promotrice.
Mr ABDOUNI M. A.	M.A à l'H.C.A	Co-promoteur

Année universitaire 2018-2019

Remercîment

Tout d'abord nous remercions le Dieu pour toute puissance, santé, volonté, le courage, qui nous a donné cette année pour élaborer ce travail et accomplir cette formation.

Aucun travail ne s'accomplit que dans la solidarité.

On tient en premier lieu à remercier notre co-promoteur Docteur ABDOUNI AMINE pour la qualité de son encadrement, son énergie incroyable et son engagement constant jusqu'à la fin, sa patience, ses précieux conseils et surtout ses qualités humaines. C'est un exemple à suivre ce fut un réel plaisir de travailler sous sa guidance.

On tient aussi à remercier notre Promotrice Mme MEKLAT ATIKA qui n'a pas hésiter à transmettre son savoir, on la remercie pour son indéfectible soutien scientifique, on tient à lui signifié toute notre gratitude pour l'orientation qu'elle a insufflée à notre recherche au moment de notre projet de fin d'étude ainsi que pendant tous notre cursus universitaire.

A Mme HAMAIDI F, pour l'honneur qu'elle nous a fait pour présider ce jury.

A Mme AIT SAADI d'avoir accepté de juger le travail présent en faisant partie du membre du jury.

Nos vif remerciements vont à Professeur MATREF MERZEK, le Chef service de Centre des Grand Brulés à Ain Naadja pour sa gentillesse à notre égard.

Notre profonde reconnaissance à toute l'équipe du CGB qui nous a apporté son aide, encouragé et familiarisés à eux.

On adresse aussi notre gratitude au membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'évaluer ce modeste travail, qu'ils soient assuré de notre profond respect et de toutes notre reconnaissances .

Un énorme merci pour tous ceux qui ont de loin ou de près contribué à la réalisation de ce modeste travail.

Merci à tous, merci infiniment

Dédicace

Je voudrais dédier ce modeste travail En guise de reconnaissance et d'amour à tous ceux qui ont participé à sa réalisation en particulier:

*Aux deux personnes qui me sont les plus chères au monde **mes parents** que dieu me les gardes sans eux ce mémoire n'aurait pas été soutenu ; mes parents qui m'ont entourée de leur amour qui m'ont beaucoup aidé et qui n'ont pas cessé de m'encourager.*

Je leur offre ce travail comme fruit de toutes mes années d'études.

À Mes grandes mères et mon grand-père.

À mes chers frères et sœurs RAOUF, ZINOUE, LAMIA et NINA

À mes oncles et mes tantes.

Mes cousins et cousines : MALCO, YUCEF, FATEH, ZOHIR, YOUNESS, SID ALI, AYOUB, ABDOU, SIHEM, MAROUA, RAYANE, YASMINE, FERIEL et ZINEB.

À toute ma grande famille.

À mes amis et mes chères copines : DADI, OUSSAMA, AHMED, NASSIM, AKRAM, KHIRO, ALI, AFIFA, ZINEB, KAMILIA, INES, ZINEB, KENZA, RANIA, HOUDA, MANEL, KHADIDJA et KAOUTHER.

À mes professeurs et ma promo 2018-2019

Au lecteur de ce mémoire, qu'il lui soit d'une aide précieuse.

Kenza

Dédicace

*Je dédie ce mémoire à **mes parents***

Ma mère qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie, merci pour l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A mes sœurs Karima, Amina, Fatima et Sihem qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

A mes frères Mohamed et Ahmed

A mon fiancé Hamza, j'aimerais que tu trouves dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car grâce à ton aide et à ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour. Que dieu le tout puissant nous accorde un avenir meilleur.

A mes adorables neveux, que j'aime plus que tous

A mes chères trinômes «Grerifa Zineb» et «Djebbar Kenza» pour tous les moments qu'on a enduré ensemble

A tous les membres de ma famille et ma belle-famille, petite et grande

Dans l'impossibilité de citer tous les noms, mes sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin ont permis par leurs conseils et leurs soutiens la réalisation de ce mémoire.

AFIFA

Dédicace

Du fond de mon cœur, j'ai le plaisir de dédier ce modeste travail qui est le fruit de toutes mes années, à toutes les personnes qui m'aiment, qui croient en moi et me donnent des raisons d'arriver à mes buts.

A mes chers parents

Qui m'ont éclairée le chemin de la vie par leurs grands soutiens, leurs encouragements, par leurs dévouements exemplaires et les énormes sacrifices qu'ils m'ont consentis durant mes études et toujours aimé me voir réussir, je les remercie pour tout ce qu'ils m'ont fait.

Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A mes chères sœurs Amina, Asma, Serine, Sarah.

Les mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon amour et mon affection. Merci d'être toujours à mes côtés je prie Dieu, le tout puissant, pour qu'il vous donne bonheur et prospérité.

A mon chère frère Younes

Merci pour ta présence ton amour dévoué et ta tendresse, je te souhaite une vie pleine de réussite et de bonheur.

A tous mes oncles mes tantes mes cousins et cousines.

Pour leur patience, leur soutien et leur encouragement.

Un grand merci à mes adorables amies : Afifa, kenza, Hanane, Chaima.

Merci à tous ceux qui m'ont aidé de près et de loin.

ZINEB

Résumé

Notre travail concerne l'isolement et l'identification des bactéries responsables d'infections chez les patients brûlés de l'Hôpital Central de l'Armée (HCA) (Alger) et la détermination du profil de résistance des souches isolées vis-à-vis les antibiotiques recommandés dans le traitement de ces infections.

Ce travail porte sur 132 prélèvements positifs provenant de 19 patients brûlés hospitalisés obtenus durant une période de trois mois (du 7 février au 10 mai 2019) dont on a remarqué une prédominance des prélèvements cutanés avec 95,45%, suivis des hémocultures (3,03%), prélèvement bronchiques distal protégé et cathéter (0,75%) et aucun ECBU positif n'a été enregistré.

Sur les 132 prélèvements positifs, 182 souches bactériennes ont été isolées. Les bactéries les plus incriminées dans les infections chez les patients brûlés hospitalisés au niveau de l'HCA sont *Pseudomonas aeruginosa* qui occupe la 1^{ère} place (29,12%), suivis de *Staphylococcus aureus* (19,78%), *Klebsiella pneumoniae* (14,84%), *Proteus mirabilis* (12,63%) et *Enterobacter cloacae* (11,53%). D'autres espèces bactériennes ont été isolées mais avec des fréquences moins importantes à savoir *Acinetobacter baumannii* (3,84%), *Stenotrophomonas maltophilia* (3,29%), *Proteus vulgaris* (2,20%), *Escherichia coli* (1,65%) et *Enterococcus faecalis* (1,1%).

Plusieurs bactéries résistantes sont apparues comme la principale cause d'infection invasive chez les patients brûlés, notamment, toutes les souches de *S. aureus* étaient résistantes à la méticilline (100%). Pour *P. aeruginosa* une résistance totale a été signalée vis-à-vis l'imipénème et le cotrimoxazol (100%), ainsi qu'une forte résistance aux céftazidime (96%) et gentamicine (81%).

Mots clés : brûlure, bactéries, infection, antibiorésistance.

Abstract

Our work concerns the isolation and the identification of bacteria responsible for infections in burned patients at the Army Central Hospital (HCA) (Algiers) and the determination of the resistance profile of the isolated strains toward the antibiotics recommended in the treatment of these infections. This work concerns 132 obtained positive samples from 19 hospitalized burn patients during a period of three months (from February 7th to May 10th, 2019), with a 95.45% predominance of cutaneous samples, followed by blood cultures (3.03%), protected distal lung sampling and catheter (0.75%) and no positive CBEU was recorded.

Out of the 132 positive samples, 182 bacterial strains were isolated. The most incriminated bacteria in infections for hospitalized patients in HCA are *Pseudomonas aeruginosa*, which occupies the 1st place (29.12%), followed by *Staphylococcus aureus* (19.78%), *Klebsiella pneumoniae* (14.84%), *Proteus mirabilis* (12.63%) and *Enterobacter cloacae* (11.53%). Other bacterial species were isolated but with lower frequencies namely *Acinetobacter baumannii* (3.84%), *Stenotrophomonas maltophilia* (3.29%), *Proteus vulgaris* (2.20%), *Escherichia coli* (1.65%) and *Enterococcus faecalis* (1.1%).

Several resistant bacteria emerged as the leading cause of invasive infection in burn patients, including all *S. aureus* strains were resistant to methicillin 100%. *P. aeruginosa* were resistant for imipenem and cotrimoxazol (100%), as well as a strong resistance to ceftazidime (96%) and gentamicin (81%).

Keywords: burn, bacteria, infection, antibiotic resistance

عملنا يتعلق بعزل و تحديد البكتيريا المسؤولة عن الالتهابات عند مرضى الحروق في المستشفى المركزي للجيش (م.م.ج) (العاصمة) و تقييم حساسية السلالات المعزولة للمضادات الحيوية الموصى بها لعلاج هذه الالتهابات.

هذا العمل يتعلق بـ 132 عينة ايجابية تم الحصول عليها من 19 مريض محروق في المستشفى خلال فترة ثلاثة أشهر (من 7 فيفري إلى 10 ماي 2019) منهم 95.45 % كانت سائدة في العينات الجلدية، تليها فحص بكتيريا الدم (3.03 %)، و العينات الرئوية في الأطراف المحمية و القسطرة (0.75%) و لم نسجل أي عينة ايجابية للتحليل البكتيري للبول.

من بين 132 عينة ايجابية، تم عزل 182 سلالة بكتيرية. أكثر أنواع البكتيريا التي تم عزلها في حالات العدوى لدى مرضى الحروق الذين دخلوا المستشفى المركزي للجيش (م.م.ج) هي *Pseudomonas aeruginosa* التي تحتل المرتبة الأولى (29.12%)، تليها *Staphylococcus aureus* (19.78%)، *Klebsiella pneumoniae* (14.84%)، *Proteus mirabilis* (12.63%) و *Enterobacter cloacae* (11.53%). أنواع أخرى من البكتيريا تم عزلها و لكن بنسب منخفضة وهي على التوالي: *Acintobacter baumannii* (3.84%) *Stenotrophomonas maltophilia* (3.29%)، *Proteus vulgaris* (2.20%)، *Escherichia coli* (1.65%) و *Enterococcus faecalis* (1.1%).

ظهرت العديد من البكتيريا المقاومة كسبب رئيسي للعدوى عند مرضى الحروق، بما في ذلك كانت جميع سلالات *S. aureus* مقاومة للميتيسيلين (100 %). بالنسبة ل *P. aeruginosa*، تم الإبلاغ عن مقاومة إجمالية تجاه الإيميبينام و الكوتريموكسازول، بالإضافة إلى مقاومة قوية للسيفتازيديم (96%) و الجنتاميسين (81%).

الكلمات المفتاحية : حروق-بكتيريا-عدوى-مقاومة المضادات الحيوية.

Liste des tableaux

Tableau 1: Flore cutanée résidente et transitaire.....	7
Tableau 2: Règle des 9 de wallace.....	10
Tableau 3: table de LUND et BROWDER pour l'évaluation de la surface cutanée en fonction de l'âge.....	10
Tableau 4: table de BERKOW.....	11
Tableau 5: les différents caractères biochimiques des quelques entérobactéries.....	13
Tableau 6: Quelques caractères biochimiques d' <i>Acinetobacterbaumannii</i>	14
Tableau 7: Caractères biochimiques <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
Tableau 8: Critères biochimiques de <i>staphylococcus aureus</i>	15
Tableau 9: Mode d'action des antibiotiques.....	17
Tableau 10: Répartition des patients brûlés selon l'agent causal de la brûlure.....	40
Tableau 11: La SCB des patients prélevés en fonction de l'âge.....	41
Tableau 12: Taux des patients suspects d'infection.....	42
Tableau 13: Phénotype de résistance des bactéries isolées aux antibiotiques (SARM).....	54

Liste des figures

Figure 1: Structure générale de la peau.....	3
Figure 2: Différents stades de la brûlure.....	9
Figure 3 (a) et (b): Mécanismes d'action des agents antibactériens et de la résistance antibactérienne.....	21
Figure 4: Etapes et tests d'orientation.....	30
Figure 5: les étapes d'ensemencement des galeries.....	37
Figure 6: Répartition des patients brûlés en fonction des tranches d'âge.....	39
Figure 7: Répartition des patients brûlés selon les degrés de brûlure.....	40
Figure 8: Répartition globale des prélèvements réalisés chez les patients.....	43
Figure 9: Répartition des résultats positifs selon le type des prélèvements réalisés.....	43
Figure 10: Répartition des souches isolées dans les prélèvements cutanés.....	45
Figure 11: la répartition des résultats positifs selon le type de prélèvement.....	46
Figure 12: Périodes d'isolement des souches.....	46
Figure 13: Périodes d'isolements des bactéries chez les brûlés.....	47
Figure 14: Profil de résistance globale des entérobactéries aux antibiotiques (a,b,c,d,e).....	49
Figure 15: Profil de résistance de <i>P.aeruginosa</i> aux différents antibiotiques.....	51
Figure 16: Résistance d' <i>Acinetobacterbaumanniiaux</i> aux antibiotiques.....	52
Figure 17: Résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques.....	53
Figure 18: Les BMR du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacterbaumannii</i>	54

Liste des abréviations

µl :	Microlitre
µm:	Micromètre
ABA:	American Burn Association
ADH:	Arginine Di-Hydrolase
ADN:	Acide DésoxyriboNucléique
AmpC:	Adénosine Mono Phosphate Cyclique
AMY:	Amygdaline
ARA:	Arabinose
ARN:	Acide Ribo Nucléique
ARNt:	AcideRiboNucléique de Transfer
ARNm:	Acide Ribo Nucléique messenger
AST:	Antibiogram Sensibility Test
ATCC :	American Type Culture Collection
BGN :	Bacilles à Gram Négatif
BL :	Bêta Lactamase
BLSE :	Bêta Lactamase à Spectre Elargi
BMR :	Bactérie Multi Résistante
BN :	Bouillon Nutritif
°C :	Celsius
CGB :	Centre des Grands Brûlés
CGP :	Cocci à Gram Positif
CIT:	Citrate de simmons
CLSI:	Clinical & Laboratory Standards Institute
CMI:	Concentration Minimale Inhibitrice
CRP:	C – ReactiveProtein
CHN :	Céphalosoprinase à Haut Niveau
ECBU :	Examen CytoBactériologique des Urines
EDTA:	Éthylène Diamine Tétra Acétique
EF- G :	Facteur d'Elongation G
FMP :	Flore Microbienne Polymorphe
g :	Gramme
G:	Grossissement

Liste des abréviations

GEL:	Gelatine
GLU :	Glucose
GN:	Gélose Nutritive
GR:	Globule Rouge
GSC:	Gélose au Sang Cuit
HCA:	Hôpital Central d'Armée
HEK :	Hecktoen
HLA :	Human Leukocyte Antigen (les antigènes des leucocytes humains)
ID:	Identification
IND :	Indole
INO :	Inositol
Kg:	Kilo Gramme
KT :	Cathéter
LAC:	Lactose
LDC:	Lysine Dé-Carboxylase
M O :	Microscope Optique
MBL:	Métalo-Bêta Lactamase
MEL :	Melibiose
ml :	millilitre
MLS :	Macrolide-Lincosamide-Streptogramin
MLSB:	Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B
mm³ :	millimètre Cube
NR :	Nitrate Réductase
Man :	Mannitol
Mur A:	Pyruvyltransférase
ODC:	Ornithine Dé-Carboxylase
ONPG:	Ortho-Nitro-Phenyl- β Galctosidase
ORL :	Oto-Rinho-Laryngologiste
PDP :	Prélèvement Distal Protégé
PLP :	Protéine Liant la Pénicilline
PLP2a :	Protéine Liant la Pénicilline 2a
PNN:	Poly Nucléaire Neutrophile

Liste des abréviations

- ✚ **RHA :** Rhamnose
- ✚ **SAC :** Saccharose
- ✚ **SARM :** *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline
- ✚ **SASM :** *Staphylococcus aureus* Sensible à la Méricilline
- ✚ **SCB:** Surface Corporelle Brulée
- ✚ **SOR :** Sorbitol
- ✚ **T CD4+ :** Lymphocyte T Cluster de Différenciation 4
- ✚ **TDA:** Tryptophan Desaminase
- ✚ **UFC:** Unit Forming Colony
- ✚ **URE:** Urée
- ✚ **UV:** Ultras Violet
- ✚ **VP:** Vosges- Proskaw
- ✚ **Xyl :** Xylose

Sommaire

Table des matières

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

Introduction.....	1
I. La peau.....	3
1. Définition et structure de la peau	3
1.1. Epiderme	3
1.2. Derme	5
1.3. Hypoderme	5
2. Mécanisme de défense de la peau.....	5
3. Flore cutané de la peau.....	6
II. Brûlure et brulé	7
1. Définition de la brûlure	7
2. Les types de la brûlure	7
2.1. Brûlures thermiques	7
2.2. Brûlures électriques	7
2.3. Brûlures chimiques	8
2.4. Brûlures par radiation	8
3. Classification de la brûlure	8
3.1. Brûlure du 1 ^{er} degré	8
3.2.1. Brûlure du 2eme degré superficielle.....	8
3.2.2. Brûlure du 2eme degré profond.....	8
3.3. Brûlure du 3eme degré	9
4. Evaluation de la surface corporelle brûlée (SCB)	9
4.1. Règle des neuf de WALLACE	9
4.2. Table de LUND et BROWDER	10
4.3. Règle de BERKOW	10
III. Infections chez les brûlés.....	11
1. Physiopathologie de la brûlure	11
2. Les principaux germes responsables d'infection chez les brûlés	12
2.1. Bactéries à Gram négatif	12
2.1.1. Enterobactériaceae.....	12
2.1.2. <i>Acinetobacter baumannii</i>	13
2.1.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14

Sommaire

2.2. Cocci Gram Positif	15
2.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
IV. Antibiotiques et Antibiorésistances	16
1. Antibiotiques	16
2. Mode d'action des antibiotiques	16
3. Antibiorésistances	19
3.1. Définitions de la résistance	19
3.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques	19
3.2.1. Mécanismes biochimiques	19
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	
I. Matériels et méthodes	22
1. Matériels.....	22
1.1. Matériels biologiques.....	22
1.2. Matériels non biologique.....	23
2. Méthodes	23
2.1. Prélèvements bactériologiques	23
2.2. Conduite à tenir au laboratoire devant les différents prélèvements	23
3. Les techniques d'identification bactériologique	28
3.1. Méthodes convetionnelles	28
3.2. Méthodes automatisées	34
Chapitre 3 : Résultats et discussions	
I. Etude démographique	38
1. Répartition des patients brûlés selon le sex-ratio	38
2. Répartition des patients brûlés en fonction des tranches d'âge.....	38
3. Répartition des patients brûlés selon l'agent causal de la brulure	39
4. Répartition des patients brûlés selon le degré de la brûlure.....	40
5. Répartition de la surface corporelle brûlée SCB% des patients prélevés en fonction des tranches d'âge	41
6. Taux des patients suspects d'infection	42
II. Statistique de l'infection bactérienne chez les patients brûlés.....	42
1. Répartition des prélèvements.....	42
2. Répartition des résultats positifs selon le type des prélèvements réalisés.....	43
3. Répartition des souches isolées selon le type des prélèvements	44
4. Répartition des résultats positifs selon le type de bactérie.....	45
5. Périodes d'isolements des bactéries chez les brûlés infectés à partir de l'accident.....	46
6. Profil de résistance globale des entérobactéries aux antibiotiques.....	48

Sommaire

7. Profil de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques.....	51
8. Profil de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux antibiotiques.....	51
9. Profil de résistance de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> aux antibiotiques.....	52
10. Profil de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques.....	52
11. Phénotype de résistance des bactéries isolées aux antibiotiques (<i>Staphylococcus aureus</i> méticillino-résistant (SARM)).....	53
12. Les BMR du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter baumannii</i>	54
Conclusion	55
Conclusion	56
Références bibliographiques	
Annexe	

Introduction

L'augmentation de la résistance aux antibiotiques des germes impliqués dans les infections nosocomiales aggrave le pronostic des brûlés et constitue un énorme problème thérapeutique. La connaissance de l'écologie bactérienne et de la résistance aux antibiotiques des principales bactéries isolées chez ces patients optimise le choix de l'antibiothérapie et améliore les stratégies préventives (**Thabet et al., 2013**). Des traitements d'antibiotiques prolongés, souvent associés, permettent de sélectionner des souches nosocomiales multirésistantes appartenant principalement à trois espèces bactériennes: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (**Leseva et al., 2013**).

La peau est l'organe multifonctionnel le plus grand du corps, contenant de nombreuses cellules spécialisées qui sont adaptées à différentes fonctions. Cette structure complexe de la peau humaine et ses propriétés physicochimiques la transforme en une barrière de défense externe, efficace contre les facteurs exogènes et aident à maintenir l'homéostasie du corps humain (**Magdalena et al., 2015; Powell, 2006**).

La peau brûlée, par la présence des protéines dénaturées, constitue un terrain idéal pour la prolifération bactérienne (**Verrienti et al., 2018**). La perte de la barrière cutanée, les dispositifs invasifs et l'immunodépression liée à la brûlure sont trois mécanismes concourant à la survenue des infections bactériennes (**Tilouch et al., 2017; Floch et al., 2015**).

La brûlure se définit comme la destruction du revêtement cutané, parfois même des structures sous-jacentes, par un agent thermique, chimique, électrique ou par des radiations ionisantes (**Ibnouzahir et al., 2011**).

La cause la plus fréquente de morbidité et de mortalité du patient brûlé est de nos jours, l'infection bactérienne (**Verrienti et al., 2018**). On pense que la plupart des infections sont d'origine nosocomiale; dans lequel mains et vêtements du personnel médical ont été impliqués dans de nombreux cas ; la surpopulation dans les centres des brûlés a également été identifiée comme un facteur d'infection croisée (**Singh et al., 2003**). Ainsi, le brûlé est une cible importante d'infections nosocomiales secondaires suite à la perte cutanée, à la ventilation assistée, à la pose de cathéters et de sondes urinaires (**Marty, 2000**).

Beaucoup d'infections sont cutanées ou à porte d'entrée cutanée. Si les bactéries de surface sont détruites au moment de la brûlure, celles situées en profondeur sont au moins en partie respectées. La brûlure, stérile dans les premières heures, est donc rapidement colonisée,

Introduction

initialement (dans les 48 h) par des bactéries cutanées (cocci à Gram positif essentiellement) puis (fin de la première semaine) par des bactéries pouvant être d'origine digestive, ORL ou environnementales ainsi que par des champignons. Ces bactéries se logent préférentiellement à la jonction zone brûlée/zone saine, où elles trouvent un environnement humide, chaud et riche en protéines propice à leur développement, alors que la faible vascularisation leur permet d'échapper au système immunitaire et aux antibiotiques. Toutefois, cette colonisation participe largement à la détersion de la zone brûlée et peut être respectée si elle est contrôlée par les pansements répétés avec nettoyage et utilisation de topiques antibactériens (**Floch *et al.*, 2015**). Les conséquences de l'infection bactérienne chez les brûlés sont généralement une septicémie et suivie des atteintes multiviscérales (**Marty, 2000**).

Le diagnostic bactériologique de l'infection bactérienne chez le brûlé pose un énorme problème au laboratoire pour les microbiologistes.

Les objectifs de notre étude réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie, Centre des brûlés de l'Hôpital Central de l'Armée (HCA), Mohamed Seghir Nekkache, Kouba, ALGER sont:

- L'identification des espèces bactériennes isolées des différents prélèvements réalisés chez les patients brûlés hospitalisés.
- L'étude de la sensibilité des bactéries isolées aux différents antibiotiques, afin d'entamer une antibiothérapie ciblée pour mieux traiter les brûlés infectés.

I. La peau

1. Définition et structure de la peau

La peau, appelée aussi tégument (du latin tegumentum, couverture), est l'organe le plus lourd et le plus étendu de l'organisme, pesant 4 kg et représentant une surface de 2 m² environ. L'épaisseur de la peau est de 2 mm en moyenne, mais elle varie de 1 mm au niveau des paupières (peau fine) à 4 mm au niveau des paumes et des plantes (peau épaisse) (Mélissopoulos et Levacher., 2012).

La peau consiste en une couche superficielle (épiderme) qui adhère étroitement à la couche plus profonde (derme) par la membrane basale. Le tissu conjonctif lâche et la graisse sont à la base du derme (hypoderme) (Figure 1) (Powell, 2006).

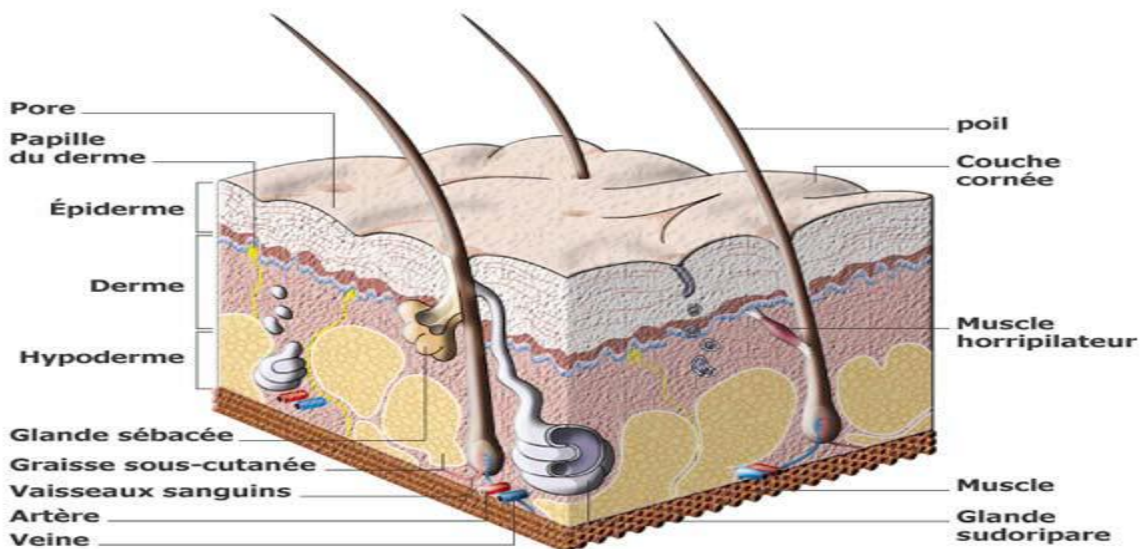


Figure 1 : Structure générale de la peau (Caudane, 2009).

1.1. Epiderme

Les kératinocytes sont dominants au niveau de (90 à 95%). Cette couche renferme également d'autres cellules qui sont les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merkel (Démarchez, 2015).

L'épiderme désigne le tissu de nature épithéliale qui recouvre le derme. Les kératinocytes sont des cellules extrêmement dynamiques qui subissent une prolifération et une différenciation permanente aux termes desquelles elles se transforment en cellules mortes (cornéocytes), s'éliminant régulièrement par desquamation. L'épiderme n'est irrigué par aucun vaisseau sanguin ; les cellules qui le composent sont alimentées par diffusion depuis le derme. Il contient

par contre de nombreuses terminaisons nerveuses libres, nous permettant d'avoir une perception tactile et douloureuse. Au sein de l'épiderme, quatre couches sont à distinguer : **(Gohin, 2011)**.

- La couche cornée est la couche la plus superficielle de l'épiderme qui lui-même est la région la plus superficielle de la peau. Elle est constituée de cornéocytes, cellules « mortes » qui néanmoins jouent un rôle essentiel de barrière entre le monde extérieur et l'organisme **(Prot-squarcioni, 2007)**.
- la couche granuleuse = stratum granulosum (1 à 3 couches de cellules) : elle est constituée de cellules granuleuses aplaties qui contiennent des grains de kératohyaline et des granules lamellaires **(Démarchez, 2015)**.
- La couche de Malpighi ou couche des cellules à épines (*Stratum spinosum*) contient des kératinocytes. Cette couche contient des tonofilaments, précurseurs de la kératine, des mélanocytes (cellules produisant de la mélanine responsable de la pigmentation cutanée), des terminaisons nerveuses mais aussi des cellules de Langerhans (macrophages qui phagocytent les impuretés et sont impliqués dans les dermatites de contact et les phénomènes inflammatoires) **(Gohin, 2011)**.
- La couche basale (*Stratum germinativum*) où les kératinocytes forment une seule assise de cellules, tenues entre elles par des desmosomes. C'est dans cette couche dite aussi couche germinative, que les cellules se divisent, l'une des deux (cellule souche) reste dans la couche basale tandis que l'autre migrera dans les couches supra-basales. Comme pour tout épithélium, la couche basale repose sur une lame basale où s'ancrent des fibres de réticuline sur le versant chorionique **(Gohin, 2011)**.

1.2. Derme

Le derme se situe entre l'épiderme et le tissu sous-cutané et il est responsable de la variation régionale de l'épaisseur de la peau. Il est composé principalement de collagène, mais contient également l'élastine, les vaisseaux sanguins, les nerfs et les glandes sudoripares. Le type de cellules dermique primaire est le fibroblaste, il produit du collagène, de l'élastine et d'autres protéines. Le derme est divisé en deux parties le derme papillaire et derme réticulaire. Le derme papillaire est situé sous la jonction dermo-épidermique et contient un mélange lâche de fibrocytes, collagène et vaisseaux sanguins. En dessous se trouve le derme réticulaire beaucoup plus épais. Il contient moins de fibrocytes mais une collection plus dense de collagène **(William et Losquadro, 2017)**.

1.3. Hypoderme

L'hypoderme est la couche la plus profonde de la peau. Il est constitué de tissus adipeux qui ont pour fonction d'emmagasiner l'énergie sous forme de graisse. Environ la moitié de tout le gras emmagasiné dans le corps humain est retrouvé dans cette couche. L'hypoderme joue le rôle de thermorégulation et de protection contre les agressions mécaniques (**Georgel, 2008**). Les cellules qui constituent l'hypoderme s'appellent les adipocytes, ce sont des cellules rondes remplies d'acides gras et de triglycérides comprimant le noyau contre la membrane plasmique (**Darfaoui, 2018**).

Les adipocytes sont organisés en lobules primaires et secondaires. Cette couche contient aussi des fibroblastes et des macrophages, en plus de vaisseaux sanguins et des terminaisons nerveuses. Ces dernières sont aussi appelées corpuscules lamellaires et sont sensibles à la pression (**Darfaoui, 2018**).

2. Mécanisme de défense de la peau

Le rôle principal de l'épiderme (epi = dessus) peut se résumer à un rôle de protection du corps. Le derme quant à lui a un rôle « nourricier » au travers de nombreux vaisseaux sanguins qui le constituent et qui permettent la diffusion des nutriments vers l'épiderme (**Simon, 2009**).

Ces différentes structures permettent à la peau d'assumer de nombreuses fonctions dont elle possède trois types de barrières de protection (**Goetz, 2016**).

- **Une barrière physique**

 - Fonction de régulation thermique**

 - La peau participe à la régulation de la température corporelle par son pouvoir isolant. La sudation et la dilatation ou la contraction de ses vaisseaux en fonction de la température extérieure aident à maintenir une température corporelle constante (**Hung-Viet, 2007**).

 - Barrière de protection du milieu extérieur**

 - La peau est une barrière physique qui protège les tissus et les organes des agressions extérieures. Elle évite également les pertes de fluides corporels. La peau protège aussi l'organisme des traumatismes mécaniques, des toxines chimiques et des agents infectieux (**Dréno, 2009**). C'est organe sensoriel pour le toucher, la chaleur, le froid et sensations émotionnelles (**Gilaberte et al., 2016**).

- **Une barrière biologique**

 - La peau est un organe immunitaire à part entière. Les cellules de Langerhans sont des cellules présentatrices d'antigènes qui, de ce fait, sont susceptibles d'activer les lymphocytes

T. Après avoir capturé des antigènes dans l'épiderme, les cellules de Langerhans migrent à travers l'épiderme et le derme vers le système lymphatique de voisinage, où elles prennent le nom de cellules dendritiques et présentent l'antigène au lymphocyte T CD4+ qui se retrouve ainsi activé. Elles sécrètent par ailleurs plusieurs types de cytokines qui interviennent dans la modulation de l'environnement. Les kératinocytes sont aussi des cellules capables d'exprimer les antigènes HLA de classe II, et ainsi de présenter des antigènes extérieurs aux lymphocytes T et d'induire leur activation. De plus, les kératinocytes produisent de nombreuses cytokines et notamment des cytokines pro-inflammatoires qui interviennent dans la réaction inflammatoire cutanée (**Dréno, 2009**).

- **Une barrière chimique**

La barrière chimique repose sur les sécrétions des cellules de la peau. La mélanine produite par les mélanocytes protège les cellules vivantes de la peau contre les UV (**Laborel, 2015**) ainsi que la synthèse de substance essentielles à l'organisme tel que la vitamine D par les kératinocytes (**Dréno, 2009**). Le pH acide des sécrétions de la peau et les substances contenues dans le sébum et la sueur retardent la multiplication de certaines bactéries (**Laborel, 2015**).

3. Flore cutanée de la peau

La peau d'un adulte héberge en moyenne 1000 milliards de bactéries, et 1000 espèces de champignons, virus et arthropodes. Ce microbiote vit sur la surface et dans les couches superficielles de l'épiderme pour réaliser ainsi un écosystème complexe (**Goetz, 2016**).

Résident ou transitaire, le microbiote de la peau varie de manière quantitative et qualitative d'une personne à l'autre selon l'âge, le sexe, le siège, le système immunitaire et certains facteurs physicochimiques tels que l'humidité, le pH et la température (**Goetz, 2016**). Le tableau 1 représente la flore cutanée transitoire et résidente.

Tableau 1 : Flore cutanée résidente et transitoire (Mokni et abdelhak, 2014)

Flore résidente	Cocci Gram positif	Staphylocoques à coagulase négative
	Germes corynébactériformes	Corynebactéries
	Bacilles Gram négatif	Microcoques <i>Acinetobacter</i>
Flore transitoire	Cocci Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptocoques</i>
	Bacilles Gram négatif	<i>Pseudomonas</i>

II. Brûlure et brûlé

1. Définition de la brûlure

La brûlure est une destruction partielle ou totale de la peau et des tissus sous-jacents sous l'effet d'un agent vulnérant (gaz, eau et fluides bouillants, la flamme, les explosions, le courant électrique et les produits chimiques) (Essayagh, 2013). Elle représente la forme de traumatisme la plus répandue et la plus grave et reste un problème de santé publique majeur et une cause importante de mortalité dans le monde. En raison de la perte des barrières de protection et par conséquent d'une réduction des défenses cellulaires et humorales, la colonisation microbienne et le risque d'infection chez les patients hospitalisés pour des brûlures sont très élevés (OhadianMoghadam, 2014).

2. Les types de la brûlure : il existe quatre types de brûlure

2.1. Brûlures thermiques

Les brûlures thermiques sont les brûlures les plus fréquentes causées par le contact de la peau avec un agent chaud solide ou liquide dont la température dépasse les 60° C pendant un temps d'exposition de plusieurs secondes. Les agents solides entraînent des lésions limitées et profondes, alors que les agents liquides entraînent des lésions étendues dont la profondeur dépend du point d'ébullition et de la viscosité du liquide concerné (Essayagh, 2013).

2.2. Brûlures électriques

Les brûlures électriques correspondent à une destruction cutanée causée par un courant électrique et en constituent la conséquence la plus habituelle. Elles peuvent être soit des brûlures

secondaires à l'étincelle électrique appelée «flash», soit dues au passage du courant électrique entre un point d'entrée et un point de sortie. (**Bakkali, 2009**).

Les brûlures électriques présentent peu de lésions cutanées cliniquement apparentes mais se caractérisent par des lésions profondes sévères menaçant le pronostic vital (**Safara, Bargesb 2015**).

2.3. Brûlures chimiques

Les brûlures chimiques sont rares. Elles sont dues à l'action caustique d'un acide, base, produit organique ou anorganique qui va générer différents types de réactions chimiques en entrant en contact avec la peau (oxydation, réduction, corrosion, dessiccation...etc.) (**Levy et al., 2018**).

2.4. Brûlures par radiation

Elles surviennent lorsqu'il y a une exposition aux rayons ultraviolets (p.ex.: coup de soleil) ou un contact avec des produits radioactifs (p.ex.: radiothérapie) (**Adjeneg et al., 2017**).

3. Classification de la brûlure

3.1. Brûlure du 1^{er} degré

Correspond à l'atteinte de la couche cornée de l'épiderme sans atteinte de couche basale et de la couche de Malpighi. La guérison est rapide et spontanée après une desquamation (exemple : coup de soleil) (Figure 3) (**Fraissinet, 2012**).

3.2. Brûlure du 2^{ème} degré

3.2.1. Brûlure du 2^{ème} degré superficiel

Elle entraîne une destruction de l'épiderme, mais respecte la couche basale de Malpighi, cliniquement elle se manifeste par la présence des phlyctènes très extensives, peau de couleur rouge ou rose, très douloureuse (Figure 3) (**Safara, 2015;Bargesb, 2015**).

3.2.2. Brûlure du 2^{ème} degré profond

C'est une effraction partielle de la couche basale de Malpighi et une partie du derme. Elle est caractérisée par la présence de phlyctènes limitées, les lésions sont rouges suintantes et

saignantes, la douleur est plus importante. La guérison se fait plus lentement avec des cicatrices de mauvaise qualité (Figure 3) (Benrahal, 2012).

3.3. Brûlure du 3^{ème} degré

La totalité de l'épiderme et du derme est détruite, pouvant aller jusqu'à la carbonisation. Les tissus cutanés ont un aspect de carton, peau de plusieurs couleurs : blanche brune voire noire, absence de douleur ni de saignements. Une greffe est nécessaire (Figure 2) (Adjeneget al., 2017).

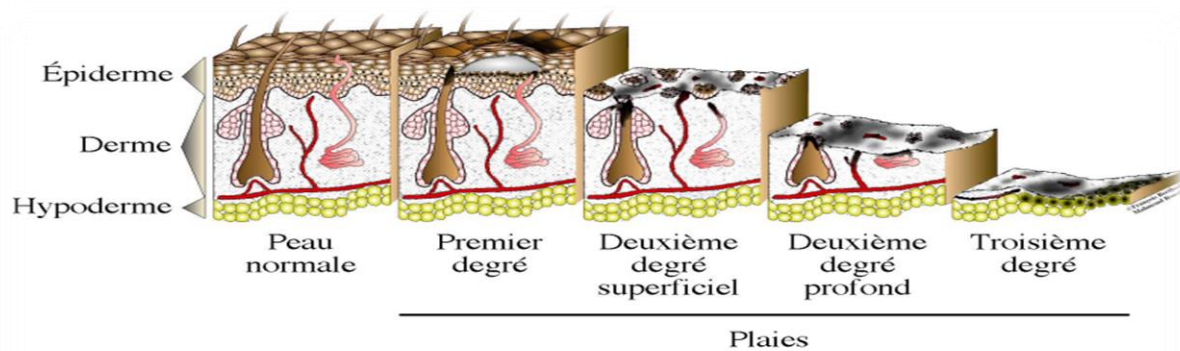


Figure 2: Différents stades de la brûlure (Adjeneget al., 2017)

4. Evaluation de la surface corporelle brûlée (SCB)

4.1. Règle des neuf de WALLACE

Permet une estimation rapide mais approximative de la surface brûlée. Cette règle n'est applicable que pour les adultes. (Fraissinet, 2012)

Tableau 2: Règle des 9 de wallace (Ameur, 2017)

Partie corporelle	Surface atteinte
1 tête	9%
1 Membre supérieur	9%
1 Tronc antérieur	18%
1 Tronc postérieur	18%
1 Membre inferieur	18%
Les organes génitaux externes	1%

4.2. Table de LUND et BROWDER

Précise et adaptée à l'âge du patient, car elle tient compte des variations morphologiques avec l'âge (**Benrahal, 2012**) (Tableau 3).

Tableau 3: Table de LUND et BROWDER pour l'évaluation de la surface cutanée en fonction de l'âge (**Kolanek, 2011**).

	naissance	1 an	5 ans	10 ans	15 ans	Adulte
Tête	19	17	13	11	9	7
Cou	2	2	2	2	2	2
Tronc (antérieure)	13	13	13	13	13	13
Tronc (postérieur)	13	13	13	13	13	13
Bras	8	8	8	8	8	8
Avant-bras	6	6	6	6	6	6
Mains	5	5	5	5	5	5
Fesses	5	5	5	5	5	5
Organes génitaux	1	1	1	1	1	1
Cuisses	11	13	16	17	18	19
Jambes	10	10	11	12	13	14
Pieds	7	7	7	7	7	7

4.3. Règle de BERKOW

Complexe mais plus adaptée permettant une cartographie précise des lésions à l'admission en centre de brûlé (**Benrahal, 2012**) (Tableau 4).

Tableau 4 : Table de BERKOW (Benrahal, 2012)

	adulte	15 ans	10 ans	5 ans	1 an	Naissance
Tête	3,5	4,5	5,5	6,5	8,5	9,5
Cou	1	1	1	1	1	1
Tronc	13	13	13	13	13	13
Bras	2	2	2	2	2	2
Avant-bras	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Main	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25
Organes génitaux	1	1	1	1	1	1
Fesse	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Cuisses	4,75	4,5	4,25	4	3,25	2,75
Jambe	3,5	3,25	3	2,75	2,5	2,5
Pied	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75

Dans tous les cas on considère que la surface d'une paume de la main représente 1% de la surface corporelle et ce quel que soit l'âge (Benrahal, 2012).

III. Infections chez les brûlés

1. Physiopathologie de la brûlure

Une réaction inflammatoire se produit en fonction de l'étendue et de la profondeur des lésions et elle se généralise. Deux phases peuvent être distinguées :

L'une aigue qui dure 48 heures (pro-inflammatoire), caractérisée par une hypovolémie, entraînant des réactions systémiques aiguës, appelées collectivement choc de brûlure. Il est admis que tout patient brûlé avec une surface qui dépasse 20% de la surface corporelle présente un choc hypovolémique (Fraissinet, 2012). Le choc de brûlure est caractérisé par une augmentation de la perméabilité capillaire, une augmentation de la pression hydrostatique dans le système microvasculaire, des mouvements de protéines et de fluides de l'espace intravasculaire vers l'interstitiel, une résistance vasculaire systémique accrue, une diminution du débit cardiaque et une hypovolémie nécessitant une réanimation liquidienne (un remplissage vasculaire) ce choc résultant de dysfonctionnements macro et microcirculatoire. L'œdème qui se forme dans l'espace interstitiel se forme rapidement dans les 8 premières heures suivant une brûlure et continue à se former plus lentement pendant au moins 18 heures (Rowan *et al.*, 2015; Cantais *et al.*, 2007; Barges *et al.*, 2009).

L'autre secondaire, dominée par les perturbations hydroelectrlytiques et métaboliques retardant la cicatrisation de la brûlure. De plus, une susceptibilité accrue à l'infection due à un statut immunitaire altéré peut entraîner une septicémie, aggravant encore l'inflammation systémique. L'hypermétabolisme prolongé et l'inflammation entravent la cicatrisation des plaies en cas de réépithélialisation retardée. L'étendue de l'inflammation et de l'hypermétabolisme est liée à l'étendue et à la profondeur de la brûlure, car les brûlures plus profondes montrent des taux plus élevés de cytokines circulantes et une plus grande réponse hyper métabolique. Les phénomènes anti-inflammatoires prédominent au cours de cette seconde phase (**Rowan et al., 2015; Cantais et al., 2007; Fraissin et al., 2012; Bargues et al., 2009**).

2. Les principaux germes responsables d'infection chez les brûlés

2.1. Bactéries à Gram négatif

2.1.1. *Enterobactériaceae*

Ce sont des bacilles à Gram négatif, le plus souvent courts (1 à 6µm), droits immobiles ou mobiles par une ciliature péritriche, aéro-anaérobies facultatifs, fermentaire, oxydase négative, catalase positive, nitrate réductase positive. Il s'agit d'une très vaste famille qui représente près des trois quarts des isollements d'un laboratoire de bactériologie médicale. Ce sont la plupart des hôtes du tractus digestifs (d'où leur nom), responsables de pathologies opportunistes, notamment dans le cadre d'infection nosocomiales. L'ensemble de ces bactéries pousse habituellement très aisément sur milieux ordinaires. La température optimale de croissance est généralement de 35 à 37°C. Les colonies de ces bactéries ont 1 à 3 mm de diamètre généralement bombées, lisses et brillantes. Il existe de nombreuses exceptions : envahissement de la gélose en voile, montrant des vagues successives pour *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris*. Les *Klebsella* forment des colonies souvent s'observer entre variantes : muqueux, lisse ou smooth (S), rugueux ou rough (R). Les principaux caractères biochimiques sont présentés dans le tableau 5 (**Hello et al., 2016**).

Tableau 5: Les différents caractères biochimiques de quelques entérobactéries (**Hello et al., 2016**).

	<i>E.coli</i>	<i>K.peumoniae</i>	<i>P.mirabilis</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>E.cloacae</i>
TDA	-	-	+	+	-
Uréase	-	+	+	+	-
VP	-	+	-	-	+
Indole	+	-	-	+	
H ₂ S	-	-	+	+	-
Citrate-Simmons	-	+	d	d	+
ONPG	+	+	-	-	+
LDC	d	+	-	-	-
ODC	d	-	+	-	+
ADH	-	-	-	-	+
LAC	+	+	-	-	+

d : différent selon les espèces (variable); + : positif; - : négatif.

2.1.2. *Acinetobacter baumannii*

Les *Acinetobacter* sont des bactéries à Gram négatif ubiquistes de l'environnement naturel et hospitalier (**Denis et al., 2007**). Chez l'homme, elles sont fréquemment isolées de la peau, la salive, l'urine, conjonctive et plus particulièrement des localisations humides (creux axillaires, espaces interdigitaux...etc.) (**Freneyet al., 2007**). Les souches d'*Acinetobacter baumannii* se présentent sous la forme de bacille ou coccobacille, immobiles (**Tiry, 2015**). Ses colonies sont non pigmentées, lisses et parfois mucoïdes lorsque les cellules sont encapsulées (avec un diamètre de 1,5 à 3 mm) (**Bergogne-Bérezinet al., 1987**) Les principaux caractères biochimiques sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Quelques caractères biochimiques d'*Acinetobacter baumannii* (Peleg *et al.*, 2008).

Caractères biochimiques	Catalase	Oxydase	Nitrate reductase	Indole	Fermentation des sucres	Type respiratoire
<i>A.baumannii</i>	+	-	-	-	-	Aérobie stricte

+ : positif; - : négatif.

2.1.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un bacille à Gram négatif non fermentant, aérobic strict, dont l'habitat est particulièrement étendu. Il s'agit d'un microorganisme saprophyte de l'environnement, Il est également un commensal de l'homme (Minchella *et al.*, 2010). Dénommé aussi « pyocyanique », de 1 à 3 µm de long et 0,5 à 1 µm de large, mobile grâce à un flagelle polaire, ubiquitaire (Morand et Morand, 2017). Elle est capable de causer des infections graves, voire mortelles, chez les patients atteints de maladies chroniques et immunodéprimées. Les personnes gravement brûlées ou celles qui ont eu un traitement à base d'antibiotiques à large spectre sont des cibles particulièrement vulnérables (Garrity, 2005). Parfois entouré d'une pseudo-capsule appelée slime qui peut jouer un rôle important dans la pathogénicité de cette bactérie (Nyaledome, 2016). Deux principaux types de colonies peuvent être observés sur des milieux solides courants. L'un est grand, lisse, avec des bords plats et son centre surélevé (aspect «œuf au plat»), et l'autre est petit, rugueux, convexe. Sur les grandes colonies, des taches brillantes métalliques gris argenté peuvent être observées. Un troisième type de colonie (mucoïde) peut souvent provenir de sécrétions des voies respiratoires et urinaires, les colonies dégagent une odeur caractéristique de plante de seringa, en plus de la pyoverdine et de la pyocyanine, certaines souches peuvent produire des pigments, notamment un pigment rouge foncé (Garrity, 2005; Montalegre, 2016). Les principaux caractères distinctifs sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Caractères biochimiques *Pseudomonas aeruginosa* (Martin et Cattoir, 2016)

Caractères biochimiques	Ox	ADH	Gel	Lécith	Urée	Cit-sim	Gluc	Tréhalose	Man	Xyl	Mal	Ind
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	V	V	+	+	-	+	+	-	-

Ox: oxydase; ADH: Arginine dihydrolase; Gel: Gélatinase; Lécith: Lécithénase; Cit-Sim: Citrate-Simmons ; Gluc: glucose ; Man: Mannitol ; Xyl: Xylose ; Mal: Maltose ; Ind: Indole ; V : Variable; + : positif; - : négatif.

2.2. Cocci Gram Positif

2.2.1. *Staphylococcus aureus*

Les bactéries du *Staphylococcus aureus* sont ubiquitaires, capables de vivre dans de nombreux sites, essentiellement en saprophyte de l'environnement extérieur, mais aussi en commensal des épithéliums cutanés et muqueux des hommes et des animaux (Perez, 2013) *Staphylococcus aureus* est le plus souvent, apporté par contamination croisée hospitalière (Moualkia et Bouziane, 2018). Morphologiquement ce sont des cocci à Gram positif, groupés en amas, immobile, la grande majorité sont capsulées (Yves et Michel, 2009). Les souches de *Staphylococcus aureus* ont un pouvoir de résistance dans les milieux hostiles avec un optimum de croissance de 37°C et une salinité de 7,5% et à un pH allant de 4 jusqu'à 10 (Bergon, 2016), sont cultivées dans des milieux ordinaires et dans des milieux sélectifs tel que le milieu Chapman, Ses colonies sur gélose ordinaire sont lisses, rondes, d'un diamètre de 1 à 3 mm, bombées de couleur jaune dorée à jaune orange (Yves et Michel, 2009). Les principaux caractères biochimiques sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8: Critères biochimiques de *Staphylococcus aureus* (Yves et Michel 2009).

Caractères biochimiques	Coa	Cat	NR	Ph-se	Ox	Urea	Xyl	Glu	Man	Croi.aéro	Croi. anaér
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+

Coa: Coagulase; Cat: catalase; NR: Nitrate Reductase; Ph-se: Phosphatase; Ox: Oxydase; Urea: Urease; Xyl: Xylose; Glu: Glucose; Man: Mannose; Croi.aéro: Croissance aérobie; Croi.anaér : Croissance anaérobie; + : positif; - : négatif.

IV. Antibiotiques et Antibiorésistances

1. Antibiotiques

Le mot « antibiotique » a été proposé la première fois par Sleman Waksman, un pionnier de la recherche des antibiotiques et celui qui a découvert la streptomycine (**Davies et Davies, 2010**). Sa définition se basait sur l'application d'un composé chimique, par exemple, son utilité ou un effet de laboratoire. Toutefois, les fonctions ou la classe du composé n'étaient pas prises en compte. Depuis ce temps, le terme « antibiotique » a été interprété de multiples façons, cependant la définition la mieux acceptée est un composé qui a le pouvoir d'inhiber ou de tuer des microorganismes en interagissant spécifiquement avec leur cible, sans égard pour la classe ou l'origine du composé (**Davies et Davies, 2010**). Cet effet inhibiteur peut être *in vitro* ou *in vivo*. Les antibiotiques ayant à la fois une activité *in vivo* et une faible toxicité chez les mammifères ont été extrêmement précieux dans le traitement des maladies infectieuses (**Borders, 2007**).

Selon **Yala et al., 2001; Merad et Merad, 2001; Chopra, 2001**, les antibiotiques sont des composés naturels et synthétiques ayant des effets bactéricides ou bactériostatiques sélectifs qui éliminent les agents pathogènes ou ralentissent leur croissance, de sorte que les mécanismes de défense de l'hôte puissent éliminer l'infection. Les antibiotiques sont classés en fonction de leur site d'action dans la cellule bactérienne.

L'enthousiasme suscité par l'utilisation des antibiotiques a été érodé par le développement généralisé de la résistance aux antibiotiques; Ceci est devenu le point le plus critique du point de vue de la santé humaine chez les bactéries pathogènes cliniques (**Sundin et Wang, 2018**).

2. Mode d'action des antibiotiques

Pour pouvoir être utilisable en pratique clinique, un antibiotique doit se caractériser par une action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules eucaryotes (**El Alj, 2008**). Lorsqu'un antibiotique a la capacité d'induire la mort cellulaire, celui-ci est décrit comme étant bactéricide. D'autre part, un antibiotique qui peut seulement inhiber la croissance cellulaire est considéré comme bactériostatique. Afin d'induire l'un ou l'autre de ces effets, les antibiotiques agissent sur des cibles cellulaires spécifiques, selon la structure ciblée, on classe ces derniers dans différentes familles. Le tableau 9 résume le mode d'action des antibiotiques (**Kohanski et al., 2007 ; Peterson et Kaur, 2018**).

Tableau 9 : Mode d'action des antibiotiques

Modes d'actions	Mécanismes		Antibiotiques	Références
Interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire	Inhibent la transpeptidation en se liant aux protéines de liaison à la pénicilline (PLP).		Les β lactamine (les penicillines, les carbapénèmes, les oxapénames, les cephalosporines et les monobactames).	(Kohanski <i>et al.</i>, 2010 ; Zeba, 2015) (Maffioli, 2013) (Gallo et Puglia, 2013 ; Yala <i>et al.</i>, 2001)
	Bloquent la polymérisation du peptidoglycane en se liant au niveau du dipeptide d-alanyl-d-alanine.		Les glycopeptides (vancomycine, Teicoplanine)	
	Exercent leur activité antimicrobienne en se liant au lipide II ou en se liant sur Mur A entraînant la lyse bactérienne.		Peptides linéaires (lantibiotiques), la Fosfomycine.	
Perturbation de la membrane bactérienne	Perturbent la perméabilité membranaire d'où la rupture de la barrière osmotique.		Polymixine B - Polymixine E ou colistine Lipopeptides (daptomycine), Peptides linéaires (gramicidines)	(Borders, 2007) (Maffioli, 2013; Gallo et Puglia, 2013)
Inhibition de la synthèse protéique	Sous unité 30S du ribosome	Erreur de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines.	Aminosides (streptomycine, la néomycine, la kanamycine, la gentamicine, la tobramycine et l'amikacine)	(Yala <i>et al.</i>, 2001 ; Borders, 2007 ; Reinert, 2004) (Nilius et Ma, 2002)
		Inhibiteurs de la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, ils empêchent la fixation de l'aminocyl-ARNt.	Tetracyclines	

Synthèse bibliographique

Inhibition de la synthèse protéique	La s/unité 50S du ribosome	Ils inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique en formation	Macrolides-Lincosamides-Streptogramines (MLS) (kétolides)	(Peterson et Kaur, 2018) (Kohanski et al., 2007 ; Kohanski et al., 2010).
		inhibition de la polymérase	Phénicolés, Oxazolidinones	
		interférant avec le facteur d'élongation G (EF-G).	l'acide fucidique	
Inhibition des acides nucléiques (ADN/ARN)	Inhibition des enzymes de la synthèse de l'ADN (l'ADN gyrase et l'ADN topo-isomérase IV)	Provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases)	Quinolones (l'acide nalidixique) Fluoroquinolones (norfloxacin, levofloxacin, ciprofloxacine, et gemifloxacine) Nitrofuranes (5 nitro-imidazolés)	(Yala et al, 2001) (Borders, 2007) (Cockenpot, 2014; Kohanski et al., 2010).
		Inhibe la réplication de l'ADN	Novobiocine;	
	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARN messager (ARNm) par inhibition de l'ARN polymérase.	Rifamycines (Ansamacrolides : rifampine)		
Inhibition de la voie métabolique	Inhibent la synthèse des folates en 2 stades différents; entrent en compétition avec le PAB	Sulfamides; 2-4 diaminoptéridine (Triméthoprime)	(Yala et al, 2001)	
	Bloquant ainsi l'action de la synthétase.	L'association "sulfamide triméthoprime"		

3. Antibiorésistances

La résistance bactérienne aux antibiotiques a été rapportée dès la découverte du premier antibiotique, la pénicilline G. Outre cette résistance naturelle, propre à de nombreuses espèces bactériennes rencontrées dans la nature, la résistance acquise est rapidement découverte, tant au plan génétique, avec en particulier la mutation, les transferts de gènes, et les mobilisations de gènes chromosomiques, que biochimique (impermeabilité, inactivation enzymatique, modification d'affinité, substitution de cibles, efflux) (**Philippon, 2008; Poole, 2005; Kumar et Schweizer, 2005**).

3.1. Définitions de la résistance

- **Naturelle** : C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait, donc, partie du patrimoine génétique permanent du germe (**Yala et al., 2001; Philippon, 2008**).
- **Acquise** : C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'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) (**Yala et al., 2001; Philippon, 2008**).

3.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les agents antimicrobiens exercent leur effet antibactérien selon différents modes d'action (Figure 3a), mais certains de ces microorganismes ont, à leur tour, mis au point divers mécanismes de résistance qui peuvent en contrer les effets (Figure 3b) (**Wang et al., 2019**).

3.2.1. Mécanismes biochimiques

Depuis quelques années, cinq mécanismes ont été individualisés pour expliquer la résistance naturelle et surtout acquise des bactéries aux antibiotiques : (**Philippon, 2008**).

- **La réduction de la perméabilité membranaire** : les pores par lesquels entrent les antibiotiques dans les cellules sont constitués de protéines spécifiques (les porines). En diminuant l'expression de ces porines, la bactérie induira une réduction de la perméabilité membranaire et donc de l'entrée de l'antibiotique dans la cellule tels que les bêtalactamines, les quinolones, le triméthoprime, la fosfomycine, le chloramphénicol ou encore les tétracyclines...etc (**Cockenpot, 2014; Pagès, 2004**).

- **Inactivation ou détoxification enzymatique** : les bactéries peuvent produire une enzyme soit à l'extérieur de la bactérie (enzyme exocellulaire) soit dans la bactérie (enzyme endocellulaire ou périplasmique) qui va modifier (en insérant un résidu chimique) ou cliver la molécule antibiotique, entraînant son inactivation. C'est le principal mécanisme de résistance aux bêta-lactamine, avec la production des enzymes de la famille des bêta-lactamases (d'AmpC, les BLSE, les MBL) ou encore des céphalosporinases (**Peterson et Kaur, 2018; Pagès, 2004; Wang et al., 2019**).
- **Modification d'affinité de la cible** : La résistance aux antibiotiques résulte d'un changement du précurseur du peptidoglycane de D- Ala- D -Ala en D- Ala- D -Lac ou D- Ala- D -Ser, qui présente une réduction de l'affinité pour les glycopeptides. D'autres mécanismes de résistance contournent la cible d'origine en produisant des cibles supplémentaires de faible affinité. Les exemples incluent la synthèse de la sous-unité B supplémentaire de l'ADN gyrase pour la résistance à la novobiocine ou de PLP à faible affinité pour la résistance à la pénicilline (**Peterson et Kaur, 2018**).
- **La substitution des cibles** : la bactérie peut produire une copie de la protéine cible. Elle est similaire à la cible de l'antibiotique, hormis le fait que la bactérie n'y est pas sensible. On observe ces mécanismes dans les résistances au triméthoprim et aux sulfamides, la résistance aux modifications post-traductionnelles de la cible de liaison à la polymyxine, le composant lipide A des lipopolysaccharides de la membrane externe (**Gallo et Puglia, 2013; Philippon, 2008; Wang et al., 2019**).
- **L'efflux des antibiotiques** : en mettant en place un système de pompage actif hors de la cellule, la bactérie va « éjecter » l'antibiotique à l'extérieur de la cellule avant que celui-ci n'ait pu agir. Ce mécanisme nécessite toutefois de l'énergie. Il s'agit du mécanisme de résistance à la tétracycline chez *Escherichia coli* (**Poole, 2005 ; Cockenpot, 2014**).

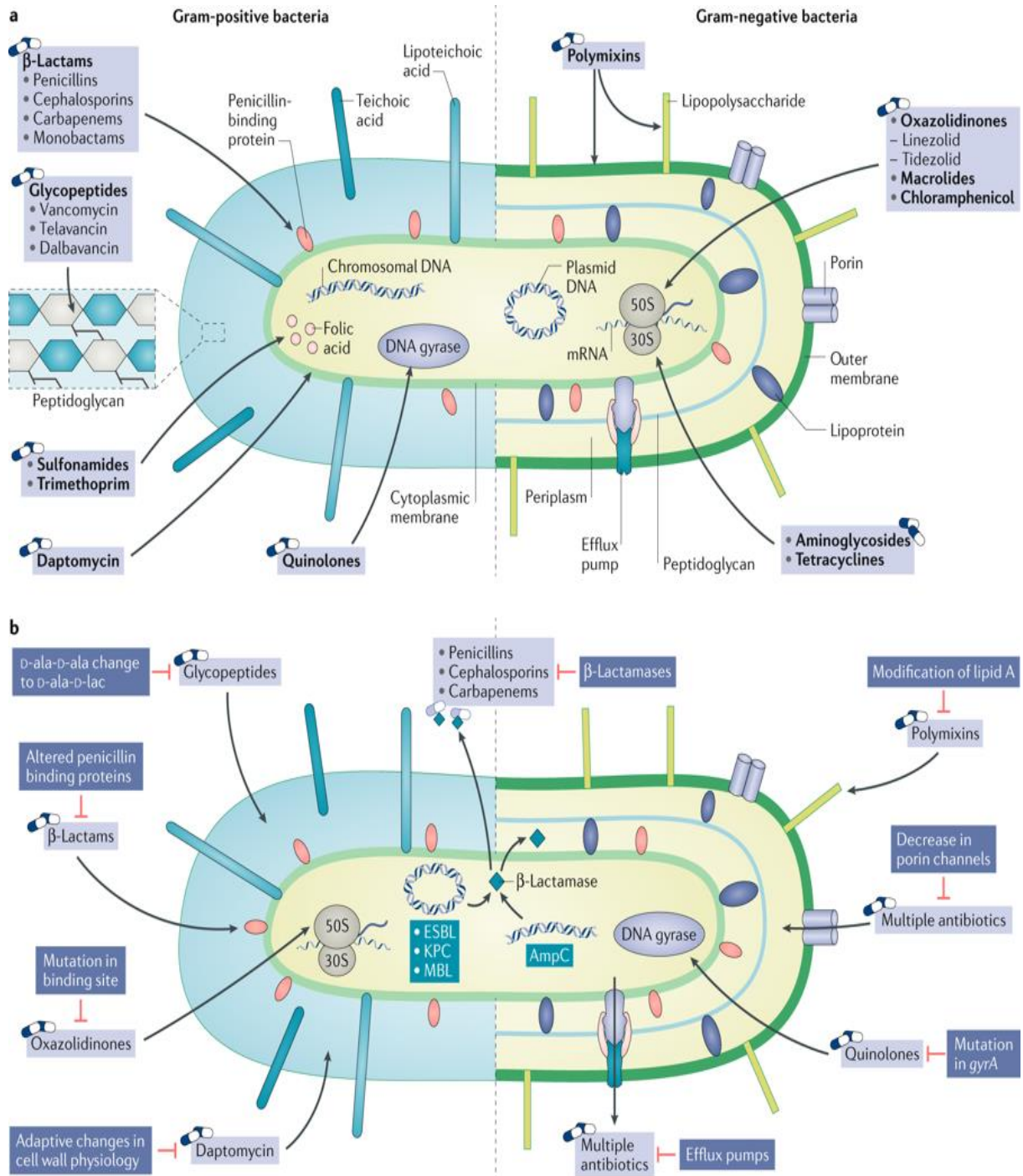


Figure 3 (a) et (b): Mécanismes d'action des agents antibactériens et de la résistance antibactérienne (Wang *et al.*, 2019).

I. Matériels et méthodes

Il s'agit d'une étude prospective incluant 19 patients parmi les 30 patients admis au Centre des Grands Brûlés (CGB) de l'Hôpital Central de l'Armée (HCA) Mohamed Seghir Nekkache, durant la période s'étalant du 07 février 2019 au 10 mai 2019.

1. Matériels

1.1. Matériels biologiques

Les prélèvements

- les prélèvements cutanés (Biopsies et écouvillonnages)
- les hémocultures
- les examens cyto bactériologiques des urines (ECBU)
- les prélèvements distaux protégés (PDP) ou les sécrétions bronchiques
- les cathéters (KT) (bouts distaux des cathéters)

Les souches de références ATCC

Escherichia coli ATCC 25922.

Staphylococcus aureus ATCC 25923.

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.

Population étudiée

Les patients inclus dans cette étude microbiologique ont été sélectionnés parmi ceux admis au Centre des grands brûlés de l'HCA, et ce sur la base d'un certain nombre de critères :

Critères d'inclusion : ont été inclus dans cette étude tout patient :

- Brûlé de 2^{ème} et 3^{ème} degrés profonds (la SCB n'est pas limitée).
- Hospitalisé (transféré d'une autre structure hospitalière ou admis directement au CGB) durant la période du stage.
- Hospitalisé avant la période du stage et ayant fait un prélèvement durant la période du stage.
- Toutes les tranches d'âges.
- Les deux sexes.

Critères d'exclusion : ont été exclus de cette étude tout patient :

- Brûlé à titre externe
- Brûlé 1^{er} degré et 2^{ème} degré superficiel.
- Hospitalisé pour des raisons chirurgicales (esthétiques) ou pour des séquelles de brûlures.

1.2. Matériels non biologique

C'est le matériel couramment utilisé dans tout laboratoire de microbiologie (Annexe 1).

2. Méthodes

2.1. Prélèvements bactériologiques

Les prélèvements sont reçus au laboratoire dans des tubes, des flacons et/ou pots stériles, des écouvillons et des seringues accompagnés d'une fiche de renseignement correctement remplie (Annexe 2).

Dès leurs arrivés au laboratoire, les prélèvements sont enregistrés dans un registre de recueil des prélèvements et un numéro d'ordre est attribué pour chaque prélèvement.

NB : Tous les prélèvements bactériologiques sont faits par le personnel soignant.

2.2. Conduite à tenir au laboratoire devant les différents prélèvements

2.2.1. Prélèvements cutanés

❖ Ecouvillonnage cutané

Il s'agit d'une technique qualitative qui consiste à frotter la surface de la jonction « zone brûlé-zone saine » au moment de changement des pansements avec 1 ou plusieurs écouvillons stériles (selon le nombre des sites dont on suspecte une infection).

Technique d'isolement

L'écouvillonnage cutané reçu au laboratoire est ensemencé directement sur les différents milieux de culture : Gélose Nutritive (GN), Hektoen (HEK) selon la technique des 4 quadrants (CLSI, 2017)

- Décharger l'écouvillon sur le premier quadrant puis repris avec une pipette pasteur stérile en réalisant des stries serrées sur environ 1/3 de la boîte.
- L'ensemencement des 4 quadrants se fait avec des stries allant de très serrées aux espacées du 1^{er} au 4^{eme} quadrant en tournant la boîte de pétri à chaque fois.
- Incuber les boîtes (GN, HEK) à 37° C pendant 18 à 24h.
- Après incubation une lecture est faite, si les boîtes ensemencées présentent une culture bactérienne, une identification est réalisée.

Matériel et méthodes

❖ Biopsie cutanée

C'est une technique invasive quantitative, qui permet de différencier entre une infection et une colonisation chez les brûlés et apprécier l'invasion bactérienne des tissus viables adjacents. Le fragment tissulaire est prélevé en carotte au niveau de la zone du tissu brûlé et la zone saine, elle est réalisée au bloc opératoire par le chirurgien, mis dans un pot stérile et acheminé rapidement au laboratoire.

Au niveau du laboratoire, la biopsie est scindée en deux parties :

La première pour analyse microbiologique et la deuxième envoyée rapidement au laboratoire d'anatomo-pathologie pour étude histo-pathologique.

A notre niveau :

- L'échantillon tissulaire est découpé en un fragment de 1g
- Il est mis en suspension dans 2ml d'eau physiologique et agité manuellement.
- A partir de la suspension, effectuer six dilutions par un facteur de $1/10^{\text{ème}}$ sur 6 tubes stériles contenant 9ml d'eau physiologique.
- Inoculer pour chaque dilution, deux bouillons nutritifs
- A partir de chaque BN, ensemercer deux boîtes GN : GN_A, GN_B
- Les boîtes de GN sont incubées pendant 18 à 24 h, sous une température de 37°C.

Lecture

- Résultat négatif : aucune culture sur toutes les boîtes.
- Culture positive : compter les colonies identiques dans les boîtes correspondant à la plus haute dilution en Unit Forming Colony (UFC)/gramme, en utilisant cette formule :

$$x = \frac{N \times D \times 2 \times 100}{W}$$

N : la moyenne des colonies identiques dans les boîtes A et B

D : l'inverse du facteur de dilution de la boîte positive correspondante

W : poids de l'échantillon

Interprétation

- Si $x \geq 10^5$ bactéries/g : cela indique une infection, donc procéder à une identification et un antibiogramme.
- Si $x < 10^5$ bactéries/g : signifie qu'il s'agit d'une colonisation ou une contamination.

2.2.2. Hémoculture

Ce prélèvement est effectué devant tout syndrome infectieux faisant suspecter un état de septicémie : hyperthermie $> 38,5^{\circ}\text{C}$, hypothermie $< 36,5^{\circ}\text{C}$, marqueur biologique positif, (CRP et procalcitonine élevée, hyperleucocytose)...etc. toute en tenant compte du volume prélevé (8 à 10 ml) et de l'asepsie du site avant prélèvement (fréquemment au niveau du pli du coude, mais si il est brûlé, le prélèvement se fait à partir de la veine jugulaire).

Le sang est prélevé dans deux flacons d'hémoculture (de type BD BACTEC) : aérobie et anaérobie, qui sont étiquetés et acheminés rapidement au laboratoire.

Technique

- Les flacons d'hémoculture reçus au laboratoire sont incubés dans l'automate BD BACTEC FX40 pour la détection (0 à 5 jours) d'une culture bactérienne.
- Pour chaque flacon positif quelques gouttes sont versées sur les milieux GN, HEK et GSC, qui sont tous ensemencés suivant la technique de quatre quadrants, puis incubés à $37^{\circ}\text{C}/18$ à 24h pour GN et HEK et en atmosphère 5% de CO_2 pour gélose au sang cuit (GSC).

2.2.3. Examen cyto bactériologique des urines

Tous les brûlés sont porteurs d'une sonde à demeure, le prélèvement des urines se fait après désinfection du point de ponction sur la sonde en piquant à travers l'opercule.

Examen macroscopique

Noter l'aspect macroscopique des urines dès leur réception : clair, trouble, hématique, purulent ... etc.

Examen microscopique

Sur cellule de Nageotte, qui comporte deux types d'études :

- Etude qualitative : consiste à signaler la présence de globule rouge (GR), de cellules épithéliales, de levures, des bactéries (abondance, morphologie, agencement, mouvement) et de cristaux.
- Etude quantitative : Après homogénéisation des urines, on dépose à l'aide d'une micropipette un petit volume de l'urine à analyser entre la cellule Nageotte et la lamelle. On

Matériel et méthodes

procède au dénombrement des leucocytes contenus dans un volume de 1 mm^3 (nombre obtenu sur Nageotte multiplié par 0,8 ; le volume de la Cellule de Nageotte étant de $1,25 \text{ mm}^3$).

Mise en culture

La technique utilisée pour l'ensemencement est celle de l'anse calibrée à $10 \mu\text{l}$, prendre une anse de l'urine à analyser puis l'étaler en quatre stries sur une gélose nutritive, et sur le milieu chromogène en quatre quadrant puis l'incuber à 37°C /18 à 24h.

2.2.4. Prélèvement distale protégé (Les sécrétions bronchiques)

Ce prélèvement est réservé aux patients brûlés intubés, les sécrétions bronchiques sont aspirées avec un double cathéter protégé introduit dans l'arbre trachéo-bronchique puis placés dans un tube stérile, étiqueté et acheminé rapidement au laboratoire de microbiologie accompagné d'une fiche de renseignement correctement remplie.

Examen macroscopique

Au laboratoire, on note l'aspect macroscopique du prélèvement (purulent, hémorragique...), puis il est centrifugé.

Examen microscopique

Une partie du culot sert à confectionner un frotti, qui est fixé et coloré au bleu de méthylène.

Coloration au bleu de méthylène

Permet d'observer la forme des bactéries leurs regroupements et la présence d'une réaction inflammatoire (PN altérés ou non altérés, lymphocytes) et de cellule épithéliale.

Dans un premier temps on réalise un frottis et le fixer, puis recouvrir la lame en bleu de méthylène 5 minutes, ensuite rincer a l'eau distillée et sécher la lame entre deux feuilles du papier buvard. Observer au MO à l'objectif $G \times 100$ en ajoutant l'huile à immersion pour la numération de PNN/champ.

Mise en culture

L'autre partie du culot sert pour l'ensemencement :

- A partir du culot, prélever avec une anse de platine, et ensemer sur GSC, GN et HEK.
- Et après dilution de l'échantillon en eau physiologique (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}), ensemer sur GSC : 2 gouttes puis étaler en râteau.

Matériel et méthodes

Les boîtes GN et HEK sont incubées sous une température de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 18 à 24h, en revanche les boîtes à GSC sont mises d'abord sous une atmosphère de 5% de CO_2 , puis incubées sous la même température et la même durée.

Lecture des boîtes

- Si la culture est négative : reincuber les boîtes jusqu'à 48h.
- Si la culture est positive : compter le nombre de colonies identiques dans chaque boîte correspondant aux dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}
 - Nombre de colonies \times inverse de la dilution $\times 10 =$ Nombre UFC /ml.

NB : il faut qu'il y ait une corrélation entre les cultures des différentes dilutions (nombre et morphotype).

La culture directe sert de contrôle (même type de colonies au niveau des cultures après dilution ; l'abondance aussi doit être appréciée, elle sert aussi à repérer la contamination lors de manipulation (culture après dilution positive, culture directe négative).

Interprétation

- Si le nombre $\geq 10^3$ UFC/ml : identification + antibiogramme.
- Si le nombre $< 10^3$ UFC/ml : négatif.

2.2.5. Cathéter (bout distal du cathéter)

Le prélèvement se fait en découpant le bout distal du cathéter (KT) central ou périphérique sur une longueur de 5 cm, le mettre dans un tube stérile, étiqueté et acheminé rapidement au laboratoire accompagné d'une fiche de renseignement correctement remplie.

Au laboratoire de microbiologie :

- Ajouter 1 ml d'eau physiologique, l'agiter et faire des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} .
- À partir de chaque dilution, ensemercer 2 gouttes sur GN en râteau et incubé les boîtes à 37°C .

Lecture des boîtes

Effectuer une 1^{ère} lecture après 24 heures :

- Culture négative : réincuber les boîtes pendant 48 heures.
- Culture positive : compter le nombre de colonies identiques / boîtes.
 - Si la numération $< 10^3$ UFC / ml : ne pas faire identification et antibiogramme.
 - Si la numération $\geq 10^3$ UFC / ml : faire une identification et un antibiogramme.

3. Les techniques d'identification bactériologique

3.1. Méthodes conventionnelles

C'est l'étude de l'ensemble des caractères biochimiques et de tests d'orientation aboutissant à l'identification des germes responsables de l'infection après isolement de ces derniers.

3.1.1. Examen macroscopique

Noter l'aspect macroscopique des bactéries (taille, couleur, opacité, odeur, forme...etc.)

3.1.2. Examen microscopique

Etat frais

Permet d'apprécier la morphologie des bactéries, leurs groupements, leurs abondances et d'observer leur mobilité.

Il est réalisé en déposant sur la lame une goutte de suspension bactérienne et la recouverte d'une lamelle ensuite l'examiner en $G \times 40$.

Etat fixés : Préparation d'un frottis

- Prélever à l'aide d'une pipette de Pasteur une colonie jeune et la dissoudre dans 01 ml de l'eau physiologique et la laisser jusqu'à une heure.
- Déposer sur une lame propre une goutte de cette suspension.
- Réaliser le frottis de façon à obtenir un étalement mince et homogène.
- Sécher à l'air libre jusqu'à ce que le frottis présent un aspect mat.
- Fixer le frottis par passage rapide et bref de la lame au-dessus d'une flamme d'un Bec Bunsen (frottis situé sur le dessus).

Coloration de Gram : il nous renseigne sur l'aspect morpho-tinctorial des bactéries.

A partir d'une colonie pure on prépare un frotti :

- Recouvrir la lame de violet de gentiane pendant 1 minute puis rincer.
- Recouvrir avec lugol pendant 1 minute puis rincer.
- Décolorer à l'alcool et rincer immédiatement à l'eau.
- Recouvrir la lame de fuchsine diluée pendant 1 minute après lavé à l'eau.
- Sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur, examiner à l'immersion.

Matériel et méthodes

Selon le résultat de la coloration de Gram les tests catalase et oxydase sont effectuées.

3.1.3. Tests d'orientation

L'orientation vers une famille ou un genre bactérien est possible en considérant à la fois, les données et les recherche bibliographiques sur les bactéries fréquemment isolées chez les brûlés, et en associant les tests d'orientation et les préférences culturelles des bactéries, comme expliquer dans la Figure 4, afin de sélectionner les disques d'antibiotiques à tester et la galerie biochimique qui identifieront le ou les germes.

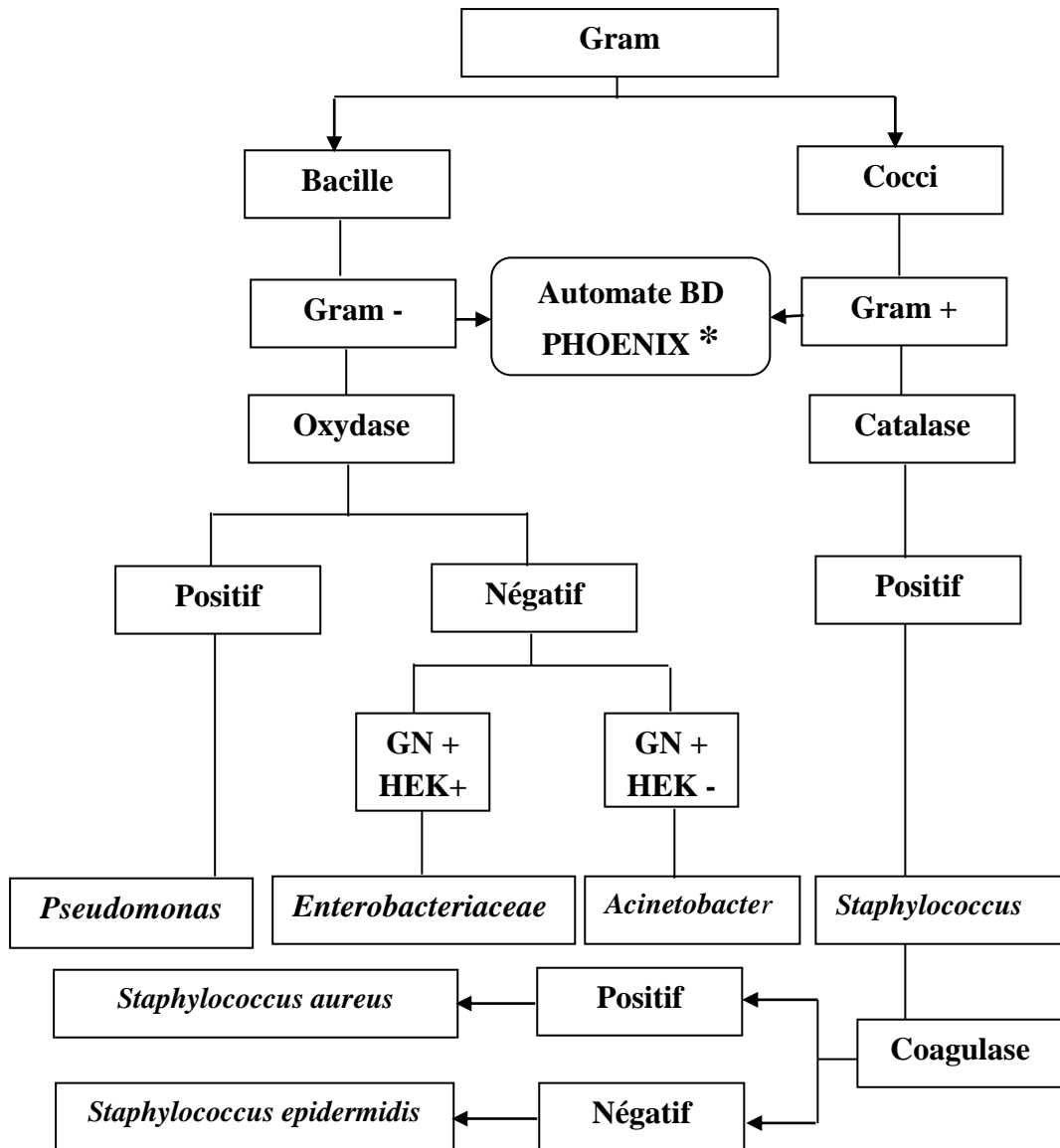


Figure 4 : Etapes et tests d'orientation

* : la partie automate sera détaillée dans les parties suivantes

- **Recherche d'oxydase**

L'oxydase est le critère le plus discriminatif et le plus employé pour l'identification des BGN. Ce test recherche le cytochrome oxydase.

Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie à oxyder la forme réduite incolore de dérivés N-méthylé du paraphénylène diamine, en semi-quinone (rose violacé). La technique utilisée est la suivante :

- Déposer une goutte de réactif sur un papier filtre.

Matériel et méthodes

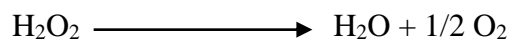
- Avec une pipette Pasteur prélever une colonie sur milieu solide et l'écraser sur le papier filtre pendant quelques secondes.

Lecture

- La lecture s'effectue après 30 secondes.
- Une réaction positive se traduit par une coloration violette.

- **Recherche de catalase**

Ce test à la base de l'identification de cocci à Gram positif, la catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, par la réaction suivante :



Technique

- Déposer une goutte d'eau oxygénée sur une lame.
- A l'aide d'une pipette pasteur bouclée, déposer une colonie isolée de la souche à tester.

Lecture

La lecture est immédiate avec dégagement gazeuse sous forme de bulle d'air

Test de Coagulase

La production de coagulase libre par *Staphylococcus aureus* provoque une coagulation de plasma de lapin qui se traduit par la formation d'un culot de coagulation.

Technique

- Déposer 0,5 ml de plasma de lapin dans un tube sec.
- Prélever d'une culture, des colonies jeunes de *Staphylococcus* en utilisant une pipette Pasteur, puis l'introduire dans le tube contenant le plasma tout en agitant.
- Lancer en parallèle et dans les mêmes conditions une souche de contrôle *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Matériel et méthodes

Lecture

Après 2 à 24 heures d'incubation à 37°C, une coagulation du plasma de lapin indique une libération de la coagulase, donc c'est une souche de *Staphylococcus aureus*.

- **La recherche de l'esculine**

L'esculine est un hétéroside qui libère, par hydrolyse, du glucose et de l'esculétine qui forme un précipité noir en présence de fer III, indiquant une culture positive. L'ensemencement se fait en piqure centrale d'une colonie pure et jeune, à l'aide d'une pipette Pasteur.

Ce test a pour intérêt l'identification de nombreux bacilles à Gram négatif, des streptocoques, et des entérocoques.

Lecture

- **Esculinase positif** : coloration noire, hydrolyse de l'esculine (production d'esculétine qui a réagi avec le fer).
- **Esculinase négatif** : absence de coloration noire, absence d'hydrolyse de l'esculine (absence de production d'esculétine).

3.1.4. Identification biochimique

Les galeries API Bio Mérieux sont des galeries de tests biochimiques miniaturisés, se présentent sous la forme d'une série de tubules, contenant des substrats sous forme déshydratée correspondant chacun à un test biochimique spécifique, avec lequel les bactéries réagissent déferrement.

La lecture se fait par changement d'aspect direct ou après rajout des réactifs de révélation.

Galleries API 20 E : Galerie Miniaturisé (api 20E) :

Api 20E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autre bacilles à Gram-, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés.

Technique

Préparation de la galerie : Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et remplir les alvéoles avec de l'eau distillée pour créer une atmosphère humide, ensuite déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation

Matériel et méthodes

Préparation de l'inoculum : Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé et la mettre dans un tube d'eau distillée stérile pour réaliser une suspension bactérienne de 0,5 Mc Farland.

Inoculation de la galerie : Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :

- pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule.
- pour les autres tests ONPG, TDA, IND, GLU, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY et ARA, remplir uniquement les tubes.
- pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
- Refermer la boîte d'inoculation et l'incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

3.1.5. Etude de la sensibilité des bactéries isolées vis-à-vis différents antibiotiques

Technique de diffusion des disques d'antibiotique sur milieu gélosé

La réalisation de l'antibiogramme par diffusion, consiste à déposer des disques imprégnés d'une dose connue d'antibiotique, sur une gélose Muller Hinton (MH)ensemencée par la souche bactérienne isolée à fin d'étudier la sensibilité et la résistance des bactéries vis-à-vis des antibiotiques, selon le mode opératoire du CLSI 2017.

Inoculum

- A partir d'une culture jeune de 18h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, dispersées les dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland.

Matériel et méthodes

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum ensuite l'essorer en le pressant fermement et en le tournant contre la paroi interne du tube afin de décharger au maximum.

Ensemencement

- Frotter l'écouvillon sur la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

Application des disques d'antibiotiques

- Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90mm de diamètre.
- Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm, centre à centre.
- Tester les antibiotiques indiqués dans les listes, selon la bactérie isolée.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince pour s'assurer de son application.

NB : une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé.

Incuber les boîtes à 35°C pendant 18h, à atmosphère ordinaire ou en présence de 5% de CO₂, selon l'exigence de la bactérie.

Lecture

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle et les résultats obtenus, seront comparés aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes (**Annexe 3**).

Ainsi les bactéries seront classées dans l'une des catégories **Résistant (R)**, **Intermédiaire (I)** ou **Sensible (S)**.

3.2. Méthodes automatisées

3.2.1. Le système d'identification et d'étude de la résistance aux antibiotiques automatisé BD Phoenix

Principe de la méthode

Selon la fiche technique du l'automate, le système de microbiologie automatisé BD Phoenix est conçu pour identifier et effectuer un test de sensibilité aux antibiotiques sur des bactéries d'intérêt clinique.

Afin d'identifier différents types de bactéries, cet automate utilise des substrats chromogéniques et fluorogéniques ainsi que des substrats à source de carbone.

L'appareil permet d'effectuer au maximum 100 échantillons à la fois. La galerie est formée d'un côté **ID (pour IDentification)**, contenant 51 puits dont 45 puits avec des substrats biochimiques déshydratés pour l'identification des bactéries, et 2 puits de contrôle de fluorescence ; et d'un côté **AST (Antibiogram Sensibility Test)** contenant 84 puits avec concentrations variées d'antibiotiques séchés et 1 puits de contrôle de la croissance (Figure 7).

Le système est un test de microdilution à base de bouillon, il utilise un indicateur d'oxydoréduction (bleu de bromocrésol) pour la détection de la croissance en présence d'un agent antimicrobien.

Les galeries Phoenix sont inoculées avec un inoculum standardisé de 0,5 Mc farland. Une fois inoculées les galeries sont placées dans l'instrument dans le délai spécifié de 30 minutes et incubées en continu à 35°C.

Ensemencement des galeries

Dans chaque bouillon AST, mettre une goutte d'indicateur de bleu de bromocrésol et homogénéiser.

Le bouillon ID a été inoculé avec des colonies bactériennes issues d'une culture jeune ajustée à un standard de 0.5 Mc Farland à l'aide d'un néphélomètre.

Un volume de 25ul de cette suspension a été prélevé pour obtenir de l'AST donnant une concentration finale d'environ 5×10^5 UFC/ml.

Matériel et méthodes

Verser le reste de la suspension ID dans la partie gauche de du panneau phœnix et la suspension AST dans la partie droite, Refermer l'orifice avec le couvercle puis lancer l'identification sur l'automate.

Une identification dure environ 3 heures et un antibiogramme 8 heures (Figure 5)

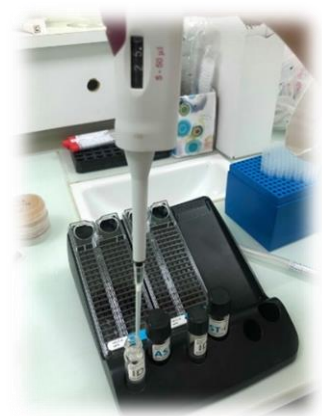
Matériel et méthodes



Les bouillons ID/AST



Mettre une goutte d'indicateur



Prélever 25ul de la suspension bactérienne



Verser l'AST dans la partie droite



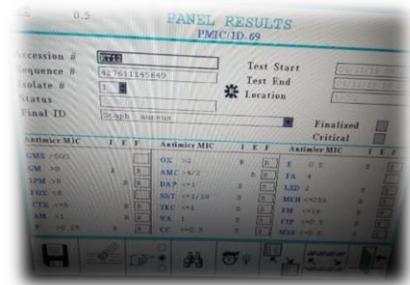
Verser le reste de la suspension ID dans la partie gauche



Mettre dans l'AST



Refermer l'orifice avec le couvercle



Lancer l'identification sur l'automate

Figure 5 : Les étapes d'ensemencement des galeries

Résultats et discussion

Bien que les progrès en matière de prise en charge des brûlés aient permis ses dernières années la survie des patients brûlés gravement atteints, l'infection reste la complication la plus fréquente et la plus redoutable chez ces patients.

En raison de l'importance des moyens antibactériens utilisés, on assiste à une sélection très importante des mutants de résistance aux différents antibiotiques.

Le but de ce travail est d'avoir une vue descriptive sur l'infection des brûlés au sein du centre des brûlés de l'HCA ainsi que d'étudier la sensibilité des germes isolés aux différents antibiotiques.

I. Etude démographique

L'incidence de la brûlure est difficile à estimer dans notre pays, à cause de la rareté des centres spécialisés au niveau national, et l'acheminement de façon éparse des brûlés vers différentes structures non spécialisées.

1. Répartition des patients brûlés selon le sex-ratio

La brûlure concerne les deux sexes avec une prédominance masculine est constatée chez nous avec un taux de 63,16% pour les hommes et 36,84% pour les femmes.

2. Répartition des patients brûlés en fonction des tranches d'âge

La brûlure peut toucher toute tranche d'âge confondue, le tableau suivant montre la tranche d'âge la plus rencontrée chez nos patients au CGB (Figure 6):

L'analyse des résultats des brûlés en fonction de la tranche d'âge a montré que plus de la moitié des patients brûlés était représentée par des enfants de moins de 15 ans, ceci s'explique par la négligence de la surveillance des enfants par les parents.

L'âge des patients varie de 15 mois à 88 ans. La fréquence des brûlures était la plus élevée dans le groupe d'âge moins de 15 ans, nos résultats corroborent relativement avec ceux des études de Ibnouzahir *et al.*, faite à Marrakech en 2011, à propos de 152 cas et celles de Lami et El Nasser faite à Iraq en 2018 sur 676 cas.

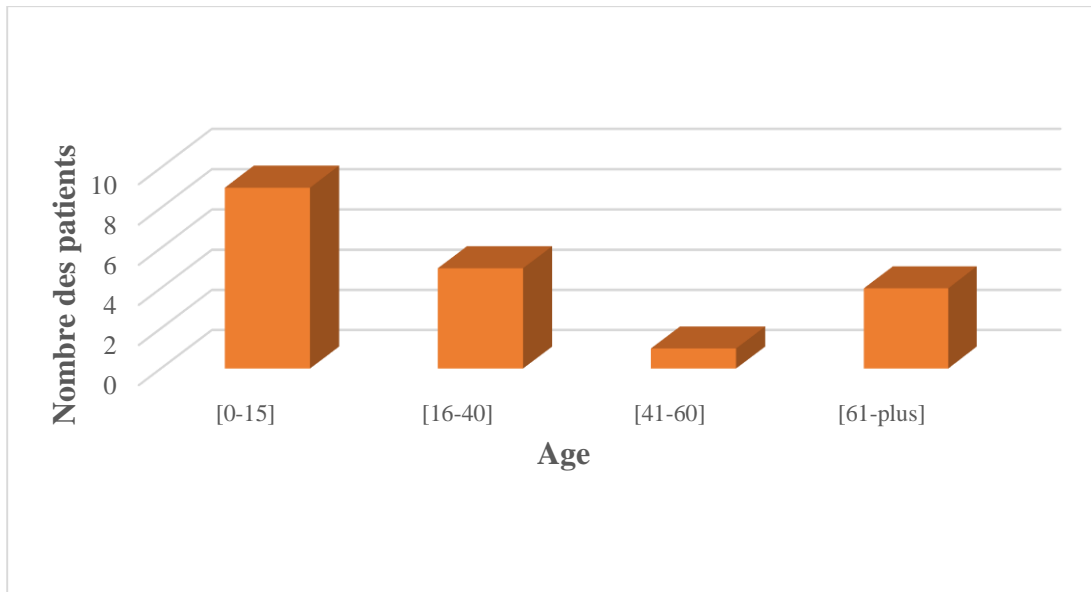


Figure 6: Répartition des patients brûlés en fonction des tranches d'âge

3. Répartition des patients brûlés selon l'agent causal de la brûlure

La brûlure peut être causée par plusieurs agents : thermiques, chimiques, électriques ou par irradiations.

Chez les 19 patients brûlés infectés, la brûlure était causée principalement par deux agents thermique et électrique (Tableau 10).

Dans notre série d'étude, la brûlure par ébouillement prédomine ceci s'explique par la fréquence de ce type de brûlure chez l'enfant moins de 15 ans.

Les liquides chauds étaient l'agent causal le plus incriminé dans notre série (43,75%), essentiellement dans le cadre d'accidents domestiques chez les enfants en bas âge et les adultes de sexe féminin qui passent beaucoup de temps en cuisine, suivie par la flamme chez 37,5% des cas et dans 18,75% des cas la brûlure est causée par l'explosion de bombonne de gaz, qui manque de tout système de sécurité, et qu'on trouve dans beaucoup de foyers algériens. Cette majorité de brûlures thermiques a été constaté aussi dans une étude publiée par Ibnouzahir *et al.* (2011) où un taux de 84% a été déclaré, sauf pour les brûlures dues à l'explosion de gaz qui était supérieure à notre étude, ceci s'explique par la différence de la période d'étude (8 ans) et le nombre de cas étudié.

On remarque des résultats similaires entre notre étude et celle de Belba *et al.* faite en Albanie en 2013 sur 100 patients, cette dernière a montré que 65,3% des brûlures sont dues à l'ébouillement et seulement 21,5% sont dues aux flammes. Ainsi que celle de l'ABA faite

en turquie en 2012 sur 1190 cas a révélé que 55,4% des brûlures sont dues à l'ébouillantage et 26,5% par flamme (Alp *et al.*, 2012)

La brûlure électrique est retrouvée chez 3 patients brûlés alors que l'origine chimique est absente lors de notre période d'étude.

Tableau 10: Répartition des patients brûlés selon l'agent causal de la brûlure

Agent causal		Nombre	Taux (%)
Thermique	Flamme	6	37,5
	Ebouillantage	7	43,75
	Explosion de gaz	3	18,75
Chimique		0	0
Electrique		3	15,79

4. Répartition des patients brûlés selon le degré de la brûlure

Dans notre série d'étude, la plupart des brûlés dont on a suspecté une infection, ont présentés des lésions profondes de 2^{ème} et 3^{ème} degrés (Figure 7)

Ces constatations rejoignent celle de Rajabhak *et al.*, faite à Nepal en 2014 sur 42 patients, qui ont montré que la majorité des brûlures étaient des lésions profondes du deuxième et troisième degré.

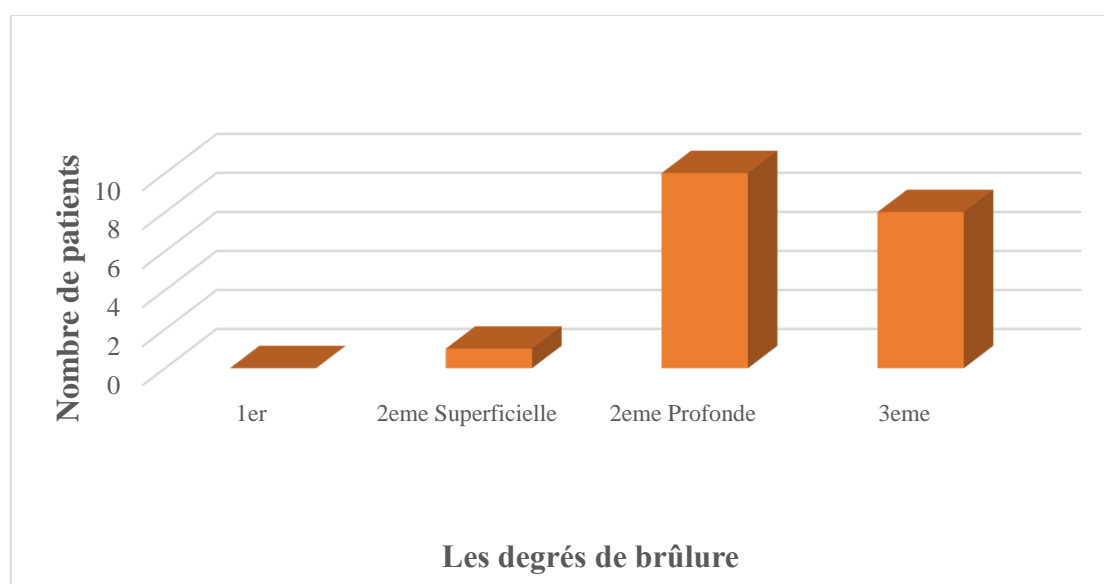


Figure 7: Répartition des patients brûlés selon le degré de la brûlure

5. Répartition de la surface corporelle brûlée SCB% des patients prélevés en fonction des tranches d'âge

Les deux âges extrêmes de la vie sont un pronostic défavorable en cas de brûlure, une brûlure même modeste, met en jeu le pronostic vital, tant les capacités de cicatrisation et de défenses contre les infections sont réduites (Tableau 11).

La détermination de la gravité d'une brûlure se fait en prenant en considération la SCB% pour déterminer l'indice de gravité donc une meilleure prise en charge.

La surface corporelle brûlée moyenne chez les patients brûlés est de 31,13%

Dans notre série d'étude, on remarque que la brûlure est plus étendue, plus de 20% de la SCB, chez les sujets dont l'âge est moins de 15 ans, ceci s'explique par la sensibilité des enfants aux brûlures.

Les 11 patients brûlés avec une SCB de plus de 20% ont subi un examen microbiologique. De ce fait, on déduit que plus la SCB est élevée, plus le patient brûlé est susceptible de développer des infections microbiennes.

Nous avons remarqué que les brûlures étaient plus étendues, plus de 20% de la SCB, chez les personnes dont l'âge est moins de 15 ans, ceci s'explique par la sensibilité de cette tranche d'âge aux brûlures.

La surface corporelle brûlée moyenne chez les patients brûlés admis à l'hôpital durant notre période d'étude était de 31,13%. On remarque que nos résultats se rapprochent à l'étude de Siah *et al*, faite au Maroc en 2009 sur 84 patients où la moyenne de la SCB était de 22,9%.

Tableau 11: La SCB des patients prélevés en fonction de l'âge.

Age \ SCB%	[0-15]	[16-40]	[41-60]	[61-plus]	Total
[0-10]	1	1	0	0	2
[10-20]	1	1	1	3	6
[>20]	7	3	0	1	11

6. Taux des patients suspects d'infection

Nous avons suspecté une infection bactérienne chez 19 patients brûlés parmi les 30 admis aux CGB, ce qui correspond à une suspicion d'infection de (63,33%).

Nos résultats se rapprochent de ceux trouvés par Lami et El Nasser en 2018, dont 676 patients atteints de brûlures ont été inclus dans son étude, ce qui représente (75%) des patients admis (Tableau 12).

Tableau 12 : Taux des patients infectés

Patients brûlés admis au CGB	Patients brûlés dont on a suspecté une infection.	Pourcentage des patients suspects d'infection %
30	19	63,33%

II. Fréquence de l'infection bactérienne chez les patients brûlés

1. Répartition des prélèvements

Chez les 19 patients brûlés, 196 prélèvements bactériologiques ont été réalisés (Figure 8).

Les brûlures représentent un terrain favorable pour la croissance et la multiplication des bactéries. Localement, elles sont bénéfiques pour la détersion de la plaie; or en excès, elles doivent être redoutées en raison de ses conséquences non seulement locales, mais aussi générales (septicémie). Alors suite aux suspicions d'infection locale ou générale, 196 prélèvements ont été effectués chez 19 patients durant les trois mois d'étude, dont 67,35% sont positifs et 29,08% sont négatifs, Rajbahak *et al.*, en 2014 ont rapporté dans une étude semblable avec un taux global de cultures positives était de 87,5% contre 12,5% sans croissance.

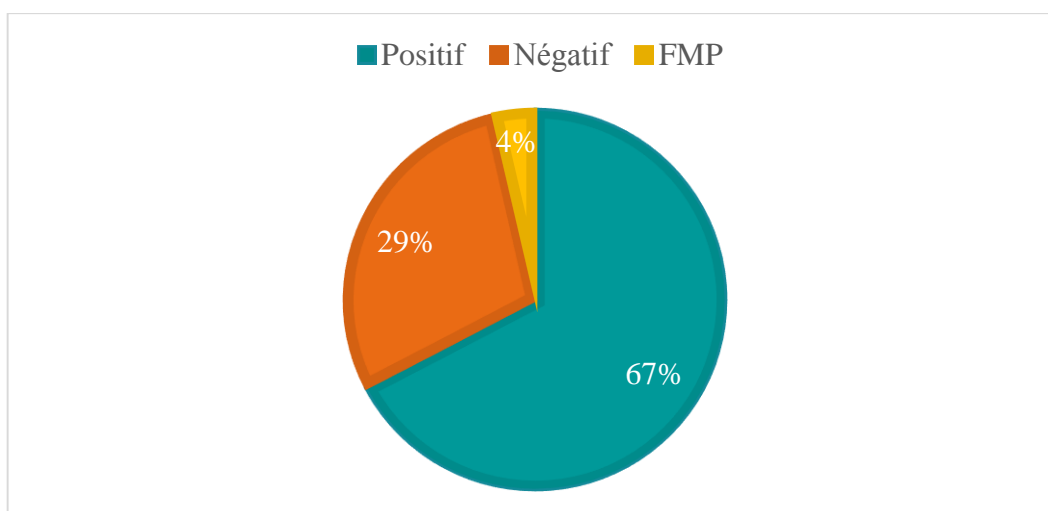


Figure 8 : Répartition globale des prélèvements réalisés chez les patients

2. Répartition des résultats positifs selon le type des prélèvements réalisés

Sur les 196 prélèvements réalisés, (67,35%) sont des prélèvements positifs dont la pratique d'écouvillonnage prédomine avec (95,45%) prélèvements. ce qui concorde avec les résultats de Carsin *et al.*, en France en 2002; Siah *et al.* en 2009; Chaibdraa et Bentakouk à Annaba en Algérie en 2008. Cette prédominance est due au fait que la peau brûlée constitue la première porte d'entrée des germes dans l'organisme, et ces prélèvements cutanés nous renseignent sur la colonisation ou l'infection du site brûlé (Figure 9).

La répartition des autres prélèvements dont l'hémoculture (04), PDP (01), et le cathéter (01) est la même trouvée par Chaibdraa et Bentakouk en 2008 (l'hémoculture (9%), prélèvement distal protégé (4%), la culture de cathéter (3%)).

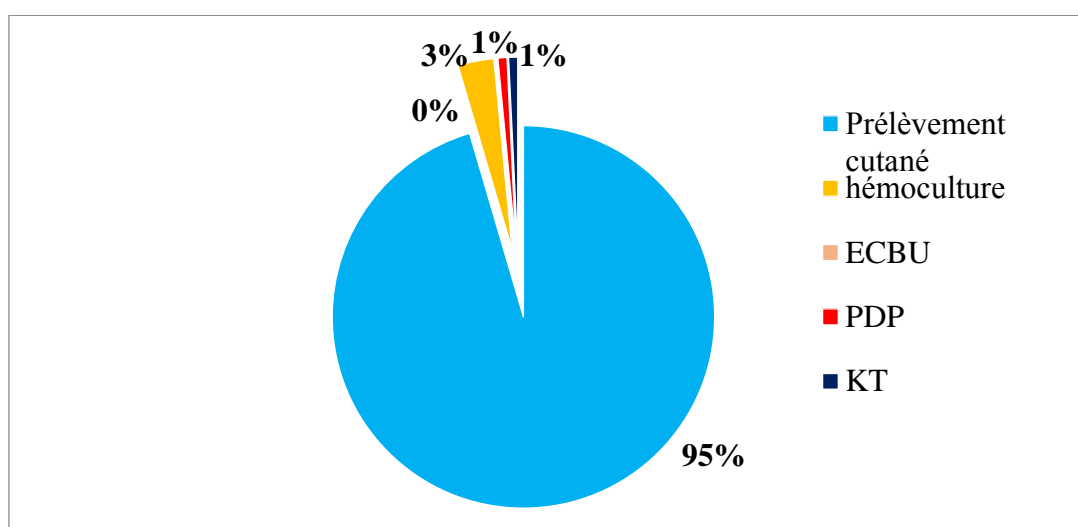


Figure 9: Répartition des résultats positifs selon le type des prélèvements réalisés

3. Répartition des souches isolées selon le type des prélèvements

Dans les 132 prélèvements positifs à partir des quels nous avons pu isoler 182 souches bactériennes incluant celles redondantes et non redondante à partir de différents types de prélèvements, dont (96,70%) des prélèvements cutanés, (2,20%) des hémocultures et (1,09%) d'autres échantillons (cathéter, PDP, ECBU), cela se rapproche à l'étude de Timurkaynak *et al.*, faite en turquie en 2008 sur 118 patients avec un taux (65,96%), (25,53%) et (8,51%), respectivement.

Ceci s'explique par la susceptibilité des brûlés aux infections par plus qu'un microorganisme à la fois, et la redondance des bactéries chez un même patient par défaut d'antibiothérapie ou colonisation du site brûlé ou même une réinfection qui est favorisée par l'étiologie du service.

Dans notre étude, aucune bactérie n'a été retrouvée après culture des urines.

Sur les 4 hémocultures positives réalisées, nous avons isolées 2 espèces d'*Acinetobacter baumannii* et 2 espèces d'*Enterococcus faecalis*.

Dans les prélèvements distaux protégés, une espèce d'*Acinetobacter baumannii* a été isolée. Alors qu'au niveau du cathéter *Staphylococcus aureus* a constitué la principale espèce bactérienne isolée, dont nous avons isolé une seule espèce.

P. aeruginosa était l'espèce la plus courante issue de la culture de brûlures dans les prélèvements cutanés, ce qui coïncide avec les travaux de Sharma *et al.*, faite en Inde en 2017 sur 50 patients, La prévalence de *Pseudomonas* dans les salles des patients brûlés peut être dû au fait que l'organisme se développe dans un environnement humide.

De point de vue nature de prélèvement, dans notre étude, à partir de 126 prélèvements cutanés positifs nous avons isolés 53 *P. aeruginosa* suivi de 35 *S.aureus*, Ces résultats concordent avec des études réalisées par Radjabhak *et al.*, en 2014, entre-temps 27 *K.peumoniae*, 23 *P.mirabilis*, 21 *E.cloacae*, 6 *Stenotrophomonas maltophilis*, 4 *A.baumannii*, 4 *P.vulgaris* et 3 *E.coli* ont été isolés par ordre de fréquences dans le même prélèvement, ces résultats ne corrèlent pas avec les travaux de Blanco *et al.* faite au Colombia en 2016 sur 402 patients et celle de Radjabhak *et al.*, en 2014.

Dans notre étude les bactériémies étaient dues principalement à *A.baumannii* (50 %). La comparaison entre nos résultats et ceux de Thabet *et al.*, en tunisia en 2013 montre qu'il y a une similitude (Figure 10).

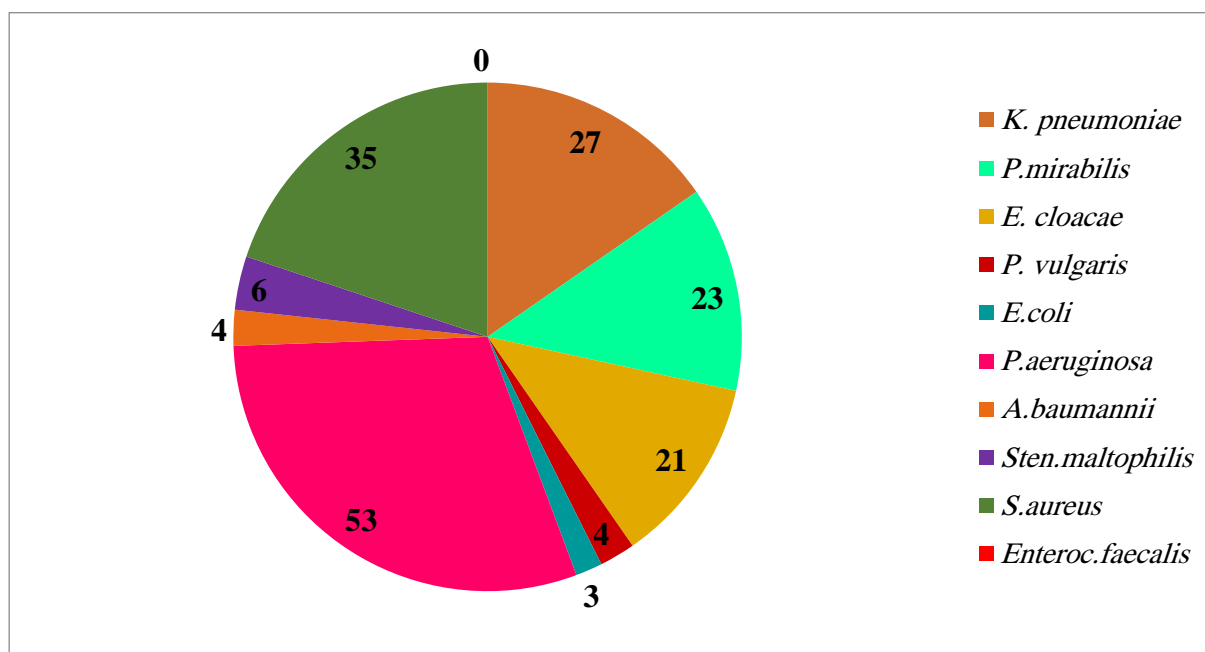


Figure 10 : Répartition des souches isolées dans les prélèvements cutanés

4. Répartition des résultats positifs selon le type de bactérie

Dans nos résultats ainsi que d'autres trouvés par Sharma *et al.*, en 2017 et Ekrami et Kalantar en Iran en 2007 sur 182 patients, *Pseudomonas aeruginosa* (29,12%) et *Staphylococcus aureus* (19,78%) sont les bactéries les plus incriminées dans les infections bactériennes chez les brûlés. Tredget mentionne dans ses travaux que le bacille pyocyanique survit facilement dans l'environnement aquatique suite à leurs faibles besoins en nutriments exogènes, d'où l'avantage des pansements au lit. (Ekrami et Kalantar, 2007)

Klebsiella pneumoniae (14,84%) occupe la 1^{ère} place des entérobactéries, suivie principalement par *Proteus mirabilis* (12,63%) et *Enterobacter cloacae* (11,53%). Cette prédominance de *K. pneumoniae* a été marquée dans les résultats de Wardhana *et al.*, 2017 sur 36 patients (17/47 des BGN) et Qader et Muhamad en Iraq en 2010 à propos de 760 cas (15/21 des entérobactéries) (Figure 11).

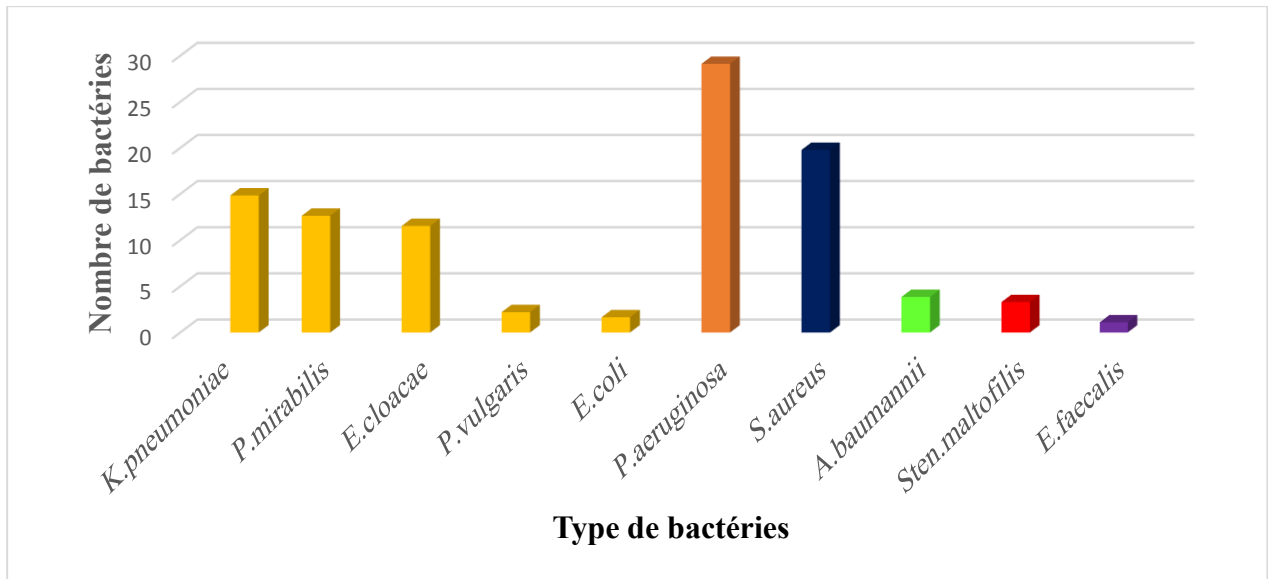


Figure 11 : la répartition des résultats positifs selon le type de bactéries

5. Périodes d'isolements des bactéries chez les brûlés infectés à partir de l'admission

La période d'isolement la plus fréquente durant notre étude est la 3^{ème} semaine avec un taux de 68,68% de bactéries isolées, ce qui corrèle avec l'étude de Wanis *et al.*, au Canada en 2015 sur 163 patients où ils ont trouvé une fréquence d'isolement de 56,50% dans la 3^{ème} semaine (Figure 12).

Ceci s'explique par les germes réisolés à partir de la 3^{ème} semaine chez les patients reçu directement au CGB après la brûlure (brûlures fraîches).

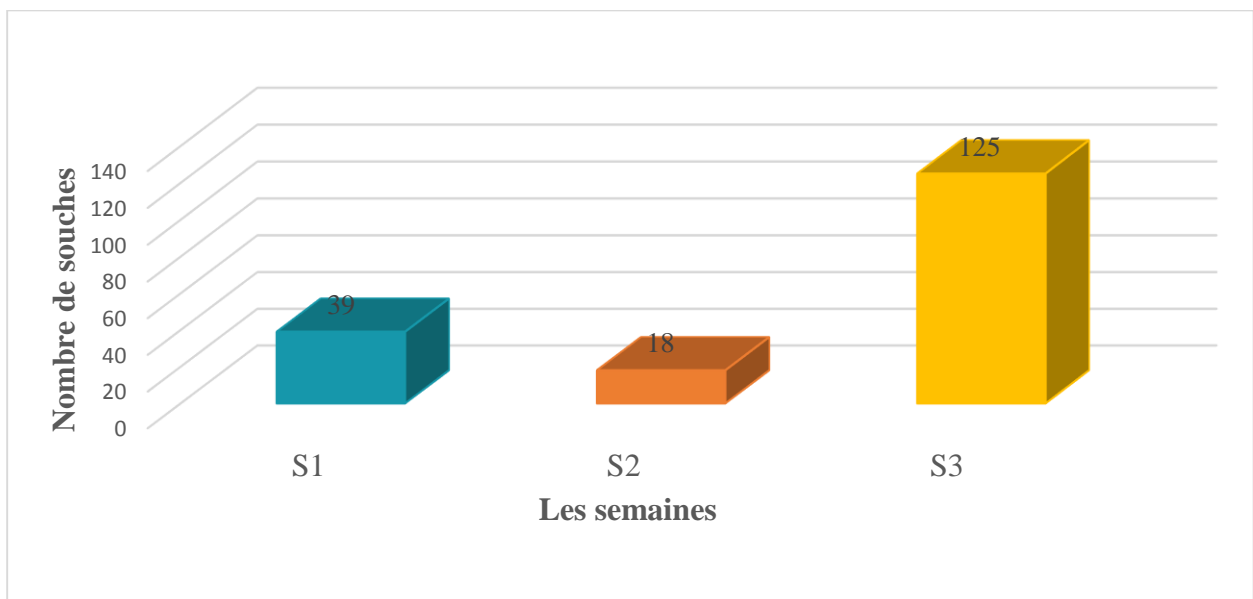


Figure 12 : Périodes d'isolement des souches

Résultats et discussion

Les brûlés transférés au centre des grands brûlés, ont eu généralement leurs accidents 2 à 3 semaines avant leur évacuation.

Les *Enterobacteriaceae* sont les isolats les plus prévalent lors de la culture de la 1^{ère} semaine 22(28,21%) et la 3^{ème} semaine (55,13%). Ceci corrèle avec l'étude de Wanis *et al.*, en 2015 dont la fréquence d'isolement était 18,27% pour la 1^{ère} semaine et 48,22% pour la 3^{ème} semaine. Par contre les fréquences de la 2^{ème} semaine étaient significativement différentes (33,50%), ce qui ne correspond pas à nos résultats (16,66%). Cela s'explique par le manque de règles d'hygiène dans les structures hospitalières d'où proviennent ces brûlés.

Parmi les *P. aeruginosa* et les *S. aureus* recensés, respectivement 10 (18,87 %) et 05 (13,88%) sont isolés la 1^{ère} semaine, contre 39 (73,58%) et 31 (86,11%) au-delà de 14 jours. Ces données corroborent avec les travaux de Chaibdraa et Bentakouk en 2008. Il y a eu une diminution du nombre dans la 2^{ème} semaine (7,55%); (0%), respectivement. Cette constatation contraste avec les études de Rajbahak *et al.*, en 2014. Mais *P. aeruginosa* 39 (73,58%) reste la souche bactérienne prédominante de la 3^{ème} semaine, ce qui est similaire dans l'étude de Wanis *et al.*, en 2015 avec un taux de (82,07%) (Figure 14). Ceci s'explique par le risque d'infections nosocomiales représenté par ces deux germes pour les brûlés dont la SCB% est très grande et le brûlé ne peut pas s'échapper à ce type d'infection après une longue durée d'hospitalisation (Figure 13).

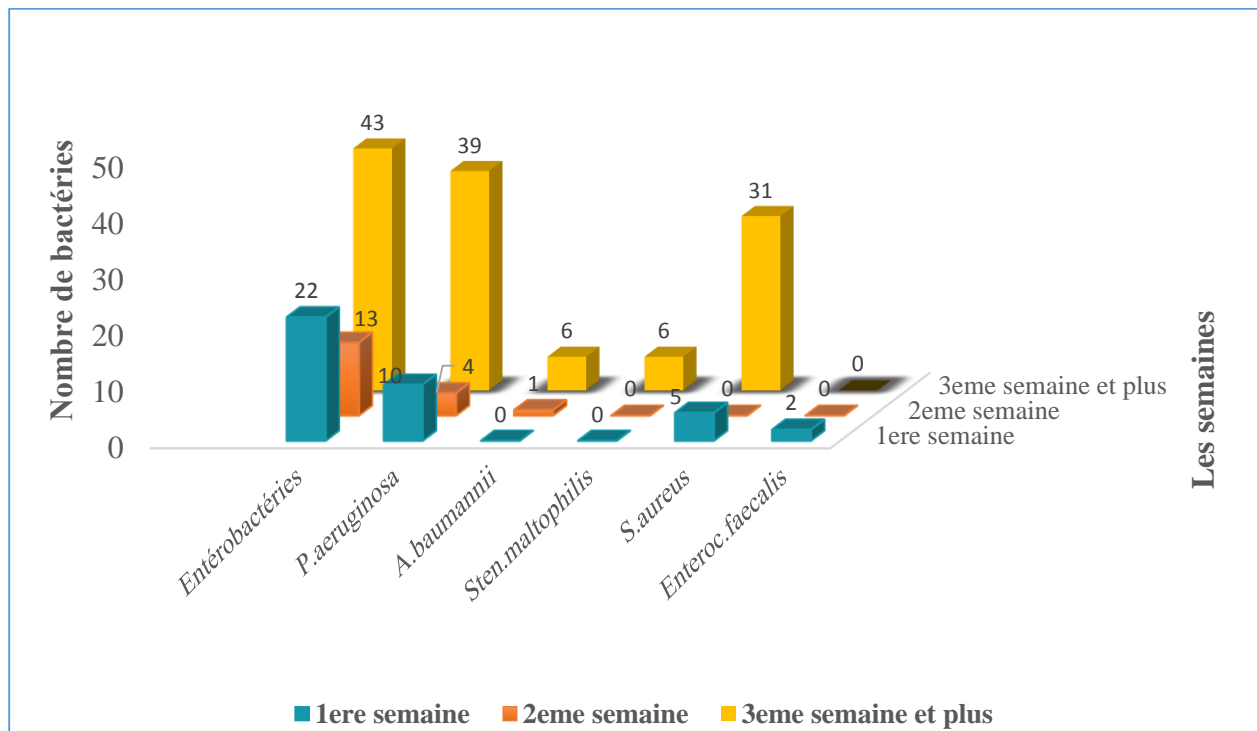


Figure 13 : Périodes d'isolements des bactéries chez les brûlés

6. Profil de résistance globale des entérobactéries aux antibiotiques

K. pneumoniae et *E. cloacae* présentent une résistance totale à l'acide amoxicillique, cela se rapproche aux résultats trouvés par Essayagh *et al.*, au Maroc en 2014 sur 58 patients, qui ont montré une résistance de (77%), (82%) respectivement.

Le taux de *Klebsiella pneumoniae* résistant à la ceftazidime est passé de 80,4% à 50% (Thabet *et al.*, 2013), par contre chez nous *K. pneumoniae* présente une résistance totale à la ceftazidime (100%).

Selon l'étude faite au Sud d'Afrique par Bahemia *et al.*, en 2015 sur 352 patients, les taux de résistance à la ceftazidime sont 10,53%, 12%, 29,41% et 33,33% pour *K.pneumoniae*, *E.cloacae*, *P.mirabilis* et *E.coli*, respectivement par ordre de fréquences sont en discordance avec notre étude (100%, 28,57%, 21,73%, 0%).

La résistance d'*E.coli* à l'AMC, FOX et CTX est due à l'acquisition d'un mécanisme de résistance aux β -lactamines par la production soit d'une BLSE ou une CHN.

L'épidémie d'*E.cloacae* avec les gènes AmpC dans les salles de brûlés pourraient être responsable de la résistance des Bacilles à Gram négatif aux céphalosporines de troisième génération. (Xiao et Xu, 2014).

D'après l'analyse faite par Sharma *et al.*, en 20 le taux de résistance à l'imipénème par *K.pneumoniae* était inférieure (21,7%) à celle retrouvée dans notre étude (88,88%). Par contre *Proteus* ne présente aucune résistance vis-à-vis l'imipénème ce qui concorde avec nos résultats.

Ainsi pour *E. cloacae* ne présente aucune résistance à l'imipénème ce qui est similaire à l'étude de Essayagh *et al.*, en 2014.

Selon Sharma *et al.*, en 2017 l'amikacine, un aminoglycoside de deuxième génération, s'est avéré efficace contre *E. coli* (0%) et *Klebsiella* (8,4), mais non efficace sur *Proteus* (66,7%), ces données sont compatibles à nos résultats pour *E.coli*, mais pas pour *Klebsiella* et *Proteus* où les fréquences de résistances diffèrent.

Pour *P.mirabilis* le taux de résistance à l'amikacine est (21,74%), aucune corrélation significative avec l'étude de Bahemia *et al.*, en 2015 où il était 5,88%.

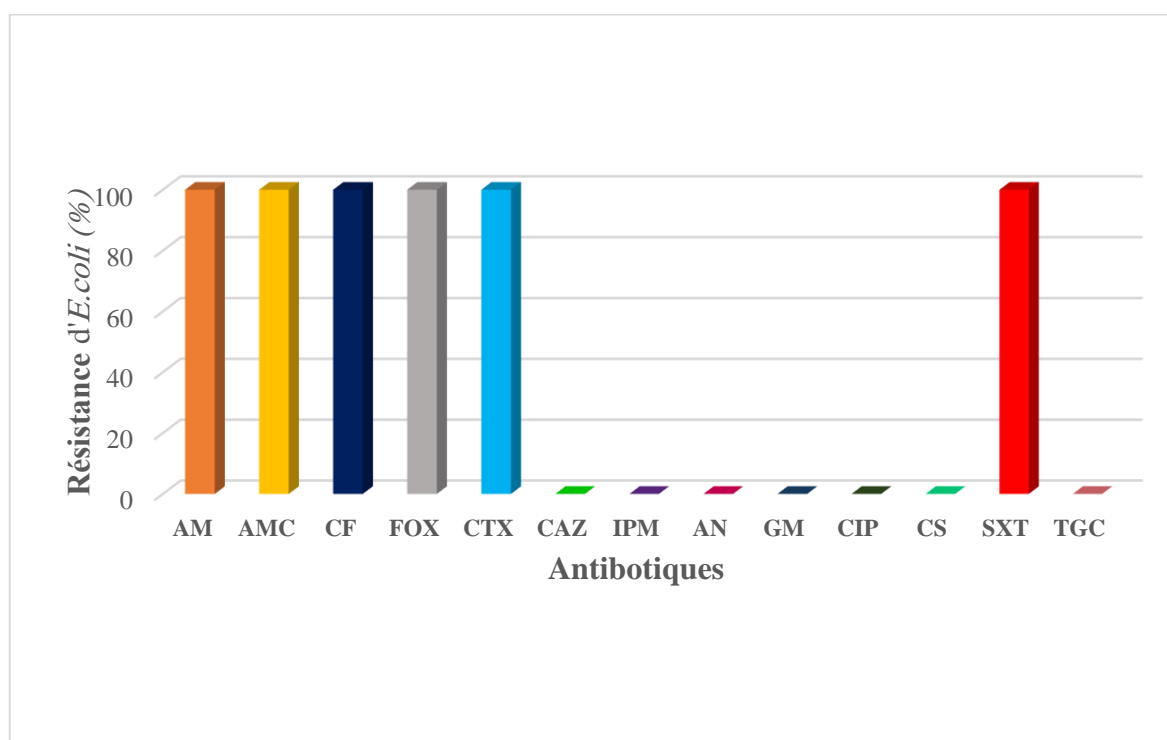
Par contre pour la TGC la résistance est totale malgré que c'est une molécule récente.

Résultats et discussion

La résistance d'*E. Cloacae* et de *K.pneumoniae* vis-à-vis la ciprofloxacine et le sulfaméthoxazole triméthoprimine dans notre étude est (0%), (66,66%), respectivement. Ceci est sensiblement confirmé dans l'étude d'Essayagh *et al.*, en 2014 avec des taux (0%), (69%).

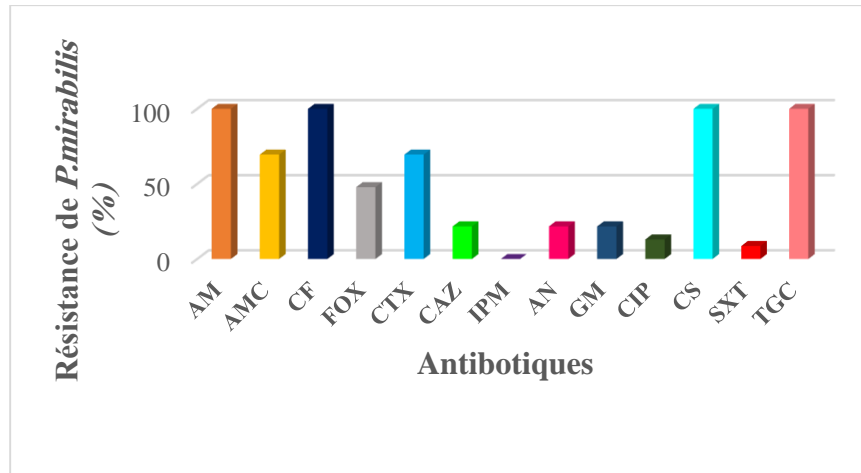
Pour la colistine nos résultats montrent une résistance totale (100%) pour *Proteus* et un taux de 29,63% pour *K. pneumoniae*, ce qui diffère à l'étude faite par Sharma *et al.*, en 2017 montrant un taux de 33,3% pour *Proteus* et 66,7% pour *K. pneumoniae* (Figure 14).

Une forte résistance pratiquement à tous les antibiotiques a été constatée chez *K. pneumoniae*, cela est dû à l'utilisation abusive des antibiotiques chez les brûlés transférés des autres structures hospitalières.

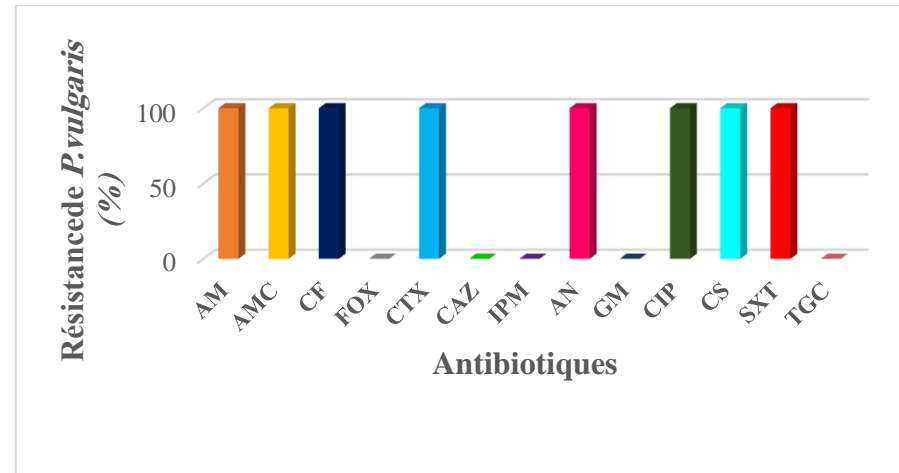


(a)

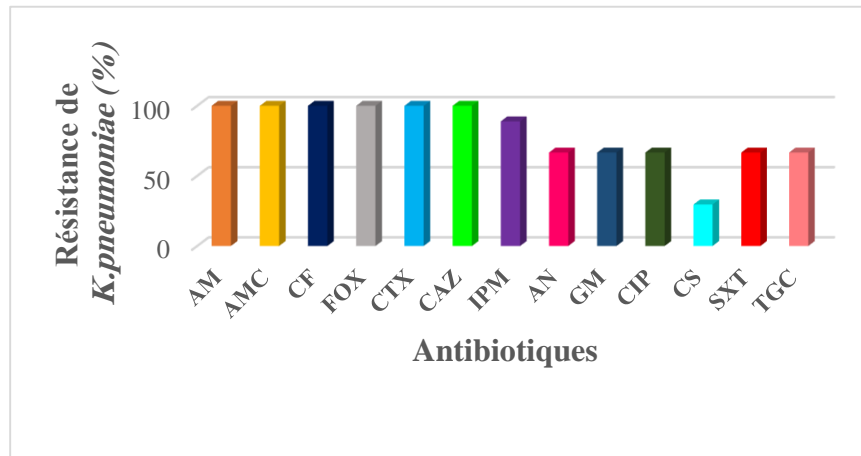
Résultats et discussion



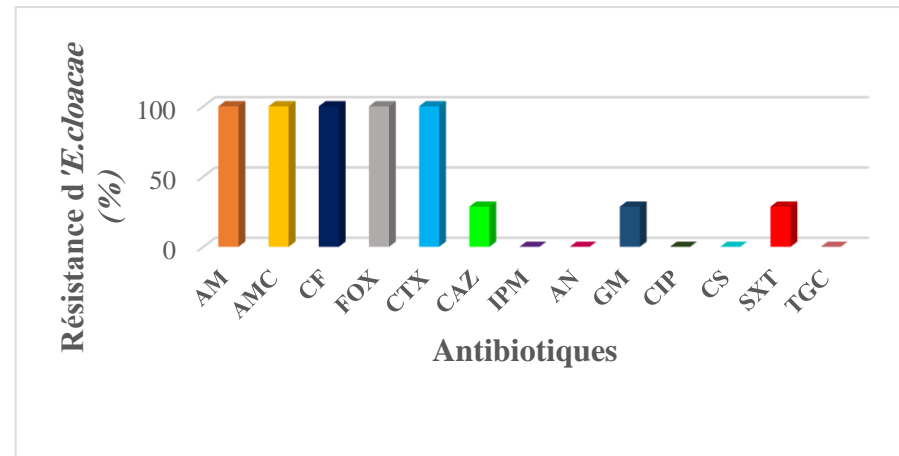
(b)



(c)



(d)



(e)

Figure 14: Profil de résistance globale des entérobactéries aux antibiotiques (a, b, c, d, e)

7. Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

Selon Ekrami et Kalantar en 2007, *P. aeruginosa* s'est avéré résistant à 100% à l'amikacine, à la gentamicine, à la ciprofloxacine ce qui disconcorde avec nos résultats dont on a trouvé une résistance à 81% pour la GM et 39% pour l'AN et CIP.

Cette résistance peut être due à la capacité de *Pseudomonas* à s'adapter à l'environnement hospitalier ou à un traitement inadéquat (Figure 15).

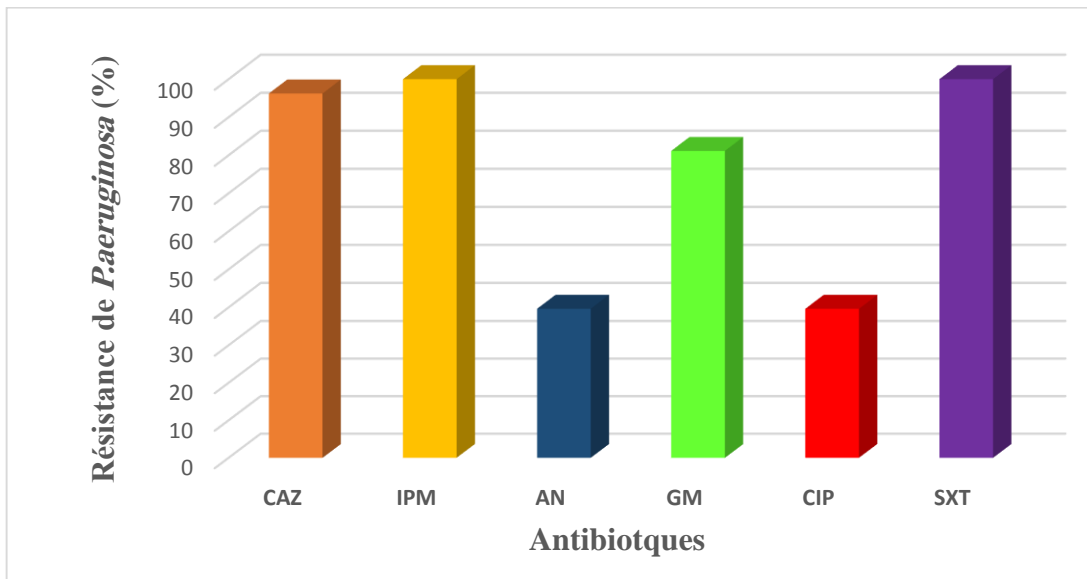


Figure 15: Profil de résistance de *P.aeruginosa* aux différents antibiotiques

8. Profil de résistance d'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques

A.baumannii présente une résistance à 100% aux ceftazidimes et aux imipénèmes, cela se rapproche aux résultats trouvés par Thabet *et al.*, en 2013 (92,7% ; 89,3% respectivement), On a trouvé une résistance totale pour GM, SXT et AN. Ceci se rapproche des résultats trouvés par Essayagh *et al.*, en 2014 où ils ont trouvé 78% (GM, SXT) et 64% pour l'AN. Cela est dû à l'utilisation abusive des antibiotiques et à la sélection rapide des mutants (Figure 16).

Selon l'étude faite en Chine par Xiao et Xu en 2015 sur 157 patients *Acinetobacter baumannii* est capable de produire un métalloenzyme responsable à la résistance des souches au centre des grands brûlés de l'hôpital de Ruijin .

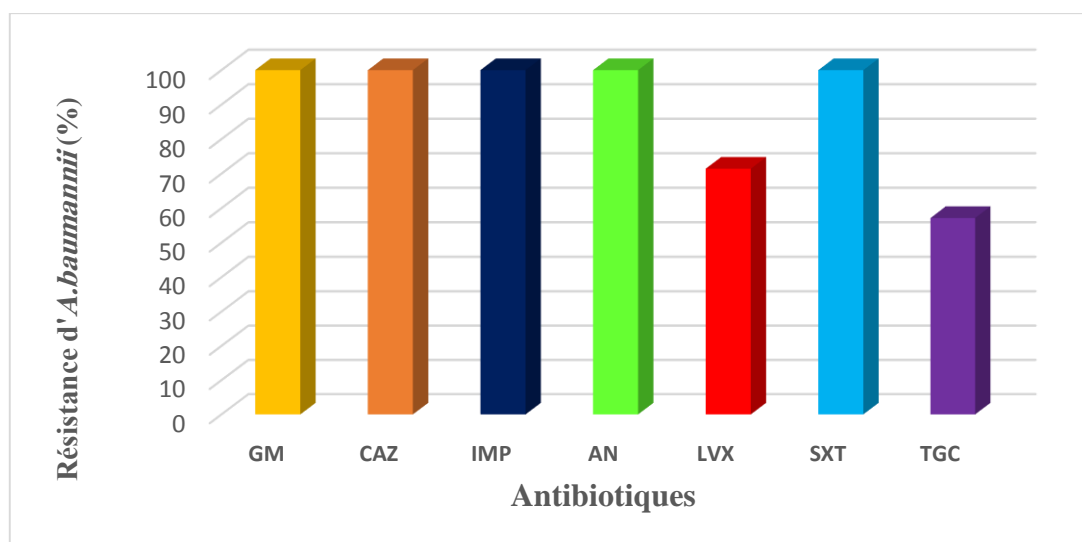


Figure 16: Résistance d'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques.

9. Profil de résistance de *Stenotrophomonas maltophilia* aux antibiotiques

Stenotrophomonas maltophilia présente une résistance naturelle à tous les bêta-lactamine. Ce résultat a été trouvé aussi par Xiao et Xu en 2015 dont *Stenotrophomonas maltophilia* est résistante, à un large spectre d'antibiotiques, y compris les β -lactamines, les quinolones et les aminosides.

10. Profil de résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

Les patients brûlés étaient le plus souvent infecté par *S. aureus* et ils étaient résistants à la plupart des antibiotiques testés (Ekrami et Kalantar, 2007).

Le profil de résistance aux antibiotiques de *S. aureus* a montré que toutes les souches étaient sensibles à la vancomycine (100%), ce qui concorde avec les résultats trouvés par Rajabhak *et al.*, en 2014.

En corrélation avec l'étude d'Ezzoubi *et al.*, au Maroc en 2004 sur 35 patients, les souches de *S. aureus* identifiées ont montré une résistance totale (100%) aux Pénicilline et à l'Oxacilline.

Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées ont présenté un taux de résistance de (94,4%) pour la gentamycine. Ces résultats sont proches à ceux trouvés en Iran par Ohadian Moghadam *et al.*, en 2014 avec une fréquence de (71,8%).

Cette résistance est largement élevée par rapport à celle retrouvée en Tunisie elle est de (35,5%) (Tilouche *et al.*, 2017).

Selon Ohadian Moghadam *et al.*, 2014 les souches de *S.aureus* étaient résistantes à la tétracycline avec un taux de (10%) ce qui ne concorde pas avec notre étude (80,55%).

Dans notre étude (77,77%) de *S.aureus* étaient résistantes au ciprofloxacine cela se rapproche de l'étude précédente (Ohadian Moghadam *et al.*, 2014) (Figure 17).

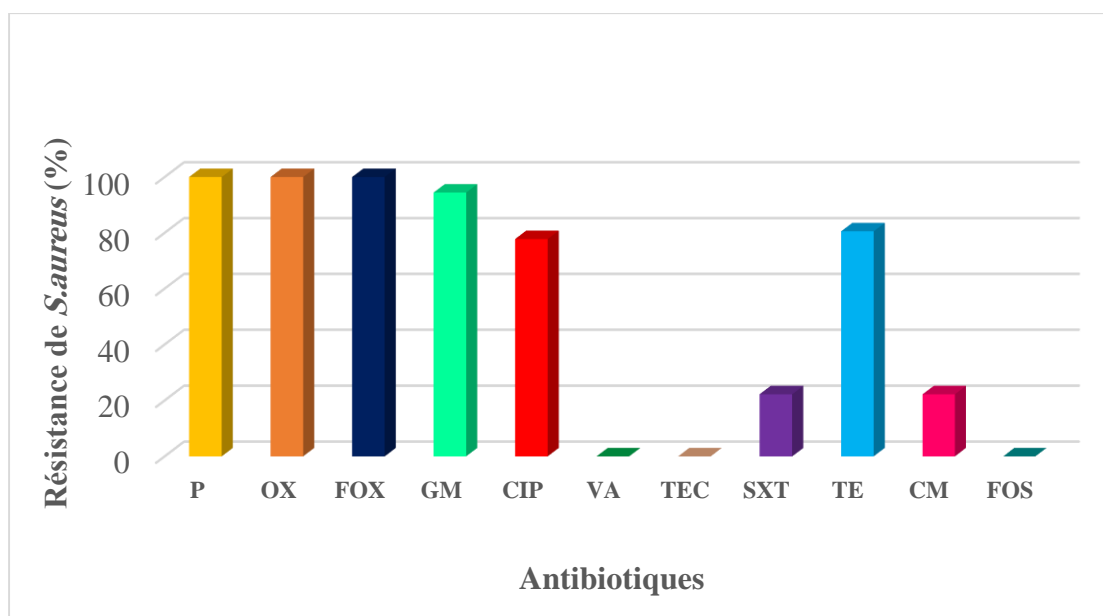


Figure 17 : Résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

11. Phénotype de résistance des bactéries isolées aux antibiotiques (*Staphylococcus aureus* méticillino-résistant (SARM))

La prévalence du SARM (*S. aureus* résistant à la méthicilline) dans notre étude est totale (100%), ce qui rend le traitement par les β -lactamines impossible. Ces résultats corrélerent avec ceux de Xiao et Xu en 2015 (73%). Contrairement à l'étude de Sharma *et al.*, en 2017 et les travaux faites par Ekrami et Kalantar en 2007 qui montre un taux de (40%) et (58%), respectivement.

Les SARM sont les souches de *S.aureus* portant un gène *mecA*, qui code pour la protéine supplémentaire de liaison à la pénicilline, PLP2a. (Gnanamani *et al.*, 2016) (Tableau 13)

Tableau 13: Phénotype de résistance des bactéries isolées aux antibiotiques (SARM)

<i>Staphylococcus aureus</i>	SARM	SASM	Total
Nombre de bactéries isolées (%)	36	00	36

12. Les BMR du *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii s'est révélée résistante à de nombreuses familles d'antibiotiques. Le premier fait marquant de notre étude est le taux de résistance élevé de nos souches aux Céphalosporines de troisième génération (Céftazidime) et aux Carbapénèmes (Imipénème), dont le taux est de (100 %). Ce taux dépasse celui d'une étude tunisienne (92,7 %) faite par Thabet *et al.*, en 2013. alors que les 51 souches de *P.aeruginosa* présentent une multirésistance de 96,23% à l'imipénème et la ceftazidime (CAZ), ainsi un taux de 81% à la gentamicine; ces résultats sont élevés par rapport à ceux de Siah *et al.*, en 2009 dont les deux espèces étaient multirésistantes à 60%. Cela montre l'émergence accrue des BMR au sein du service des grands brûlés (Figure 18).

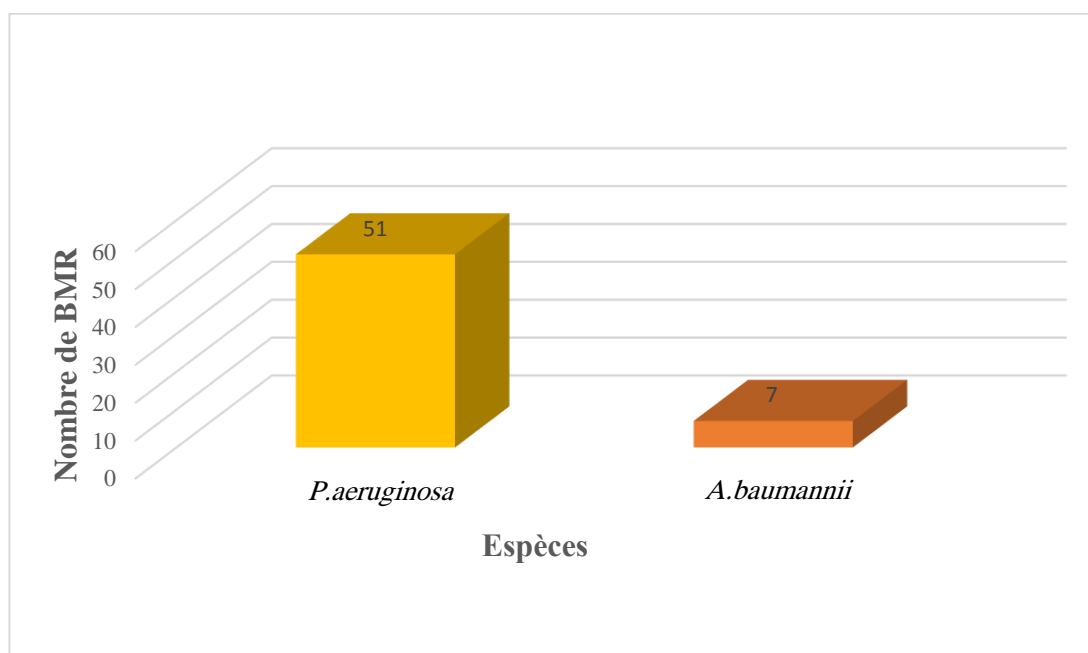


Figure 18 : Les BMR du *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*

Conclusion

L'infection bactérienne est la principale cause de décès chez les brûlés, elle représente un véritable problème de santé publique dans le monde. Du fait de la gravité des infections chez ces patients, leur prévention est un paramètre essentiel de la prise en charge.

Durant notre travail nous avons analysé 196 prélèvements dont 132 se sont révélés positifs. Nous avons isolé 182 souches dont la majorité provient des prélèvements cutanés. Les souches isolées appartiennent à 9 espèces bactériennes.

Pseudomonas aeruginosa est l'espèce la plus dominante avec 53 souches isolées, puis viennent *S. aureus* (36 souches), *K. pneumoniae* (27 souches), *P. mirabilis* (23 souches), *E. coli* (21 souches), d'autres espèces ont été isolées avec des fréquences allant de 2 à 7 souches dont *A. baumannii* avec 7 souches.

Nous rapportons une fréquence élevée de résistance aux principales familles d'antibiotiques testés notamment vis-à-vis de certains genres incriminés. L'*Acinetobacter* reste le germe le plus résistant aux antibiotiques y compris les carbapénèmes. En effet, toutes les souches d'*A. baumannii* étaient résistantes à la ceftazidime, à l'imipénème et à la gentamicine.

Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées ont présenté des taux de résistance à la méticilline, à la gentamicine et à la tétracycline évalués respectivement à 100 %, 94,4 % et 80,55%. Aucun cas de résistance aux glycopeptides (vancomycine) n'a été détecté. En ce qui concerne les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, une résistance à la ceftazidime et à l'imipénème ont été notées avec des taux de 96% et 100%, respectivement. La ciprofloxacine, la gentamicine et l'amikacine ont été inefficaces respectivement dans 39 %, 81% et 39 % des cas.

Pendant la période de notre étude, nous avons observé des taux de résistance élevés chez les *Entérobactéries* aux principales classes d'antibiotiques, dont *Klebsiella pneumoniae* présente une résistance aux céphalosporines de troisième génération et aux carbapénèmes. Par contre *Proteus mirabilis* ne présente aucune résistance vis-à-vis l'imipénème, mais une résistance a été notée aux ceftazidime, à la tigécycline avec des taux 21,73%, 78,26% respectivement.

Une fréquence alarmante de souches multirésistantes aux antibiotiques est à signaler. En effet, le taux de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) est de 100 %,

Conclusion

toutes les espèces d'*A.baumannii* sont des BMR, le taux de *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime et celui résistant à l'imipenème (BMR) est de 96,23%.

Cette étude ouvre de nombreuses perspectives :

- l'amélioration des méthodes de diagnostic de l'infection bactérienne chez les brûlés dont la biopsie cutanée reste la préoccupation de notre séjour au sein du CGB.
- la standardisation des nouvelles méthodes de prise en charge des brûlés à l'échelle nationale est primordiale pour éviter l'infection et l'émergence des bactéries multi-résistantes chez les patients brûlés qui demeurent la première cause de décès.

Annexe 1 : Matériel non biologique

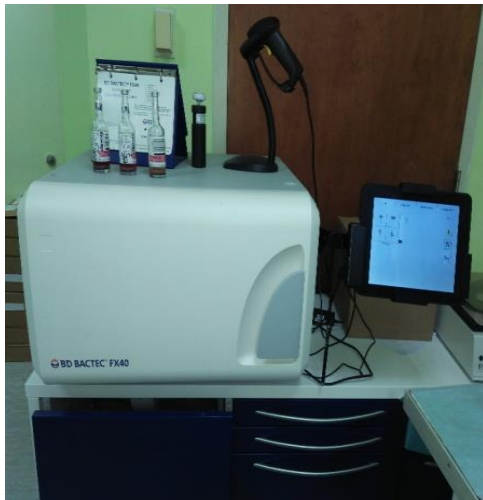


Figure 1: Incubateur à hémoculture



Figure 2: BD phoenix (100)

Matériel non biologique	
Matériel utilisé	
Pipettes pasteur, micropipette, embouts, anse de platine, écouvillons, poire, lame, lamelle, cellule de malassez, bec bunsen, bac de javel, tube sec, aiguille, BD Bactec, gants stériles, compresse, incubateur (étuve), portoir, papier joseph, papier filtré, microscope, huile d’immersion, galerie Api20 E et Api10s, pince bactériologique, pied à coulisse, densitomètre, l’eau physiologique, cassette PMIC et NMIC, support, BD phoenix, la jarre, bougie, champs stérile, Bistouri, balance, pot stérile, centrifugeuse, réfrigérateur.	
Milieu de culture	
Solide	Liquide
Gélose nutritive, Gélose au sang cuit, chromagar, Muller Hinton, Hektoen	Flacons d’hémoculture, bouillon nutritif, ID, AST, sérum de lapin (coagulase).
Réactifs de révélation	
VP1, VP2, TDA, Kovacs, huile de paraffine (vaseline), H ₂ O ₂ , disque d’oxydase ou la solution, disques d’antibiotiques, E-test, indicateur, violet de gentiane, lugol, alcool à 95°, fuchsine, bleu de méthylène, formol.	

Annexe 2 : Fiche de renseignement

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de la Défense Nationale.

Première Région Militaire, Hôpital Central de l'Armée, Dr Mohamed Seghir Nekkache.

Service des Grands brûlés.

Chef de Service Pr M. Metref.

Laboratoire de microbiologie.

Fiche de renseignements pour analyse microbiologique.

Nom : Prénom (s) :

Date de naissance : / / Sexe de patient : [M] [F]

Malade : Hospitalisé [] Externe [] Provenance : Transfert []

Hôpital [] Unité [] Domicile []

Description de la brûlure :

Date de l'accident : / / Date d'admission : / /

Type de l'accident : Domestique [] Professionnel [] Balistique [] Autolyse []

Mécanisme de la brûlure : Flamme [] Ebouillantage [] Electrique [] Chimique []

Indéterminé []

SCB : % Surface brûlée profonde :

Siège :

Aspect de la lésion brûlée :

Lésions associées :

Renseignements cliniques et biologique :

Infection à l'admission : oui / non

Type de l'infection : Cutanée [] Pulmonaire [] Urinaire [] Cathéter central [] Bactériémie []
Septicémie []

Autres type d'infection :

Gestes susceptibles de provoquer une infection :

Intubation : oui / non sondage urinaire : oui / non sondage gastrique : oui /
non cathétérisme : central [] artériel []

Brûlures mictionnelles : oui / non Fièvre : oui / non à°C

Antibiothérapie déjà entamée : oui / non

Type de l'antibiothérapie : prophylactique [] curative []

Nom de l'antibiotique :

Durée de l'antibiothérapie :

le(s) prélèvement(s) :

Date et heure de prélèvement : / / à h.

La nature de (des) prélèvement (s) : Biopsie cutanée [] Ecouvillonnage cutané []

Hémoculture [] UCBU [] PDP [] Cathéter []

1. Ecouvillonnage cutané :

Nombre des écouvillons :

Site (s) de prélèvement :

Tête [] Cou [] Visage [] Thorax [] Ventre [] Dos [] Fesses []

Bras droit [] Bras gauche [] Avant-bras droit [] Avant-bras gauche [] Main droite []

Main gauche [] Jambe droite [] Jambe gauche [] Cuisse droite [] Cuisse gauche []

Pied droit [] Pied gauche []

2. Hémoculture : Nombre de flacons : 2

Le médecin demandeur :

Annexe 3: Les tables de lecture

Les antibiotiques testés contre les bactéries incriminées chez les brûlés selon les recommandations du fascicule de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale version 2014.

Table de lecture 1 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour Entérobactéries.

Pour tous les BGN la colistine est testée en CMI par bandelettes E-test ou par automate

BGN	R	S
Colistine (CS)	≤1µg/ml	>1µg/ml

Antibiotiques testés	Abréviation	Charge des disques en (µg)	Diamètres critiques en (mm)		
			R	I	S
Ampicilline	AMP	10	≤13	14-16	≥17
Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	20/10	≤13	14-17	≥18
Céfazoline	CZ	30	≤19	20-22	≥23
Céfalotine	CF	30	≤14	15-17	≥18
Céfoxitine	FOX	30	≤14	15-17	≥18
Céfotaxime	CTX	30	≤22	23-25	≥26
Céftazidime	CAZ	30	≤17	18-20	≥21
Aztréonam	ATM	30	≤17	18-20	≥21
Imipénème	IPM	10	≤19	20-22	≥23
Ertapénème	ERT	10	≤18	19-21	≥22
Amikacine	AN	30	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	GN	10	≤12	13-14	≥15
Acide nalidixique	NA	30	≤13	14-18	≥19
Ciprofloxacine	CIP	5	≤15	16-20	≥21
Chloramphénicol	C	30	≤12	13-17	≥18
Fosfomycine	FOS	200	≤12	13-15	≥16
Triméthoprim + sulfaméthoxazole	SXT	1.25/23.75	≤10	11-15	≥16

Annexe

Table de lecture 2 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotiques testés	Abréviation	Charge des disques en (µg)	Diamètres critiques en (mm)		
			R	I	S
Ticarcilline	TIC	10	≤13	14-16	≥17
Ticarcilline + acide clavulanique	TCC	75	≤15	16-23	≥24
Pipéracilline	PIP	100	≤14	15-20	≥21
Céftazidime	CAZ	30	≤14	15-17	≥18
Aztréonam	AZM	30	≤15	16-21	≥22
Imipénème	IPM	10	≤15	16-18	≥19
Amikacine	AN	30	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	GM	10	≤12	13-14	≥15
Nétilmicine	NET	30	≤12	13-14	≥15
Tobramycine	TOB	10	≤12	13-14	≥15
Ciprofloxacine	CIP	5	≤15	16-20	≥21
Lévofloxacine	LVX	5	≤13	14-16	≥17

Annexe

Table de lecture 3 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Acinetobacter spp.*

Antibiotiques testés	Abréviation	Charge des disques en (µg)	Diamètres critiques en (mm)		
			R	I	S
Ticarcilline	TIC	75	≤14	15-19	≥20
Ticarcilline + acide clavulanique	TCC	75/10	≤14	15-19	≥20
Pipéracilline	PIP	100	≤17	18-20	≥21
Céftazidime	CAZ	30	≤14	15-17	≥18
Imipénème	IPM	10	≤18	19-21	≥22
Amikacine	AN	30	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	GN	10	≤12	13-14	≥15
Tobramycine	TOB	10	≤12	13-14	≥15
Ciprofloxacine	CIP	5	≤15	16-20	≥21
Lévofloxacine	LVX	5	≤13	14-16	≥17
Doxycycline	DOX	30	≤ 9	10-12	≥13
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole	SXT	1.25/23.75	≤10	11-15	≥16

Annexe

Table de lecture 4 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus*.

Antibiotiques testés	Abréviation	Charge des disques en (µg)	Diamètres critiques en (mm)		
			R	I	S
Gentamycine	GN	10	≤ 12	13-14	≥ 15
Kanamycine	K	30	≤ 13	14-17	≥ 18
Amikacine	AN	30	≤ 14	15-16	≥ 17
Erythromycine	E	15	≤ 13	14-22	≥ 23
Clindamycine	CM	2	≤ 14	15-20	≥ 21
Teicoplanine	TEICO	30	≤ 10	11-13	≥ 14
Ofloxacine	OFX	5	< 14	15-17	> 18
Ciprofloxacine	CIP	5	< 15	16-20	> 21
Lévofloxacine	LVX	5	< 15	16-20	> 21
Triméthopriime +Sulfaméthoxazole	SXT	1.25/23.75	< 10	11-15	> 16
Rifampicine	RA	5	< 16	17-19	> 20
Tétracycline	TE	30	< 14	15-18	< 19
Chloramphénicol	C	30	< 12	13-17	< 18
Acide fusidique	FA	10	< 24	≥ 24

L'oxacilline est testé en CMI par bandelettes E-test ou par automate.

<i>Staphylococcus aureus</i>	R	S
Oxacilline	≤ 25 µg/ml	> 25 µg/ml

Référence bibliographique

- **Adjeneq S., Boulefrakh N et Chaouche K. (2017).** Prise en charge initiale d'un enfant brûlé. Mémoire de fin d'étude, Faculté de médecine, département des sciences infirmières, Université Abderahmane Mira, Bejaia, 80.
- **Agnihotri N., Gupta V & Joshi R.M. (2003).** Aerobic bacterial isolates from burn wound infections and their antibiograms a five-year study. 30, 241-243.
- **Alp E., Coruh A., Gunay G K., Yontar Y & Doganay M. (2012).** Risk Factors for Nosocomial Infection and Mortality in Burn Patients: 10 Years of Experience at a University Hospital. *Journal of Burn Care & Research (the American Burn Association)*, 33 (3), 379-385.
- **Amartin E. (2016).** Flore cutané normale. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Lille 2, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, 1-77.
- **Ameur F. (2017).** La prise en charge des brûlures. mémoire de master. Spécialité soins pré hospitalière et gestion des urgences Vitales, Université Abd Elhamide Ibn Badis, Mostaganem, 84.
- **Belba M. K., Petrela E. Y., Belba A. G. (2013).** Epidemiology of infections in a burn unit. *Science direct Burns*, 39, 1456-1467.
- **Bahemia I.A., Muganza A., Moore R., Sahid F & Menezes C.N. (2015).** Microbiology and antibiotic resistance in severe burns patients: A 5 year review in an adult burns unit. *Burns*, 1-7.
- **Bakkali H., Ababou K., Bellamari H., Ennouhi A., Nassim Sabah T., Achbouk A., Moussaoui A., Fouadi F. Z., Siah S et Ihrari H. (2009).** La prise en charge des brûlures électriques : à propos de 30 cas. *Ann Burns Fire Disasters*, 22 (1), 33-36.
- **Bargues L., Boyer S., Leclerc T., Duhamel P & Bey E. (2009).** Incidence et microbiologie des complications infectieuses lors d'utilisation de la peau artificielle Integra chez le brûlé. *Annales de chirurgie plastique esthétique*, 54, 533-539
- **Benrahal F ép. Taleb. (2012).** Bride du coude séquelles de brûlures. Thèse de doctorat, spécialité de chirurgie plastique, université d'Oran.176
- **Bergogne-Berezin E., Fiedman H & Bendinelli M. (2008).** *Acinetobacter* Biology and pathogenesis. In Springer (ed.). *Infectious Agents and Pathogenesis of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev*, 21, 538-582.

Référence bibliographique

- **Bergon L. (2016).** *S. capitis, S. caprae et S. lugdunensis* : rôle dans les infections ostéo articulaires et impact du biofilm sur la sensibilité aux antibiotiques. Thèse de Doctorat en Biologie médicale, université toulouse III paul sabatier, Faculté des sciences pharmaceutiques, 1-86.
- **Blanco C., Ramirez-Rivero C., Martinez L & Sosa-Avila L. (2016).** Infection in burn patients in a referral center in Colombia. 1-12.
- **Boivin S., Caux C., Soucy C & Allard A. (2016).** Les entérobactéries productrices de carbapénémases, 13 (05), 53-56.
- **Borders D-B. (2007).** Antibiotics Survey. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 1-16.
- **Cantais E., Goutorbe P., Asencio Y., Montcriol A et Meudre-Desgouttes E. (2007).** Réanimation et anesthésie du brûlé chez l'adulte. *Anesthésie-Réanimation*, 1-14.
- **Carsin H., Bargues L., Stéphanazzi J., Paris A., Aubert P et Le Béver H. (2002).** Réaction inflammatoire et infection chez le brûlé grave. *Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS*, 93-101.
- **Chaibdraa A et Bentakouk M.C. (2008).** Etude bactériologique sur 30 mois dans un service de brûlés. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 21 (1), 7-12.
- **Chan R K., Christy R J & Chung K K. (2015).** Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Critical Care*, 1-12.
- **Chopra I. (2001).** Antibiotics. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1-9.
- **Clemence T. (2015).** Les bactéries du complexe *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* isolées au CHU d'Angers entre 2010 et 2014 : épidémiologie et intérêt de leur identification au rang d'espèce. Thèse de doctorat, spécialité biologie médicale, université de Poitiers, 81.
- **Cockenpot L. (2014).** Mécanismes de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* en motilité de type swarming et sa fonction écologique. Mémoire en microbiologie appliquée, Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, Armand-Frappier, 10-93.
- **Coudane F. (2009).** Fonction et régulation des peptidyl-arginine désiminases dans l'épiderme et au cours de la cicatrisation cutanée. Thèse de Doctorat en : Physiopathologie Humain, Toulouse III, 1-271.

Référence bibliographique

- **Darfaoui Z. (2018).** Les infections chez le brûlé : Données épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques. Thèse de Doctorat, université Cadi Ayyad, faculté de médecine et pharmacie, Marrakech, 1-136.
- **Davies J & Davies D. (2010).** Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 74 (3), 417-433.
- **Démarchez M. (2015).** L'épiderme et la différenciation des kératinocytes (Les kératinocytes). Available online at: <https://biologiedelapeau.fr/spip.php?rubrique32>.
- **Denis F., Ploy M-C., Martin C et Cattoir V. (2016).** Bactériologie médicale : techniques usuelles. 3ème édition. *Elsevier Masson*, 600.
- **Denis F., Ploy M-C., Martin C., Bingen E et Quentin R. (2007).** Bactériologie médicale: techniques usuelles. *ED Masson*, 333.
- **Dréno B. (2009).** Anatomy et physiology de la peau et de ses annexes. *Annales de dermatologie*, 136, 247-251.
- **Ekrami A & Kalantar E. (2007).** Bacterial infections in burn patients at a burn hospital in Iran. *Indian j med res*, 126, 541-544.
- **El Alj Y. (2008).** La prescription des antibiotiques en ambulatoire, étude réalisée à la circonscription d'Ouled Oujih à Kenitra à propos de 505 cas. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Mohammed V, faculte de medecine et de pharmacie, Rabat, 1- 67.
- **Essayagh M., Essayagh T., Essayagh S et El Hamzaoui S. (2014).** Épidémiologie de l'infection des plaies des brûlés de Rabat, Maroc : expérience de trois ans. *Médecine et Santé Tropicales*, 24, 157-164.
- **Ezzoubi M., Ettalbi S., Elmounjid S., Mradmi W., Bahechar N et Boukind E. (2004).** L'infection dans un service de brulés. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 17 (2), 81-83.
- **Floch R., Naux E et Arnould J. (2015).** L'infection bactérienne chez le patient brûlé. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 28 (2), 94-104.
- **Fraissinet F. (2012).** Pharmacocinétique de l'ertapénème chez les brûlés. Thèse de doctorat en pharmacie, université de NANTES, faculté de pharmacie, Nantes, 8-97.
- **Gallo G & Puglia A-M. (2013).** Antibiotics: Targets, Mechanisms and Resistance. First Edition. Edited by Gualerzi C-O., Brandi L., Fabbretti A & Pon C-L, 73-108.

Référence bibliographique

- **Garrity G-M., Bell J-A & Lilburn T. (2005).** Pseudomonadales Orla-Jensen 1921. 270^{AL}. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 323–442.
- **George A. (2008).** Pénétration transcutanée des substances actives. Application en dermocosmétique, Thèse de Doctorat en Pharmacie, université Henri Poincaré - Nancy 1, faculté de Pharmacie, Nancy, 1-171.
- **Gilaberte Y., Prieto-Torres L., Pastushenko I & Juarranz A. (2016).** Anatomy and Function of the Skin. *Nanoscience in dermatologie*, 1-12.
- **Gnanamani A., Hariharan P & Paul- Satyaseela M. (2016).** *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach, 4-28.
- **Goetz A. (2016).** Le microbiote cutané. Thèse de Doctorat, Université de Québec à Chicoutimi, 1-34.
- **Gohin S. (2013).** Mécanismes de défense de la peau : rôle des interactions neurovasculaires. Thèse de Doctorat, université Claude Bernard - Lyon I, Lyon, 1-142.
- **Hung-viet T. (2007).** Caractérisation des propriétés mécaniques de la peau humaine in vivo via l'IRM. Thèse de Doctorat en Biomécanique et Génie Biomedical, Université de technologie de Compiègne, 1-157.
- **Ibnouzahir M., Ettalbi S., Ouahbi S., Droussi H., Sousou M., Chlihi A., Bahaichar N et Boukind H. (2011).** Profil épidémiologique des brûlés à Marrakech: à propos de 152 cas. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 24 (1), 3-6.
- **Kohanski M-A., Dwyer D-J & Collins J-J. (2010).** How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature reviews microbiology*, 8, 423-435.
- **Kohanski M-A., Dwyer D-J., Hayete B., Lawrence C-A & Collins J-J. (2007).** A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*, 130 (5), 797–810.
- **Kolanek B. (2011).** Prise en charge pré-hospitalière de l'enfant gravement brûlé dans l'interrogation est : enjeux, état des lieux, avenir. Thèse de doctorat, spécialité Anesthésie-réanimation, université Henri Poincaré Nancy, 1-88.
- **Kumar A & Schweizer H-P. (2005).** Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Advanced Drug Delivery Reviews* 57, 1486 – 1513.

Référence bibliographique

- **Laborel E. (2015).** Des sécrétomes de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* du microbiote cutané d'enfants atopiques sur la réponse immunitaire T CD4. Thèse de doctorat en Immunologie, université de Toulouse 3 Paul Sabatier, 139.
- **Lami H & Al Naser K. (2018).** Epidemiological characteristics of burn injuries in Iraq: A burn hospital-based study Faris. *Elsevier Ltd and ISBI*, 1-5.
- **Leseva M., Arguirova M., Nashev D., Zamfirova E & Hadzhyiski O. (2013).** Nosocomial infections in burn patients: etiology, antimicrobial resistance, means to control. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 26 (1), 5-11.
- **Levy S., Chaouat M., Malca N., Serror K., Mimoun M et Boccara D. (2018).** Brûlures chimiques: notre série sur 25 ans. *Ann Burns Fire Disasters*, 31 (1), 4-9.
- **Maffioli S-I. (2013).** Antibiotics: Targets, Mechanisms and Resistance. First Edition. Edited by Gualerzi C-O., Brandi L., Fabbretti A & Pon C-L, 1-22.
- **Marty N. (2000).** Mode d'action des principaux antibiotiques utilisés chez le brûlé. *Review brûlure* .1(03), 1-5.
- **Mélistopoulos A et Levacher C. (2012).** La peau -Structure et physiologie. 2ed. Céline Poiteaux, 1-265.
- **Merad M et Merad R. (2001).** Toxicité des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, (91), 17-21.
- **Minchella A., Molinari L., Alonso S., Bouziges N., Sotto A et Lavigne J-P. (2010).** Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. *Pathologie biologie*, 58, 2.
- **Mokni M et Abdelhak S. (2014).** Flore cutanée, microbiote et microbiome. *Dermatologie Infectieuse*, 1-4
- **Montalegre R. (2016).** Evaluation du risque d'émergence de résistances de *Pseudomonas aeruginosa* à différents antibiotiques antitypocyaniques en réanimation. Thèse de doctorat en biologie médicale, université Toulouse III-Paul Sabatier, faculté de médecine, Toulouse, 16-79.
- **Morand A et Morand J-J. (2017).** *Pseudomonas aeruginosa* en dermatologie. *Annales de dermatologie et de vénérologie*, 2.
- **Moulaikia F et Bouziane R. (2018).** Bactériologie Du Service Des Brulés Chu Constantine. Mémoire de Master en Ecologie Microbienne, Université des Frères Mentouri Constantine1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 1-79.

Référence bibliographique

- **Nasser S., Mabrouk A & Maher A. (2003).** Colonization of burn wounds in Ain Shams University Burn Unit. *Burns*, 29 (3), 229-233.
- **Nilius A-M & Ma Z. (2002).** Ketolides: the future of the macrolides. *Anti-infectives*, 1-7.
- **Nyaledome Ablavi I. (2016).** *Pseudomonas aeruginosa* : Epidémiologie et état actuel des résistances à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V. Thèse de doctorat en pharmacie, université Mohammed V, faculté de médecine et de pharmacie, Rabat, 2-65.
- **Ohadian Moghadam S., Reza Pourmand M & Aminharati F. (2014).** Biofilm formation and antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from burn patients, Iran. *J Infect Dev Ctries*, 8(12), 1511-1517.
- **Pagès J-M. (2004).** Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. *Médecine sciences*, 20 (3), 346–351.
- **Parez P. (2013).** Typage de *Staphylococcus aureus* par MLVA : Etude de faisabilité de la détection par HRM. Thèse de Doctorat en Biologie Médical, université de LORAIN, Faculté De Médecine De Nancy, 1-121.
- **Peleg A.; Seifert H & Paterson D. (2008).** *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*, 21, 538-582.
- **Peterson E & Kaur P. (2018).** Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers environmental bacteria, and clinical pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 9 (2928), 1-21.
- **Philippon A. (2008).** Résistance bactérienne : définitions, mécanismes, évolution. *Maladies infectieuses*, 5(3), 1-13.
- **Poole K. (2005).** Efflux-mediated antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 20–51.
- **Powell J. (2006).** Skin physiology. *Basic science*, 1-4.
- **PROST-SQUARCIONI C. (2007).** Couche cornée et sa formation. *Ann Dermatol Venereol*, 1.
- **Qader A.R and Muhamad J.A. (2010).** Nosocomial Infection in Sulaimani Burn Hospital, Iraq. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 23 (4), 177–181.
- **Rajbahak S., Shrestha C., Shrestha J & Singh A. (2014).** Bacteriological changes of burn wounds with time and their antibiogram. *Scientific World*, 12 (12), 70-76.

Référence bibliographique

- **Reinert R-R. (2004).** Clinical efficacy of ketolides in the treatment of respiratory tract infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53, 918–927.
- **Rowan M P., Cancio L C., Elster E A., Burmeister D M., Rose L F., Natesan S., Chan R K., Christy R J & Chung K K. (2015).** Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Critical Care*, 1-12.
- **Safara A et Barges L. (2015).** Prise en charge en unité des brûlures de faible gravité. *Médecine et armées*. 43, 2, 157-164.
- **Sharma L., Srivastava H., Pipal D K., Dhawan R., Purohit P M & Bhargava A. (2017).** Bacteriological profile of burn patients and antimicrobial susceptibility pattern of burn wound isolates. *International Surgery Journal*, 4 (3), 1019-1023.
- **Siah S., Belefqih R., Elouennass M., Fouadi F.E et Ihray I. (2009).** L'infection nosocomiale en réanimation des brûlés. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 22 (2), 72-78.
- **Simon M. (2009).** Analyse par microfaisceau d'ions. Application à l'étude de la fonction barrière cutanée et à la nanotoxicologie in vitro. Thèse de Doctorat en Biologie Cellulaire et Physiopathologie, université de Bordeaux I, 1-194.
- **Singh N. P., Goyal R., Manchanda V., Das S., Kaur I & Talwar V. (2003).** Changing trends in bacteriology of burns in the burns unit. *Burns*, 29, 129-132.
- **Sundin G-W & Wang N. (2018).** Antibiotics resistance in plant-pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 56, 1-20.
- **Thabet L., Zoghalmi A., Boukadida J., Ghanem A et Messadi A A. (2013).** Etude comparative de la résistance aux antibiotiques des principales bactéries isolées au service de Réanimation de brûlés durant deux périodes (2005-2008, 2008-2011) et dans deux structures hospitalières (Hôpital Aziza Othmana, Centre de traumatologie et grands brûlés ben Arous). *La tunisie médicale*, 91 (2), 138-142.
- **Tilouch L., Sakly H., Boughattas S., Gargouri M., Ben Abdelaziz A., Chaouch C. et Boujaafar N. (2017).** Profil et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées au service des brûlés. *Médecine et maladies infectieuses*, 47 (4), 75-78.
- **Timurkaynak F., Arslan H., Kurt Azap Ö., Serin Senger S., Başaran Ö., Özbalıkcı Karaman S. & Haberal M. (2008).** *In vitro* activity of tigecycline against resistant micro-organisms isolated from burn patients. *Burns*, 34, 1033-1036.

Référence bibliographique

- **Verrienti R, Mavilio D, De Sanctis R, Savoia A. (2018).** Protocole de maîtrise des infections chez les grands brûlés. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 9 (3), 1-5.
- **Wang T Z., Kodiyanplakkal R-P-L & Calfee D-P. (2019).** Antimicrobial resistance in nephrology. *Nature Reviews nephrology*, 1-12.
- **Wanis M., Walker S., Daneman N., Elligsen M., Palmay L., Simor A & Cartotto R. (2015).** Impact of hospital length of stay on the distribution of Gram negative bacteria and likelihood of isolating a resistant organism in a Canadian burn center. *Burns*, 1-8.
- **Wardhana A., Djan R & Halim Z. (2017).** Bacterial and antimicrobial susceptibility profile and the prevalence of sepsis among burn patients at the burn unit of Cipto Mangunkusumo Hospital. *US National Library of Medicine National Institute of Health*, 30 (2), 107-115.
- **William D & Losquadro M. (2017).** Anatomy of the Skin and the Pathogenesis of Non melanoma Skin Cancer. *The Mount Sinai Health System at Care Mount Medical*, 1-7.
- **Xiao G & Xu W. (2014).** Infection in Burns. *Chinese Burn Surgery*, 57–87.
- **Yala D., Merad A-S., Mohamedi D et Ouar korich M-N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, (91), 5-12.
- **Yala D., Merad A-S., Mohamedi D et Ouar korich M-N. (2001).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, (91), 13-14.
- **Yves L & Michel G. (2010).** *Staphylococcus aureus*. Edition TEC et DOC, 1-279.
- **Zeba B. (2005).** Overview of b-lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African Journal of Biotechnology*, 4 (13), 1559-1562.

Introduction

Synthèse

Bibliographique

Matériel

&

Méthodes

Résultats

&

Discussion

Conclusion

Annexe

Références