

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université De Blida -01-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire
Laboratoire de biotechnologie, environnement et santé
Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme
De MASTER en Biologie
Option : Microbiologie
Thème

**Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques des
bactéries isolées à partir des prélèvements de pus à
l'hôpital de Boufarik**

Réalisé par :

M^{lle}. CHABLAOUI Dalila

M^{lle}. MIHOUB Sarah

Soutenu le : 09/09/ 2020

Devant le Jury composé de :

Mr. GUETARNI D.	Professeur	Université de Blida 1	Président
Mm. LOUNACI L.	M. C. B	Université de Blida 1	Examinatrice
Mm. BOKRETA S.	M. A. A	Université de Blida 1	Promotrice
Mm. LASSAS K.	M.A	EPH de Boufarik	Co-promotrice

Année Universitaire: 2019-2020

Remerciement

*Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail, sous l'encadrement de **Mm BOKRETA S.** qui nous a orientés vers le choix de ce thème et nous a suivis durant toute la rédaction de ce mémoire avec patience et gentillesse. Nous lui exprimons notre profonde gratitude pour sa disponibilité et son sérieux.*

Nous remercions par ailleurs vivement les membres du jury de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail et d'assister la soutenance :

*Nous prenons aussi un réel plaisir à remercier chaleureusement **Pr. GEUTARNI D.** pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jury et **Mm. LOUNACI L.** pour l'intérêt apporté à notre travail en ayant accepté de l'examiner.*

*Nos sincères remerciements vont aussi à notre maître de stage **Dr. LASSAS K,** le médecin assistante de l'EPH de Boufarik, qui nous a guidé et conseillé pour la réalisation de la grande partie de notre travail. Nous le remercions pour son accueil et les facilités qui nous ont accordées pour accéder aux informations utiles pour notre travail.*

À tous nos amis, ainsi qu'au personnel du laboratoire de microbiologie de l'EPH de Boufarik qui nous ont aidés à effectuer ce travail.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements les plus respectueuses vont aussi à toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie mon travail :

♥ *A mes chers respectueux parents Mohamed et Hassina.*

Vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection, je vous offre ce modeste travail en témoignage de tous les sacrifices et l'immense tendresse dans vous m'avez toujours su me combler.

Puisse Dieu tout puissant vous garder et vous procurer santé et bonheur.

♥ *A ma grand-mère Meriem.*

♥ *A mes sœurs Fatima Zohra et Kaouther.*

♥ *A mes frères Amine et Karim.*

♥ *A mes tantes et mes cousines.*

♥ *A mon chat "Pandy"*

En témoignage de mon profond respect et amour, que Dieu tout puissant vous garder et vous procurer santé et bonheur.

♥ *A mon cher binôme Dalila et toute sa famille.*

Je ne pourrai jamais vous remercier assez pour tout le travail acharné et les efforts que vous avez déployés pour réaliser ce mémoire, et je vous souhaite un avenir radieux et que vous puissiez atteindre tous les objectifs que vous espérez atteindre.

♥ *A mes adorables amies Meriem, Soumia, Sarah, Radhia, Salsabil et mes camarades Sihem, Yasmine, Abderraouf et toute la promotion de microbiologie.*

En témoignage de ma sincère amitié, veuillez trouver dans ce travail mon profond hommage.

♥ *A tous ceux qui m'ont aidé dans l'élaboration de ce travail de près ou de loin.*

Sarah

Dédicaces

À mes chers parents...Ali et Aicha

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mes chers et adorables frères et sœurs

Rachida, Saliha, Omar, Hichem, Saida, Hadjer

Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

À mes chers petits neveux et nièces

Wassim, Mohammed, Serine, Yahia, Ines, Meriem, Rahma, Marame

Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous, Votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur. Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

À mes chers oncles, tantes, leurs époux et épouses à mes chers cousins cousines

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

Aux mariés de mes sœurs et leurs familles

Kamal et toute la famille Zougari, Walid et toute la famille Bouchakif, Rami et toute la famille Benchikha

À mes amis de toujours

Feriel, Asma, Nour elhouda, Farida, Sarah, Meriem, Yasmine, Samar, Sabrina, Rachida, Nassira, Cherifa, Aya, Rayan, Sara, Dalal, Roumaissa Lotfi, Yousef, Mahrez, Raouf et toute la promo de Microbiologie ... En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

À toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail à tous ceux que j'ai omis de citer

Dalila

Résumé

L'objectif de notre étude est l'isolement et l'identification des bactéries à partir des prélèvements purulents et la détermination du profil de résistance des souches isolées vis-à-vis les antibiotiques. Cette étude prospective a été menée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'EPH de Boufarik durant une période d'un mois et demi du 1 Février au 15 Mars 2020. Elle a porté sur 53 prélèvements purulents provenant des différents services.

Le taux de positivité des prélèvements purulents était de 67,92% (36/53) avec une prédominance des suppurations superficielles (81,13%). Nos résultats montrent que les infections suppuratives sont plus fréquentes chez les adultes que chez les enfants (88,89% vs 11,11%, $p < 0,0001$). Le service de médecine interne a enregistré le taux le plus élevé de positivité de pus avec 57,14%. L'examen cytbactériologique du pus a révélé que sur 44 souches isolées responsables d'infection suppurative, 29 (65,91%) ont été des bactéries à Gram négatif et 15 (34,09 %) des bactéries à Gram positif. Les espèces les plus incriminées étaient : *Staphylococcus aureus* (15,91%), *Klebsiella pneumoniae* (15,91%), *Escherichia coli* (13,64%) et *Pseudomonas aeruginosa* (11,36%).

L'analyse des résultats de l'antibiogramme des souches isolées a permis de mettre en évidence la présence des taux élevés de résistance aux principales familles d'antibiotiques testées notamment chez les entérobactéries. L'amikacine était l'antibiotique le plus efficace contre ces derniers. *Klebsiella pneumoniae* a présenté une résistance élevée aux β -lactamines y compris les céphalosporines de troisième génération et aux quinolones. La présence des SARM a été signalée dans 14,29% des cas. Aucune souche de Cocci Gram positive n'a été résistante aux glycopeptides.

Mots clés : Antibiogramme, Antibiotiques Profil bactériologique, Profil de sensibilité, Pus.

Abstract

The aim of the present study is the isolation and identification of bacteria from pus samples and the determination of their antibiotic susceptibility pattern. This prospective study was carried out in the microbiology laboratory of the EPH of Boufarik for a period of one and a half month from February 1st to March 15th, 2020. Total of 53 pus samples, collected during the study period, were included.

Out of 53 pus samples collected, 36 samples (67.92%) were positive cultures and no growth was in 17 (32.08%) with a predominance of superficial suppurations (81.13%). Our results showed that pyogenic infections are more frequent in adults than in children (88.89% vs 11.11%, $p < 0.0001$). The internal medicine department recorded the highest rate of pus positivity with 57.14%. The cytobacteriological examinations of pus revealed that out of 44 isolated strains responsible for pyogenic infection, 29 (65.91%) were Gram-negative bacteria and 15 (34.09%) were Gram-positive bacteria. The most isolated species were *Staphylococcus aureus* (15.91%), *Klebsiella pneumoniae* (15.91%), *Escherichia coli* (13.64%) and *Pseudomonas aeruginosa* (11.36%).

Analysis of the results of the antibiogram of the isolated strains revealed the presence of high rates of resistance to the main families of antibiotics tested, especially in *Enterobacteriaceae*, against whom Amikacin was the most effective antibiotic. *Klebsiella pneumoniae* exhibited high resistance to β -lactams including third generation cephalosporins and quinolones. The presence of MRSA was reported in 14.29% of cases. No Gram-positive strain of Cocci was resistant to glycopeptides.

Keywords: Antibiogram, Antibiotics, Bacteriological profile, Pus, Sensitivity profile.

ملخص

الهدف من دراستنا هو عزل وتحديد البكتيريا من العينات القيحية وتحديد خصائص مقاومة السلالات المعزولة تجاه المضادات الحيوية. أجريت هذه الدراسة الاستباقية في مختبر الأحياء الدقيقة التابع للمجمع الصحي العام في بوفاريك لمدة شهر ونصف من 1 فبراير إلى 15 مارس 2020. واشتملت على 53 عينة قيحية من مختلف الأقسام.

كان معدل الإيجابية للعينات القيحية 67.92% (53/36) مع غلبة القروح السطحية (81.13%). تظهر نتائجنا أن العدوى القيحية أكثر شيوعًا عند البالغين منها عند الأطفال (88.89% مقابل 11.11% $p < 0.0001$) سجل قسم الطب الباطني أعلى نسبة إيجابية بنسبة 57.14%. أظهر الفحص الخلوي للقيح أن 44 سلالة معزولة مسؤولة عن العدوى القيحية، 29 سلالة (65.91%) سالبة الجرام و15 سلالة (34.09%) موجبة الجرام. كانت الأنواع الأكثر عزله هي:

Staphylococcus aureus (15.91%), *Klebsiella pneumoniae* (15.91%), *Escherichia coli* (13.64%) و *Pseudomonas aeruginosa* (11.36%).

أظهر تحليل نتائج المضاد الحيوي للسلالات المعزولة وجود معدلات مقاومة عالية للعائلات الرئيسية للمضادات الحيوية المختبرة، خاصة في البكتيريا المعوية. كان أميكاسين هو المضاد الحيوي الأكثر فعالية ضد هؤلاء. أظهرت *Klebsiella pneumoniae* مقاومة عالية لـ β -lactam بما في ذلك الجيل الثالث من السيفالوسبورينات والكينولونات. تم الإبلاغ عن وجود MRSA في 14.29% من الحالات. لا توجد سلالة موجبة الجرام من المكورات مقاومة للجليكوبيبتيدات.

الكلمات المفتاحية: التقيح، اختبار حساسية الجراثيم للمضادات الحيوية، المسببات البكتيرية، المضادات الحيوية.

Liste des abréviations

API : Appareillage et Procédé d'Identification

ARN_r : Acide Ribonucléique Ribosomale

ATCC : American Type Culture Collection

BGN : Bacilles à Gram Négatif

BGNNF : Bacilles à Gram Négatif Non Fermentaires

BGT : Bouillon Glucosé Tamponné

BLSE : Bétalactamines à Spectre Etendu

C2G : Céphalosporines de la deuxième Génération

C3G : Céphalosporines de la troisième Génération

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CG : Céphalosporines de la première Génération

CGP : Cocci à Gram Positif

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

EPH : Etablissement Public Hospitalier

GSC : Gélose au Sang Cuit

GSF : Gélose au Sang Frais

IN : Infections Nosocomiales

ISS : Infections du Site Opératoire

LPS : Lipopolysaccharides

MF : McFarland

MH : Mueller Hinton

MLS : Macrolides, Lincosamides, Streptogramines

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PLP : Protéines de Liaison aux Pénicillines

QNR : Quinolone Resistance

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline

SCN : *staphylococcus* à Coagulase Négatif

SHV: Sulfi Hydroxyl Variable

TEM : Temoniera

Liste des figures

Figure 1. Les techniques de prélèvements de pus pour les suppurations superficielles.....	5
Figure 2. Comparaison du la culture de pus aspiré et écouvillonné	5
Figure 3. Cibles des antibiotiques et mécanisme de résistance aux antibiotiques	14
Figure 4. Identification des Cocci à Gram+.....	18
Figure 5. Organigramme de l'examen bactériologique de pus	26
Figure 6. Répartition des prélèvements selon leur nature.....	30
Figure 7. Répartition des prélèvements selon les résultats de cultures	31
Figure 8. Répartition des prélèvements selon le sexe.....	32
Figure 9. Répartition des résultats positifs selon le type de culture	32
Figure 10. Répartition des isolats bactériens selon la coloration de Gram.....	33
Figure 11. Répartition des bactéries isolées selon le groupe bactérien.....	34
Figure 12. Profil de résistance des entérobactéries aux ATB testés.....	37
Figure 13. Résultats d l'antibiogramme de <i>Klebsiella</i> spp.....	38
Figure 14. Profil de résistance d' <i>Escherichia coli</i> aux ATB testés	40
Figure 15. Résultats d l'antibiogramme des bacilles à Gram négatif non fermentaires.....	42
Figure 16. Profile de résistance de <i>P. aeruginosa</i>	43
Figure 17. Profile de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	44
Figure 18. Profile de résistance des Entérocoques	46

Liste des tableaux

Tableau I. Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne.....	35
---	----

Glossaire

Dermohypodermites bactériennes non nécrosantes : sont des infections bactériennes aiguës des tissus situés entre l'épiderme et les muscles. L'érysipèle, infection superficielle streptococcique du derme et de l'hypoderme, représente la majorité, sinon la totalité des dermohypodermites bactériennes (DHB) non nécrosantes (**Begon, 2013**).

Dermohypodermites bactériennes nécrosantes (DHBN) et fasciites nécrosantes (cellulite nécrosantes) : Selon les recommandations de HAS (2019), les DHBN et FN sont des infections aiguës nécrosantes du derme et de l'hypoderme pouvant atteindre le fascia, voire le muscle. Sont plus fréquentes chez l'adulte et surviennent surtout après 50 ans.

Escarre : le « National Pressure Ulcer Advisory Panel » a établi une définition reconnue de l'escarre en 2014 : « L'escarre est une lésion localisée au niveau de la peau et/ou des tissus sous-jacents, située en général sur une proéminence osseuse. Elle est le résultat d'un phénomène de pression, ou de pression associée à du cisaillement ».

Folliculite : Il s'agit d'une infection superficielle, le plus souvent restreinte à l'ostium du follicule pilosébacé. Cliniquement, elle se manifeste par une pustule centrée par un poil, associée à un érythème périfolliculaire (**Zaraa, 2018**).

Furoncle : Il s'agit d'une folliculite profonde et nécrosante avec atteinte du follicule pilosébacé sur toute sa hauteur. Il réalise une papule ou un nodule inflammatoire, douloureux, centré par une pustule sur une zone pileuse (le poil ayant disparu du fait de la nécrose) (**Monsel et al., 2018 ; Zaraa, 2018**).

Furonculose: correspond à une répétition de furoncles, avec passage à la chronicité sur des périodes de plusieurs mois (**Monsel et al., 2018**).

Impétigo : selon les recommandations de HAS (2019), l'impétigo désigne des lésions cutanées vésiculo-pustuleuses et secondairement croûteuses, dues à une infection superficielle, non folliculaire de peau, touchant initialement l'épithélium cutané (épiderme) (**Zaraa, 2018**).

Péritonites : correspondent à une inflammation aiguë du péritoine dont les causes les plus fréquentes sont infectieuses, le plus souvent par perforation du tube digestif. Les péritonites de nature infectieuse sont caractérisées par la présence de pus dans la cavité péritonéale (**Montravers et al., 2013**).

SOMMAIRE

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Glossaire

Introduction1

Chapitre I. Synthèse Bibliographique.

I.1. Définition du Pus.....3

I.2. Genèse du Pus3

I.3. Classification des suppurations.....4

I.4. Techniques de prélèvement de pus4

I.5. Aspects cliniques6

I.5.1. Suppurations superficielles6

I.5.2. Suppurations profondes6

I.6. Agents responsables des infections purulentes7

I.6.1. Cocci à Gram positif7

I.6.1.1. Staphylocoque.7

I.6.1.2. Streptocoque.7

I.6.1.3. Entérocoque.....8

I.6.2. Bactéries à Gram négatif8

I.6.2.1. Bacilles à Gram négatif fermentaires: Les Entérobactéries8

I.6.2.2. Bacilles à Gram négatif non fermentaires.....	11
I.7. Antibiotiques et Antibiorésistance.....	12
I.7.1. Antibiotiques.....	12
I.7.1.1 Définition.....	12
I.7.1.2. Mode d'action des antibiotiques.....	12
I.7.2. Résistance aux antibiotiques.....	13
I.7.2.1. Types de résistances aux antibiotiques.....	13
I.7.2.2. Mécanismes de résistance.....	13

Chapitre II. Matériel et Méthodes.

II.1. Matériels	15
II.1.1. Matériels biologiques.....	15
II.1.2. Matériels non biologiques	15
II.2. Méthodes	15
II.2.1. Examen bactériologique de pus.....	15
II.2.1.1. Examen macroscopique	15
II.2.1.2. Mise en culture.....	16
II.2.1.3. Examen microscopique.....	17
II.2.1.4. Identification des bactéries.....	18
II.2.2. Tests de sensibilité aux antibiotiques.....	27
II.2.2.1. Antibiogramme.....	27
II.2.2.2. Tests complémentaires.....	28
II.2.3. Analyses statistiques.....	29

Chapitre III. Résultats et Discussion.

III.1. répartition des prélèvement selon leur nature.....	30
---	----

III.2. Répartition des prélèvements selon la culture	31
III.3. Répartition des prélèvements positifs selon le sexe.....	31
III.4. Répartition des prélèvements positifs selon le type de culture.....	32
III.5. Profil bactériologique des infections purulentes.....	33
III.5.1. Répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram.....	33
III.5.2. Répartition des bactéries isolées selon le groupe bactérien.....	34
III.5.3. Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne.....	35
III.6. Profil de résistance des souches isolées.....	37
III.6.1. Profil de résistance des Entérobactéries.....	37
III.6.2. Profil de résistance des bacilles à Gram négatif non fermentaires.....	42
III.6.3. Profil de résistance des Staphylocoques.....	44
III.6.4. Profil de résistance des Entérocoques.....	46
III.6.5. Profil de résistance des Streptocoques.....	46
Conclusion	47

Références Bibliographiques.

Annexes.



Introduction

Les infections suppuratives de la peau, des tissus mous et des plaies sont une cause importante de morbidité et de mortalité chez les patients hospitalisés (**Sujatha et al., 2016**). Les infections suppuratives sont caractérisées par une inflammation locale sévère, généralement avec production de pus ; un liquide blanc à jaune composé de globules blancs morts, de débris cellulaires et de tissus nécrotiques (**Amine et al., 2017**). Il s'agit d'une invasion et une multiplication de microorganismes pathogènes dans une partie corporelle ou un tissu, ce qui peut entraîner des lésions tissulaires ultérieures et évoluer vers une maladie manifestée par le biais de divers mécanismes toxiques ou cellulaires causés par l'une des bactéries pyogènes (**Singh et al., 2013**). Certaines de ces infections sont superficielles qui correspondent aux infections de la peau et d'autres sont profondes au niveau des organes internes (**Gheit, 2011**).

Les micro-organismes responsables de l'inflammation et de la suppuration sont les bactéries pyogènes (**Singh et al., 2013**). Dans la plupart des études, la majorité des isolats sont des aérobies qui comprennent des Cocci Gram positifs comme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus* et les bacilles Gram négatif comme *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* et *Pseudomonas* (**Biradar et al. 2016**).

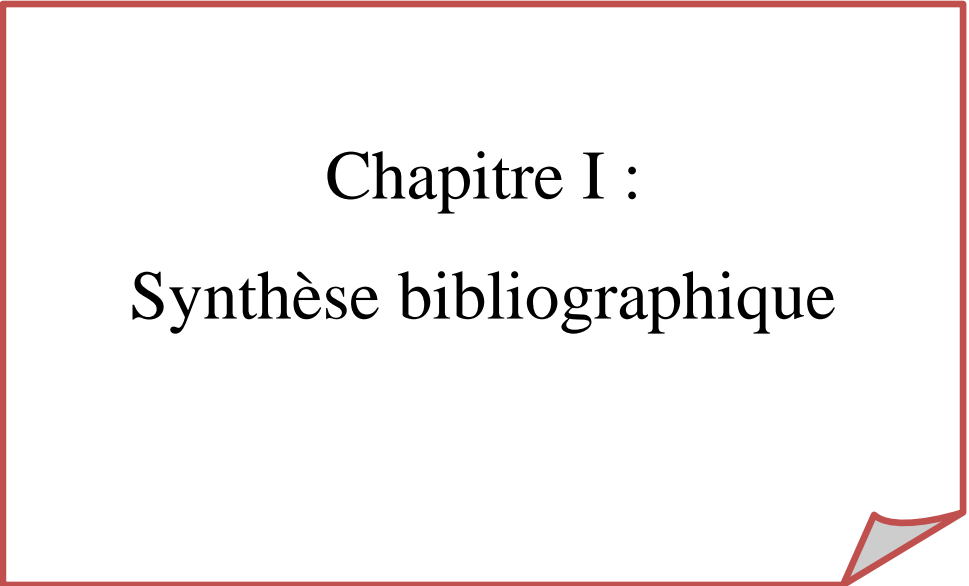
Les antibiotiques, molécules capables d'inhiber la croissance ou d'éliminer les bactéries, représentent une des découvertes les plus importantes en médecine et ont permis de sauver des millions de vies chaque année depuis les années 40. Cependant, leur utilisation excessive et parfois inadéquate a conduit l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques, qui à leur tour constitue un défi majeur pour les services de santé. De plus, les souches très virulentes et la capacité de s'adapter rapidement à un environnement changeant aggravent la situation et suscitent des inquiétudes (**Bankar et al., 2018**).

L'émergence de souches multi-résistantes entraîne une maladie prolongée, des dépenses de santé plus élevées et un risque plus élevé de décès par infection (**Singh et al., 2013**). Au cours des dernières décennies, des souches bactériennes à Gram négatif multi-résistantes telles que *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* Gram positif résistant à la méticilline (SARM) ont été de plus en plus associées à des infections au pus en milieu hospitalier en raison de nombreuses erreurs de prescription et à un schéma posologique inadéquat d'antibiotiques (**Bankar et al., 2018**).

Les infections suppuratives sont encore fréquentes dans les pays en développement et le traitement est un défi considérable malgré les progrès des techniques microbiologiques, des antibiotiques et des traitements chirurgicaux (**Singh et al., 2013**). Pour assurer une thérapie

adéquate et efficace, il est nécessaire d'identifier et de traiter le foyer de l'inflammation (**Vui et soon, 2009**).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui vise à isoler et identifier les bactéries responsables des infections suppuratives au niveau d'hôpital de Boufarik et à déterminer le profil de la sensibilité des souches isolées vis-à-vis divers antibiotiques.



Chapitre I :
Synthèse bibliographique

I.1 Définition du Pus

Le pus est un liquide pathologique, épais et visqueux, constitué de globules blancs, altérés et détruits, de cellules des tissus voisins de la suppuration et souvent de bactéries, vivantes ou mortes. Le pus est un amas produit tout au long de l'inflammation due à une infection bactérienne ou fongique (**Larousse Médicale, 2006 ; Amine *et al.*, 2017**). Sa couleur est faiblement jaunâtre, plus rarement blanchâtre, ou tirant un peu sur le vert. Tant qu'il conserve sa chaleur, il répand une odeur animale particulière, douceâtre et nauséuse; mais il la perd en se refroidissant. Sa saveur est fade et légèrement sucrée (**Chassaignac, 1859**). On distingue deux variétés de pus :

- **Le pus contenant des germes**

Est dû à des bactéries dits pyogènes, qui provoquent des infections suppurantes (génératrices de pus). L'examen direct et la mise en culture du pus permettent d'identifier la bactérie en cause. Les microbes pyogènes responsables d'une suppuration sont divers : les staphylocoques (le pus est jaune), les streptocoques et les pneumocoques (le pus est vert), les bacilles pyocyaniques (le pus est bleuté), les amibes (responsables d'un pus brun) et les germes anaérobies (le pus est gris et fétide) (**Larousse Médicale, 2006**).

- **Le pus aseptique**

Ne contient aucun microbe, il apparaît dans certaines affections au cours desquelles le patient fabrique des anticorps contre ses propres tissus (phénomène d'auto-immunité), de tuberculose ou à la suite de l'injection d'un produit mal supporté par les tissus, ou encore après le début d'un traitement antibiotique (**Larousse Médicale, 2006 ; Vulgaris Médical, 2011**).

I.2. Genèse du Pus

La formation du pus est l'un des signes les plus caractéristiques d'une infection. Sa présence reflète généralement un processus inflammatoire aigu et une activation du système immunitaire inné. Le pus est constitué de cellules à activité phagocytaire (en général des polynucléaires neutrophiles altérées) et de bactéries.

Ces cellules sont attirées au foyer infectieux par diverses substances constitutives de la paroi des bactéries: la muréine joue le rôle le plus actif, mais d'autres polysaccharides possèdent aussi cette propriété. Les germes dont la paroi est la plus riche en muréine (staphylocoques, streptocoques) attirent massivement les polynucléaires et dans ce cas le pus devient abondant.

Il s'agit des germes pyogènes. Les phagocytes subissent ensuite, au foyer infectieux, certaines dégradations dues à l'action de substances sécrétées par les bactéries (**Tiouit *et al.*, 2013**).

I.3. Classification de suppurations

Les localisations purulentes sont variées et la nature des agents infectieux impliqués est aussi très diverse. On distingue trois classes :

- **Classe I** : les prélèvements proviennent de localisations normalement stériles (cerveau, adénopathie, bile, os, etc.) et, dans ce cas, si les prélèvements ont été effectués dans de bonnes conditions d'asepsie, les bactéries isolées sont directement impliquées dans le processus infectieux ;
- **Classes II**: les prélèvements effectués au niveau de zones profondes communiquant avec des flores commensales qui peuvent contaminer le prélèvement (c'est le cas des prélèvements d'origine digestive) ;
- **Classes III** : les prélèvements effectués au niveau de zones superficielles, et ils seront donc contaminés directement par la flore commensale, surtout s'ils sont effectués par écouvillonnage (c'est le cas des prélèvements cutanés à type d'escarre, de brûlures, de morsures, de plaies, etc.) (**Denis *et al.*, 2007**).

Les bactéries recherchées seront différentes selon la localisation de la suppuration, le mode de prélèvement (seringue, biopsie, écouvillon) et le mode de transport (surtout pour la recherche d'anaérobies).

I.4. Techniques de prélèvement de pus

Les prélèvements appelés « pus » englobent toutes les suppurations, qu'elles soient superficielles ou profondes. Ces prélèvements sont très fréquents et constituent une grosse part de l'activité d'un laboratoire de bactériologie (**Denis *et al.*, 2007**).

Pour les suppurations superficielles (**Figure 1**), il faut désinfecter la région à ponctionner avec une solution saline et laisser sécher le désinfectant puis aspirer à l'aiguille le pus se trouvant dans la partie la plus profonde de la collection, en évitant un contact avec la partie superficielle. Purger l'air de la seringue, enlever l'aiguille et boucher la seringue (**CHU de Liège, 2013**).

Pour les plaies ouvertes, il faut nettoyer soigneusement les bords la zone superficielle avec une solution saline stérile puis retirez tous les exsudats superficiels et les débris sus-jacents. Prélevez à l'aide d'un écouvillon à partir de la base ou du bord avancé de la lésion en évitant les zones nécrotiques (**Tankeshwar, 2019**).



Figure 1. Les techniques de prélèvements de pus pour les suppurations superficielles (Rod, 2018).

Les écouvillons sont moins souhaitables en raison de la plus petite quantité d'échantillons prélevés et du fait qu'ils sont souvent contaminés par la flore cutanée normale, ce qui rend l'interprétation des résultats difficile. Lors de l'utilisation d'écouvillons, la partie la plus profonde de la plaie doit être prélevée, en évitant la microflore superficielle. Les écouvillons doivent être bien imbibés de pus (Figure 1) (Tankeshwar, 2019).

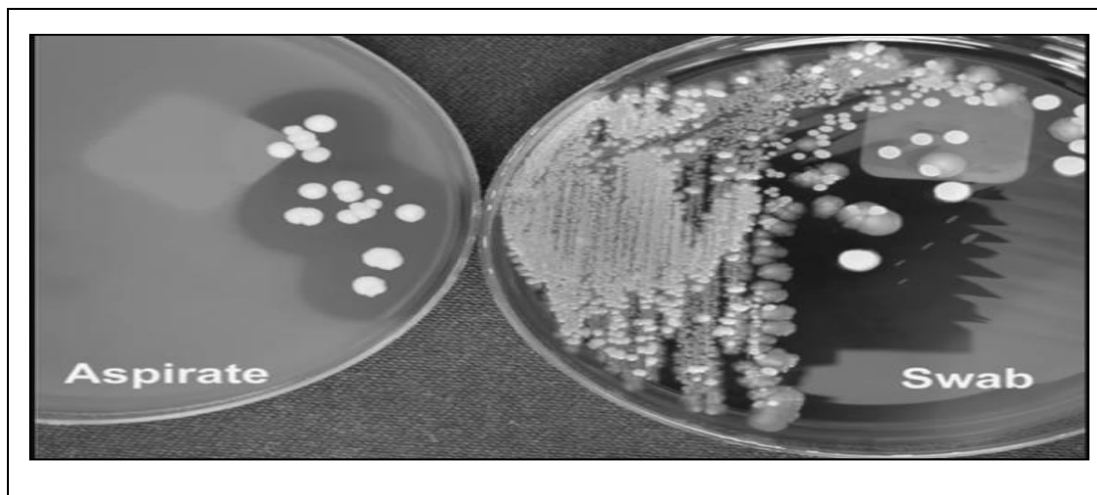


Figure 2. Comparaison de la culture de pus aspiré et écouvillonné (Koneman *et al.*, 2016)

Pour les suppurations profondes il faut réaliser une désinfection cutanée soignée, le prélèvement est réalisé sous imagerie par aspiration de pus à l'aide d'une seringue ou par aspiration pendant l'intervention (**Engbaek et al., 1995**).

I.5. Aspects cliniques

I.5.1. Suppurations superficielles

- **Infections cutanée purulentes** : Les infections cutanées bactériennes sont des pathologies variables souvent contagieuses et de gravité variable. Ils peuvent intervenir au niveau folliculaire (furuncle, furonculose et folliculite), au niveau de l'épiderme (impétigo et intertrigo) ou bien dermo-hypodermique (Les dermo-hypodermes bactériennes nécrosantes ou non et la fasciites nécrosantes) (**Gheit, 2011**).
- **Plaies infectés** : Les plaies sont définies comme une effraction de la barrière cutanée ou rupture de celle-ci. Les plaies aiguës présentent un délai de cicatrisation normal. Les étiologies incluent les plaies opératoires et les plaies traumatiques (**Battu et Brischoux, 2012**). Les plaies chroniques sont des plaies dont le délai de cicatrisation est allongé. Une plaie est considérée comme chronique après 4 à 6 semaines d'évolution, selon son étiologie. Les causes de plaie chronique incluent notamment les ulcères de jambe, les escarres, les plaies du diabétique (**HAS, 2011**). Une infection bactérienne surimposée est une complication importante des plaies et peut entraîner une maladie grave, une invalidité à long terme et la mort (**Sirijatuphat et al., 2014**).

I.5.2. Suppurations profondes

Les infections profondes sont considérées les plus rares et graves infections du fait de leur diagnostic difficile et souvent retardé. La formation du pus est la résultante d'une rupture initiale de la barrière anatomique permettant la pénétration et le développement des bactéries dans un site stérile d'où elles diffusent par contiguïté ou par voie hématogène. Ce type de suppuration se rencontre dans divers localisations. Certaines sont proches de la flore intestinale (péritonites, abcès intra-abdominaux) ou bien de la flore bucco-dentaire (abcès de cou, de cerveau et de poumons) (**Sami, 2012**).

I.6. Agents responsables des infections purulentes

Les bactéries sont les agents microbiens en cause de la majorité des infections purulentes. On observe aussi, dans certaines circonstances, des levures et des champignons filamenteux (Hajjar et Valence, 2008).

I.6.1 Cocci à Gram positif

Ils font partie des flores commensales de la peau et des muqueuses chez l'homme. De ce fait, ils sont fréquemment isolés en bactériologie médicale (Denis *et al.*, 2007).

I.6.1.1. Staphylocoque

Le genre staphylocoque appartient à la famille des *Staphylococcaceae*. Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, non encapsulés, ayant un aspect en grappes en microscope optique, immobiles, anaérobies facultatives et catalase positive (Denis *et al.*, 2007). Ces bactéries peuvent être divisées en celles qui produisent la coagulase, une enzyme qui coagule la fibrine dans le sang, et celles qui ne le font pas (Tortora *et al.*, 2016). Ce sont une composante essentielle de la flore humaine normale, mais comprennent aussi des espèces qui sont d'importants pathogènes. (Avril *et al.*, 1992 ; Denis *et al.*, 2007)

Germe pyogène par excellence, *Staphylococcus aureus* est le microbe de la suppuration. Les infections produites par *Staphylococcus aureus* sont caractérisées par des lésions purulentes aiguës, agressives et localement destructrices. Les infections dans des organes autres que la peau tels que les poumons, les reins ou les os sont également focales et destructrices, mais ont un plus grand potentiel d'extension dans l'organe et au-delà du sang et d'autres organes (CHUPS, 2003 ; Ryan et Ray., 2004).

Les souches à coagulase négative, telles que *Staphylococcus epidermidis*, sont très fréquentes sur la peau, où elles peuvent représenter 90% du microbiote normal. Ils ne sont généralement pathogènes que lorsque la barrière cutanée est brisée ou envahie par des procédures médicales, telles que l'insertion et le retrait de cathéters dans les veines (Tortora *et al.*, 2016).

I.6.1.2. Streptocoque

Les bactéries du genre *Streptococcus* appartiennent à la famille des *Streptococcaceae*, sont des cocci sphériques ou ovoïdes à Gram positif, catalase négative, de diamètre inférieur à 2 µm, groupés en diplocoques ou en chaînettes de taille variable, immobiles et asporulés. Une capsule est habituellement retrouvée chez *Streptococcus pneumoniae*. Ces bactéries forment

une partie importante de la microflore indigène de l'oropharynx (Ryan *et al.*, 2004 ; Denis *et al.*, 2007). En fonction de leur pathogénicité, de leur pouvoir hémolytique et de leurs propriétés antigéniques, les streptocoques sont repartis en 3 groupes :

- Streptocoques pyogènes : ils sont habituellement β -hémolytiques, et sont les plus virulentes et responsable des suppurations. La spécificité d'un Ag de paroi permet de distinguer : les streptocoques du groupe A, B, C et G, rassemblant plusieurs espèces.
- Streptocoques oraux : ils sont généralement α -hémolytiques ou non hémolytiques et appartiennent à d'autres groupes antigéniques ou bien aux streptocoques non groupables.
- Streptocoques du groupe D : commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux (Reynaud, 2010 ; Avril, 1992).

I.6.1.3 Entérocoque

Les entérocoques sont des bactéries Gram positif qui se présentent sous forme de diplocoques ou de coques en chaînettes, souvent ovoïdes. Ils sont anaérobies facultatifs, immobiles et dépourvus de capsule. Cette famille englobe une trentaine d'espèces qui ont longtemps été classées dans le genre des streptocoques au vu de leurs similitudes avec les streptocoques du groupe D (Stucki *et al.*, 2014 ; Gaschignard *et al.*, 2019).

Deux espèces sont les plus isolées importantes en bactériologie clinique, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*. Ils font partie de la flore commensale de nos intestins et se comportent comme des germes opportunistes. Les infections les plus souvent causées par ces germes sont des infections urinaires, des péritonites, des abcès intra-abdominaux, des bactériémies nosocomiales ou des endocardites, des infections intra-abdominales et pelviennes et des infections des plaies (Stucki *et al.*, 2014).

I.6.2. Bactéries à Gram négatif

I.6.2.1. Bacilles à Gram négatif fermentaires: Les Entérobactéries

La famille des *Enterobacteriaceae* constitue un large groupe de bacilles à Gram négatif. Ce sont bactéries aéro-anaérobies facultatifs, le plus souvent courts (1 à 6 μm), droits, immobiles ou mobiles par une ciliature péritriche, de culture aisée, fermentaires, oxydase négative, catalase positive, nitrate réductase positive (Denis *et al.*, 2007).

Parmi les espèces les plus rencontrées en médecine humaine, *Escherichia coli*, les bactéries de genre *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* et *Proteus* (Denis *et al.*, 2007).

Les infections à entérobactéries peuvent être des infections intra-abdominales, elles concernent le péritoine, les organes creux et pleins intra-abdominaux, parmi ces infections, on peut citer l'appendicite, la péritonite, les abcès profonds postopératoires, et les abcès des organes pleins intra-abdominaux (Mamod, 2016).

➤ *Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie anaérobie facultative à Gram négatif en forme de bâtonnet. Ce microorganisme a été décrit pour la première fois par **Theodor Escherich** en 1885. La plupart des souches d' *E. coli* colonisent sans danger le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux comme une flore normale (Lim *et al.*, 2010).

E. coli ou colibacille est une bactérie asporulée mesurant 2 à 4 µm de long sur 0.4 à 0.6 µm de large. C'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche, catalase positif et oxydase négatif. Elle se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques (Avril *et al.*, 2000).

E. coli est le premier germe responsable d'infections communautaires et nosocomiales. Les infections à *E. coli* sont de deux types : infections intestinales à type de diarrhées et infections extra-intestinales (infections urinaire, prostatites et de suppurations diverses à partir de la flore digestive tel que les péritonites et infections postopératoires) (Denis *et al.*, 2007).

➤ *Klebsiella spp*

Les espèces du genre *Klebsiella* sont des bactéries Gram négatif en forme de bâtonnet, immobiles et généralement encapsulées. Ces bactéries produisent de la lysine-décarboxylase et donnent en général un résultat positif au test de Voges-Proskauer. Les espèces du genre *Klebsiella* forment souvent des colonies mucoïdes (Podschn et Ullmann, 1998).

L'espèce de *Klebsiella* la plus importante sur le plan médical, *Klebsiella pneumoniae*, est un habitant naturel du microbiome du tractus gastro-intestinal de l'homme et des animaux en bonne santé. Il s'agit d'un pathogène opportuniste associé à l'hôpital, représentant environ un tiers de toutes les infections à Gram négatif dans l'ensemble. Il est impliqué dans les infections extra-intestinales, y compris les infections des voies urinaires, la cystite, les

pneumonies, les infections des plaies chirurgicales et les infections potentiellement mortelles, telles que l'endocardite et la septicémie. Elle est également une cause importante d'infections communautaires graves telles que la pneumonie nécrosante, les abcès hépatiques pyogènes (Podschun et Ullmann, 1998 ; Navon-Venezia *et al.*, 2017).

➤ *Enterobacter spp*

Enterobacter est un genre de bactéries à Gram négative, anaérobie facultative, en forme de bâtonnet, non sporulée, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Deux de ses espèces bien connues, *Enterobacter aerogenes* et *E. cloacae* ont acquis une importance clinique en tant que bactéries opportunistes et sont devenues des agents pathogènes nosocomiaux. (Davin-Regli et Pagès, 2015).

Les *Enterobacte spp* présents dans l'environnement, sont également des commensaux du tube digestif. Ce sont des pathogènes opportunistes responsables, en milieu hospitalier surtout, d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses (Denis *et al.*, 2007).

➤ *Serratia spp*

En tant que membres de la famille des *Enterobacteriaceae*, *Serratia spp* sont des bâtonnets Gram négatifs mobiles et non endospores. Certaines souches de *Serratia spp* sont capables de produire un pigment connu sous le nom de prodigiosine, dont la couleur varie du rouge foncé au rose, en fonction de l'âge des colonies. Ce genre comporte actuellement dix espèces dont *S. marcescens* est l'espèce la plus fréquente au sein de ce genre (90 % des isollements humains) (Denis *et al.*, 2007 ; Khanna *et al.*, 2013).

Chez l'homme, *S. marcescens* est couramment isolé des infections des voies urinaires, les infections des plaies, de la pneumonie nosocomiale, des plaies chirurgicales et des infections de la circulation sanguine, principalement chez les patients des unités de soins intensifs. (Fedrigo *et al.*, 2011)

➤ *Proteus spp*

Les espèces de genre *Proteus* sont des bâtonnets mobiles à Gram négatif appartenant à la famille des *Morganellaceae*. Ces espèces font partie de la flore bactérienne normale du tractus intestinal des humains et des animaux (Girlish *et al.* 2020).

Le genre *Proteus* comporte plusieurs espèces, dont *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris* et *P. penneri* sont les plus couramment isolées dans laboratoire de microbiologie (**Hamilton et al., 2018**).

Proteus spp sont surtout connues comme agents pathogènes humains opportunistes. Les bactéries provoquent des infections principalement chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli, et la plupart d'entre elles peuvent être une source d'infections compliquées des voies urinaires et des plaies ainsi que des infections nosocomiales (**Drzewiecka, 2016**).

I.6.3 .Bacilles à Gram négatif non fermentaires

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Les *Pseudomonas aeruginosa* font partie de la famille des *Pseudomonaceae*. Ce sont des bacilles Gram négatif, non fermentatif, omniprésent, aérobies stricts, oxydase positif, mobiles, produisant souvent des pigments diffusibles et naturellement résistants à de très nombreux antibiotiques, il ne nécessite pas de milieu enrichi pour sa croissance, et il peut survivre et se multiplier sur une large plage de températures (20 à 42°C) dans presque tous les environnements, y compris ceux à haute teneur en sel. Parmi les pigments produits par la *Pseudomonas aeruginosa*, notons la pyocyanine (couleur bleu-vert), la pyoverdine (couleurs jaune-vert fluorescent) et la pyorubine (couleur rouge-brun). Il s'agit de toxines qui affectent les cellules de l'hôte (**Tortora et al., 2016 ; Tzika et al., 2015**).

Pseudomonas aeruginosa occupe une position centrale dans la problématique actuelle des infections nosocomiales (IN). Ce bacille à Gram négatif ubiquitaire est responsable de 10 % à 15 % de l'ensemble des infections nosocomiales (**Barbier et Wolff, 2010**). Les manifestations cutanées du *Pseudomonas aeruginosa* varient entre superficielles et profondes, et peuvent concerner l'individu sain ainsi que l'immunosupprimé. Cette bactérie est également un agent pathogène opportuniste très courant et grave chez les patients brûlés, en particulier ceux qui ont des brûlures au deuxième et au troisième degré. L'infection peut produire du pus bleu-vert (**Tzika et al., 2015 ; Tortora et al., 2016**).

➤ *Acinetobacter baumannii*

Les *Acinetobacter baumannii* sont des coccobacilles à Gram négatif, strictement aérobie, non exigeant, non mobile, catalase positive, oxydase négative et non fermentative. Elles sont largement distribuées dans la nature et les sources environnementales comprennent le sol, l'eau, les légumes, les animaux et les insectes (**Howard et al., 2010 ; Asif et al., 2018**).

Acinetobacter baumannii apparaît comme l'un des pathogènes les plus problématiques au sein des établissements de soins. Sa capacité à survivre de façon prolongée en milieu hospitalier associée à l'émergence de résistances potentialise sa capacité de propagation nosocomiale. La pneumopathie nosocomiale est l'infection la plus fréquente. Cependant, des bactériémies, des infections touchant la peau et les tissus mous sont apparues comme très problématiques pour certains établissements (**Al-Anazi et Al-Jasser, 2014**).

I.7. Antibiotiques et Antibiorésistance

I.7.1. Antibiotiques

I.7.1.1 Définition

Les antibiotiques sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement des effets toxiques pour les organismes supérieures. Les antibiotiques sont soit élaborés par des microorganismes ou des dérivés semi-synthétiques ou entièrement synthétiques (**Nauciel et Vildé, 2005**).

Les antibiotiques à large spectre inhibent à la fois les bactéries Gram positif et Gram négatif, alors que les antibiotiques à spectre étroit ne sont efficaces que contre une variété limitée d'agents pathogènes (**Willey et al., 2008**).

I.7.1.2. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques exercent leur effet bactéricide ou bactériostatique en ciblant un mécanisme vital chez la bactérie. Les mécanismes d'action peuvent être :

- Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire ;
- Inhibition de synthèse des protéines ;
- Inhibition de la synthèse des acides nucléiques ;
- Perturbation de la membrane cellulaire ;
- Blocage des voies métaboliques par interférence avec les métabolites (**Ryan et al., 2004 ; Willey et al., 2008**)

I.7.2. Résistance aux antibiotiques

Selon OMS, la résistance aux antibiotiques apparaît lorsque les bactéries peuvent s'adapter et croître en présence d'antibiotiques. Un micro-organisme est considéré « résistant » lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (**Carle, 2009**).

I.7.2.1. Types de résistances aux antibiotiques

Certaines bactéries sont naturellement résistantes aux antibiotiques (Résistance naturelle ou intrinsèque). Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Elle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (**Carle, 2009**).

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme (**Carle, 2009**).

I.7.2.2. Mécanismes de résistance

Les mécanismes biochimiques de la résistance peuvent être regroupés en quatre grands types de mécanismes :

- Diminution de la perméabilité : mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie ;
- La modification de la cible : se produit lorsqu'un antibiotique donné ne peut plus se lier à la cible sur laquelle il agit habituellement ;
- La production d'enzymes inactivantes, est la plus puissante et la plus robuste des mécanismes de résistance. Des centaines d'enzymes peuvent inactiver l'antimicrobien dans la cellule, dans l'espace périplasmique ou à l'extérieur la cellule. Ils peuvent agir sur la molécule antimicrobienne en perturbant sa structure ou en catalysant une réaction qui le modifie chimiquement (les bêtalactamases) ;

- Enfin, une bactérie peut devenir résistante aux antibiotiques par un mécanisme dit d'efflux, où une pompe, agissant comme une porte tournante, expulse l'antibiotique dès son entrée à l'intérieur de la bactérie, l'empêchant ainsi d'atteindre sa cible (Denis *et al.*, 2007 ; Willey *et al.*, 2008) Figure 3.

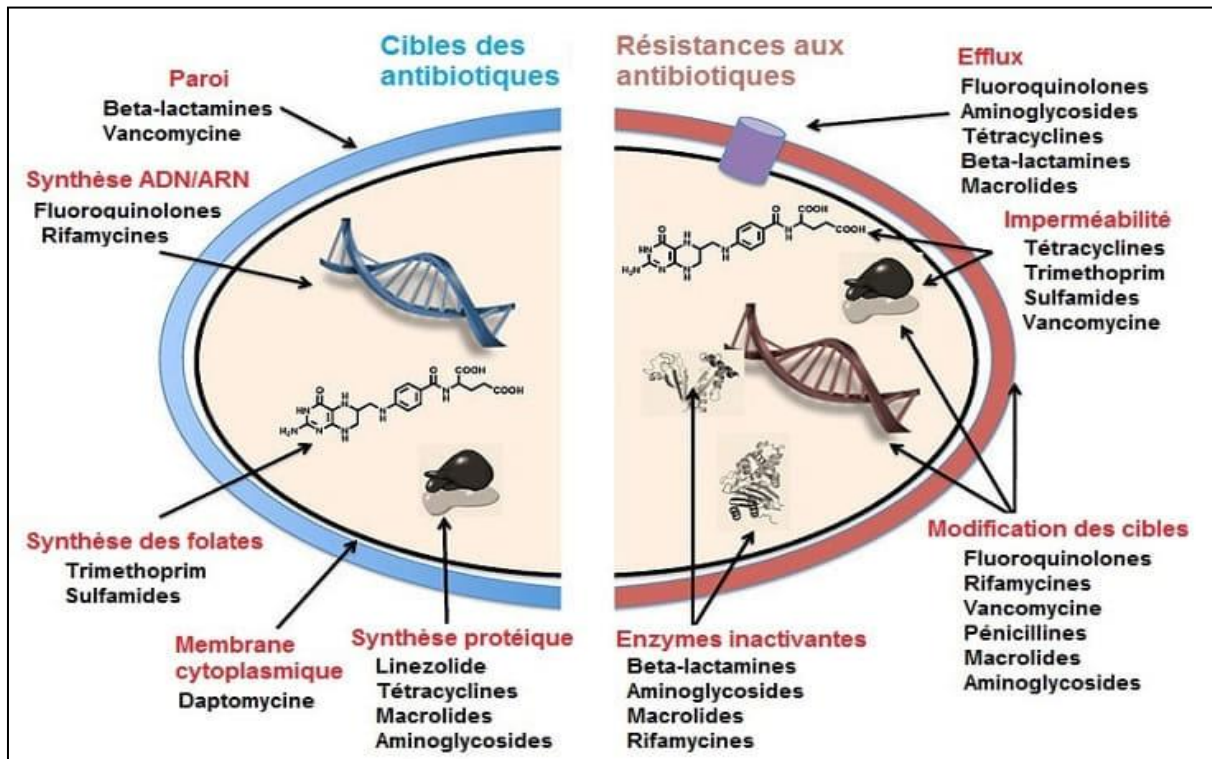
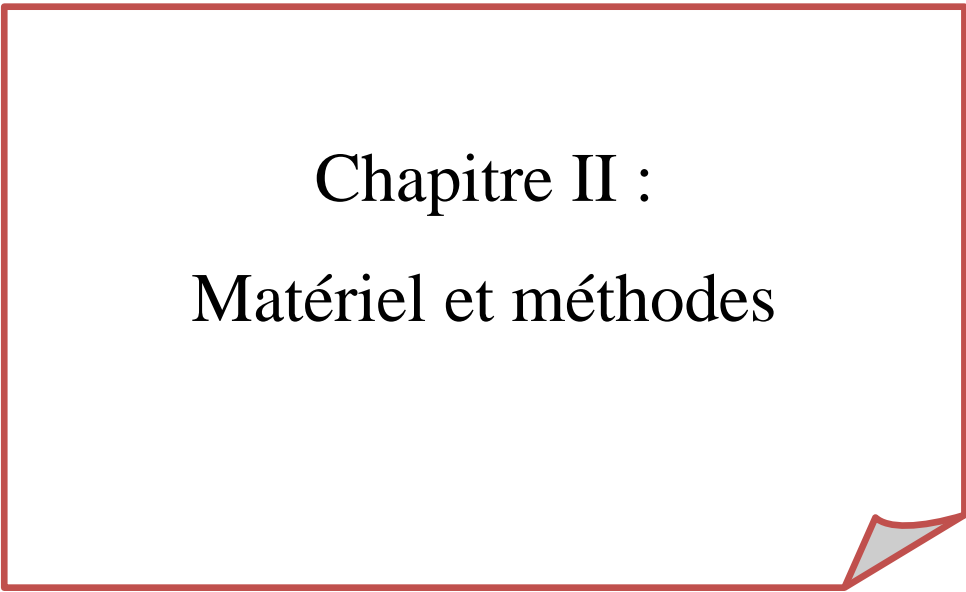


Figure 3. Cibles des antibiotiques et mécanisme de résistance aux antibiotiques (Maurin, 2018).



Chapitre II :
Matériel et méthodes

II. Matériel et Méthodes

Notre étude a été menée au niveau du laboratoire de microbiologie d'EPH de Boufarik, et ce durant une période d'un mois et demi (1 février au 15 mars 2020). Il s'agit d'une étude prospective qui a porté sur 53 prélèvements de pus provenant de différents services d'EPH de Boufarik ainsi que d'autres établissements hospitaliers.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

❖ Prélèvements

Les prélèvements de pus ont été effectués par personnel soignant et acheminés au laboratoire de microbiologie de l'hôpital. Ces échantillons englobent toutes suppurations qu'elles soient superficielles ou profondes. Selon la localisation de pus, le prélèvement se fait soit par un écouvillon ou bien une seringue stérile.

Chaque prélèvement de pus reçus au laboratoire est accompagné d'une fiche de renseignements qui contient : Nom et Prénom, Age, Sexe, Service d'hospitalisation, Type de prélèvement et Antibiothérapie en cours.

❖ Souches bactériennes de référence

Des souches de référence ont été utilisées afin de valider les différents tests effectués dont : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II.1.2. Matériel non biologique

L'ensemble du matériel non biologique représenté par les instruments, les appareillages, les milieux de culture, les colorants, les réactifs et les disques d'antibiotiques utilisés est illustré dans l'annexe I.

II.2. Méthodes

II.2.1. Examen bactériologique du pus

II.2.1.1. Examen macroscopique

Les échantillons de pus, reçus dans une seringue ou dans un écouvillon, doivent être soigneusement évalués par un technicien expérimenté pour la couleur, la consistance et l'odeur.

- **Couleur** : la couleur va du jaune-vert au rouge-brun. Une couleur rouge est généralement due à un mélange avec du sang ou de l'hémoglobine. Le pus résultant de plaies postopératoires ou traumatiques (brulures) peut être coloré en bleu-vert par la pyocyanine élaborée par *Pseudomonas aeruginosa* ;
- **Consistance** : La consistance peut aller d'un liquide trouble à une matière très épaisse et collante. Le pus des "abcès froids" tuberculeux (avec peu de signes d'inflammation) a un aspect caséux et est appelé "caséum" ou "pus caséux" ;
- **Odeur** : Une odeur fétide, excrémentielle, est l'une des caractéristiques principales de l'infection anaérobie ou mixte aérobie-anaérobie, bien qu'elle puisse être absente dans certains cas (**Vandepitte et al., 2003**).

II.2.1.2. Mise en culture

- **Culture sur milieu gélosé**

L'isolement est un type d'ensemencement particulier qui vise à obtenir des colonies distinctes et bien séparées les unes des autres. Il se fait toujours sur un milieu solide et peut avoir trois finalités différentes :

- Séparer les différents types de bactéries présentes dans un prélèvement.
- Contrôler la pureté d'une souche bactérienne.
- Étudier l'aspect macroscopique des colonies (taille, forme, couleur,...) (**Annexes II**).

Du fait de la diversité des bactéries potentiellement impliquées dans les prélèvements de pus, différents milieux de culture seront nécessaires : Gélose au sang cuit, Gélose au sang frais, Gélose Hektoen et Gélose Chapman (**Annexes I.2**).

Les milieux sont ensemencés par la technique des cadrans :

- S'il s'agit d'un prélèvement par écouvillon, le premier cadran de la boîte de Pétri est ensemencé par l'écouvillon lui-même et on termine l'ensemencement par une pipette Pasteur.

- S'il s'agit d'un prélèvement par seringue, on dépose une goutte de pus à la périphérie de la boîte et on ensemence par pipette Pasteur.

Les milieux sont incubés à 37°C pendant 24 H, en atmosphère aérobie dans l'étuve pour les milieux Hektoen et Chapman et dans une Jarre d'anaérobiose pour les milieux GSC et GSF.

➤ Culture sur milieu liquide

La présence de certaines bactéries à pouvoir pathogène spécifique dans un prélèvement, a une signification pathologique indiscutable, même si elles sont peu représentées. Leur proportion peut être minime par rapport à celle de la flore commensale et leur présence ne peut être révélée par un isolement.

Après la réalisation d'un ensemencement sur les différents milieux gélosés, le reste de pus est ensemencé sur le bouillon BGT (ou bien placer l'écouvillon directement dans le milieu s'il s'agit d'un écouvillonnage) et incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures à l'étuve (**Annexes I.2**).

Le bouillon BGT (Bouillon Glucosé Tamponné) est un milieu liquide riche permettant le développement d'un maximum de bactéries notamment les streptocoques.

On observe à l'œil la présence de troubles. Si le bouillon devient trouble alors que les cultures sur les différents milieux sont absentes : le bouillon d'enrichissement doit être ensuite repiqué sur les milieux gélosés pour un autre isolement.

II.2.1.3. Examen microscopique

➤ Examen microscopique à l'état frais

Déposer une colonie prélevée à partir d'une culture bactérienne pure sur une lame recouverte par une goutte d'eau physiologique et bien homogénéiser. Recouvrir d'une lamelle le liquide en évitant les bulles d'air. Mettre l'objectif x 40 et observer rapidement.

➤ Coloration de Gram

Transférer une goutte de la culture en suspension à examiner sur une lame avec une pipette Pasteur puis étalez la culture. Séchez à l'air et fixez-la ou sur une flamme douce. Ajouter le colorant violet de gentiane sur la culture fixée et laisser reposer pendant une minute. Ajoutez le lugol et laisser réagir pendant une minute afin de fixer la coloration précédente. Ajoutez quelques gouttes de décolorant (alcool) et rincez-le à l'eau après 30 secondes. Contre-colorer

avec une solution basique de fuchsine pendant une minute puis rincez la solution avec de l'eau. L'observation se fait au microscope optique à grossissement 100 avec addition de l'huile à immersion.

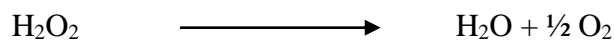
II.2.1.4. Identification des bactéries

➤ Identification des Cocci à Gram positif

- **Test d'orientation : Recherche de la catalase**

Principe

Certaines bactéries ont la faculté de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence d'une bactérie productrice de catalase, on observe à partir d' H_2O_2 une libération d'oxygène gazeux selon la réaction :



Technique

Après avoir identifié correctement une lame, nous déposons une goutte de peroxyde d'hydrogène en plein centre de la lame, en suite nous mettons en contact avec cette goutte la colonie issue de la culture bactérienne (**Annexes III.1**).

Lecture

- Un dégagement immédiat des bulles d'oxygène : catalase positif.
- Pas de dégagement des bulles d'oxygène : catalase négatif.

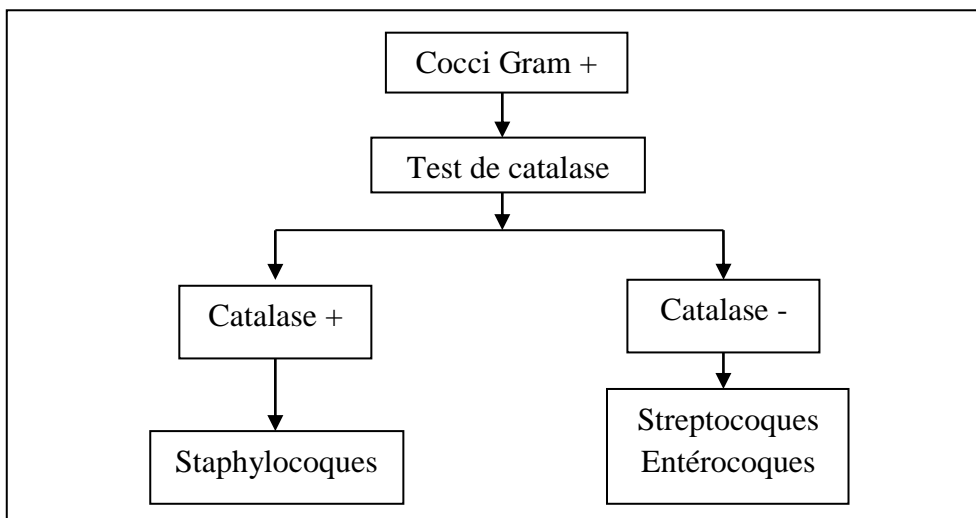


Figure 4. Identification des Cocci à Gram+.

- **Identification des *Staphylococcus***

L'observation de Cocci Gram positif isolés ou disposés en diplocoque à l'examen microscopique et une recherche de catalase positive permettent de poursuivre l'identification.

➤ **Test de coagulase**

Principe

Le test consiste à mettre en évidence la production de coagulase par *Staphylococcus aureus*. La coagulase est une enzyme produite par *Staphylococcus aureus* qui convertit le fibrinogène (soluble) dans le plasma en fibrine (insoluble) qui se traduit par la coagulation de plasma. *Staphylococcus aureus* produit deux formes de coagulase, liée et libre (**Biomatériaux, 2010**).

- **Recherche de la coagulase libre**

Technique

À l'aide d'une pipette stérile de 1 ml, ajouter 0,5 ml du plasma humain dans un tube à hémolyse, puis ajouter quelques colonies à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Mélanger délicatement et incuber pendant 4-24 heures à 37°C dans l'étuve (**Annexes III.3**).

Préparer également :

- Un control positif : 0,5 ml de plasma humain avec quelques colonies de *S. aureus* ATCC 25923.
- Un control négatif : 0,5 ml plasma humain seulement.

Lecture

- Test positif : la formation d'un coagulum, expliquée par la transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble sous l'action de la coagulase, donc c'est un *S. aureus*.
- Test négatif : pas de coagulum, donc c'est un staphylocoque coagulase négatif (SCN).

➤ **Recherche de la coagulase liée : Test de Staphaurex**

Principe

Staphaurex est un test d'agglutination sur lame permettant l'identification rapide des *Staphylococcus aureus* à partir des cultures primaires. Des particules de latex rouge sont sensibilisées par le fibrinogène qui réagit avec le facteur d'agglutination (coagulase lié), des IgG qui réagissent avec la protéine A des *S. aureus* et des IgG dirigées contre des polysaccharides capsulaires de *S. aureus*. La présence de *Staphylococcus aureus* entraîne l'apparition d'une agglutination massive rouge visible à l'œil nu, en moins d'une minute (**Biomatériaux, 2010**).

Technique

- Bien agiter et vérifier l'absence d'agrégats dans les réactifs au latex avant utilisation.
- Pour chaque échantillon, placer une goutte de latex test sur un cercle d'une carte de réaction et 1 goutte de latex contrôle sur un autre cercle.
- A l'aide d'un bâtonnet d'homogénéisation, prélever une quantité suffisante de colonies bien isolées, pour couvrir l'extrémité plate du bâtonnet.
- Émulsionner l'échantillon de culture dans la goutte de latex test en frottant avec l'extrémité plate du bâtonnet.
- A l'aide d'un autre bâtonnet, émulsionner un échantillon similaire de culture dans le latex contrôle comme décrit à l'étape précédente.
- Faire doucement osciller la carte jusqu'à 30 secondes en observant l'apparition éventuelle d'une agglutination (**Annexes III.4**).

Lecture

- Réaction positif : la présence d'une agglutination, indique la présence de coagulase, de protéine A ou des antigènes communs de *S. aureus*.
- Réaction négatif : absence d'agglutination signifie que la culture analysée n'est vraisemblablement pas de l'espèce *S. aureus*.
- **Identification des *Streptococcus***

L'observation des Cocci Gram positif disposés en chaînette à l'examen microscopique et une recherche de catalase négative permettent de poursuivre l'identification.

➤ Test de PASTOREX®Strepto

Est un test rapide d'agglutination de microparticules de polystyrène (latex) pour le groupage des streptocoques A, B, C, D, F et G selon la classification de Lancefield.

Principe

PASTOREX®Strep est un test d'agglutination rapide et sensible des streptocoques β -hémolytiques appartenant aux principaux groupes de Lancefield. Il comporte des suspensions de latex permettant d'identifier les groupes A, B, C, D, F et G.

L'identification des streptocoques β -hémolytiques sur la base des polysaccharides spécifiques de groupe nécessite au préalable une extraction de ces antigènes à partir des colonies isolées en primo- culture sur gélose au sang. Le système PASTOREX®Strep réalise cette extraction en 10 min à 37°C à l'aide d'une enzyme active qui lyse les parois cellulaires et permet la mise en solution du polysaccharide C (**Biomatériaux, 2010**).

Préparation de l'extrait

Dans un tube à hémolyse, mettre 0,4 ml d'enzyme d'extraction. A partir de cultures sur milieu solide prélever selon leur taille 3 à 5 colonies caractéristiques et les émulsionner dans 0,4 ml d'enzyme d'extraction puis mélanger et incubé 10 minutes à 37°C. L'extrait antigénique est prêt à être utilisé.

Technique

- Remettre en suspension les flacons contenant les latex en les agitant pendant quelques secondes.
- Déposer une goutte de chaque réactif au latex sur les cercles de la carte d'agglutination.
- Ajouter une goutte de l'extrait sur chacun des cercles à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Homogénéiser le contenu de chaque cercle à l'aide d'un bâtonnet.
- Agiter la carte selon un mouvement orbital pendant maximum d'une minute (**Annexes III.5**).

Lecture et interprétation des résultats

- Un résultat positif est indiqué par l'apparition d'une agglutination nette avec un réactif latex en 2 minutes maximum.

- Un résultat négatif est indiqué par une absence d'agglutination : suspension homogène ou très fine granulation à 2 minutes.
- **Identification biochimique par la galerie miniaturisée API**

Principe

La galerie API 20 Strep comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres.

Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des sucres entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification (**Biomatériaux, 2010**).

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage individuel et placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum et le mode opératoire

A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever un nombre important de colonies et les émulsifier dans un tube contenant 2 ml d'eau distillée puis homogénéiser à l'aide d'un Vortex afin de préparer une suspension bactérienne très dense de 4 MF mesurée par le densitomètre.

- Dans la première moitié de la galerie (tests VP à ADH) : répartir la suspension précédente en évitant la formation de bulles (pour cela, incliner la boîte d'incubation vers l'avant et placer la pointe de la pipette ou la seringue sur le côté de la cupule).

Ouvrir une ampoule d'API GP Medium et y transférer le reste de la suspension, soit 0,5 ml au minimum. Bien homogénéiser.

- Répartir cette nouvelle suspension dans le reste de la galerie.
- Remplir les cupules des tests soulignés ADH à GLYG avec de l'huile de vaseline.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures dans l'étuve (**Annexe V**).
- **Lecture de la galerie**

Pour certains tests on doit ajouter des réactifs pour assurer la lecture.

- Test VP : 1 goutte de VP 1 et VP 2.
- Test HIP : 2 gouttes de NIN.
- Tests PYRA, DGAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP : 1 goutte de ZYM A et ZYM B.

Après la comparaison des couleurs obtenues aux couleurs définissant le résultat positif ou négatif, on obtient un chiffre numérique qu'on introduit dans le logiciel d'identification qui nous donne l'espèce correspondante au code (**Annexe IV**).

➤ **Identification des bacilles à Gram négatif**

- **Test d'orientation : Test d'oxydase**

Principe

Le test de l'oxydase est utilisé pour identifier les bactéries qui produisent le cytochrome oxydase, une enzyme de la chaîne respiratoire bactérienne. Lorsqu'elle est présente, le cytochrome-oxydase oxyde le réactif tétraméthyl-phénylènediamine en indophénols produit final de couleur pourpre. En l'absence d'enzyme, le réactif reste réduit et incolore. Le test d'oxydase est le plus utile pour différencier entre les BGN non oxydatif (Entérobactéries et *Acinitobacter*) et les BGN oxydatifs (*Pseudomonas*, *Pasteurella*...) (**Biomatériaux, 2010**).

Technique

A l'aide d'une pince placer un disque d'oxydase sur une lame porte objet. Choisir une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester. Prélever la colonie choisie à l'aide d'une pipette Pasteur et la mettre sur le disque (**Annexes III.2**).

Lecture

Réaction positive : coloration bleu foncé à violet apparaissant dans un délai de 30 secondes.

Réaction négative : absence de coloration ou coloration au-delà de 30 secondes.

- **Identification biochimique par la galerie miniaturisée API**

- **Api 20 E**

Api 20 E est un système standardisé pour l'identification des Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (**Biomatériaux, 2010**).

Technique

On prépare tout d'abord une suspension bactérienne, on prélève quelques colonies d'une souche pure et on les introduit dans 5mL d'eau distillée en réalisant une suspension d'une densité de 0,5 MF.

Ensemencement de la galerie

On ajoute de l'eau distillé au fond de la boîte en plastique pour réhydrater les différents tests puis on introduit la suspension bactérienne dans chaque microtube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile ou une seringue tout on appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles.

- Pour les tests encadrés : remplir le tube et la cupule.
- Pour les tests soulignés : remplir la cupule et ajouter de l'huile de vaseline.
- Pour les tests ni encadrés ni soulignés : remplir juste la cupule.

On incube la galerie à 37° pendant 18 à 24h.

Lecture

Pour certains tests on doit ajouter des réactifs pour assurer la lecture. Après la comparaison des couleurs obtenues aux couleurs définissant le résultat positif ou négatif, on obtient un chiffre numérique qu'on introduit dans le catalogue analytique et qui nous donne l'espèce correspondante au code (**Annexe V**).

➤ Api Ne

Api Ne est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*...) combinant 8 tests conventionnels et 12 tests d'assimilation (**Biomatériaux, 2010**).

Préparation de la galerie

Réunir le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. Sortir la galerie de son emballage individuel. Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

- Utiliser un tube contenant 2 ml de solution saline à 0.85 %.
- A l'aide d'une pipette, prélever 1 à 4 colonies de morphologie identique et réaliser une suspension d'opacité égale à 0,5 de McFarland.

Inoculation de la galerie

- Remplir les tubes des tests NO₃ à PNPG avec la suspension précédente en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Ouvrir une ampoule d'API AUX Medium et y transférer environ 200 µl de la suspension précédente puis homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir tubes et cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.
- Remplir d'huile de vaseline les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) pour former un ménisque convexe. Refermer la boîte d'incubation et incuber à 37°C pendant 24 H

Lecture

Pour les tests GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPG : on observe le virage de couleur.

Pour certains tests on doit ajouter des réactifs pour assurer la lecture (Test NO₃ : réactifs NIT 1 et NIT 2, TRP : réactif JAMES). La révélation des deux tests NO₃ et TRP doit se faire en mettant les tests d'assimilation à l'abri d'une contamination par l'air ; pour cela, placer le couvercle de la boîte d'incubation au-dessus de ces tests, pendant la période de révélation des tests NO₃ et TRP. Pour les tests d'assimilation : on observe la pousse bactérienne. Une cupule trouble indique une réaction positive (**Annexe IV**). Après la comparaison des couleurs obtenues aux couleurs définissant le résultat positif ou négatif, on obtient un chiffre numérique qu'on introduit dans le logiciel d'identification Api web et qui nous donne l'espèce correspondante au code (**Annexe VI**).

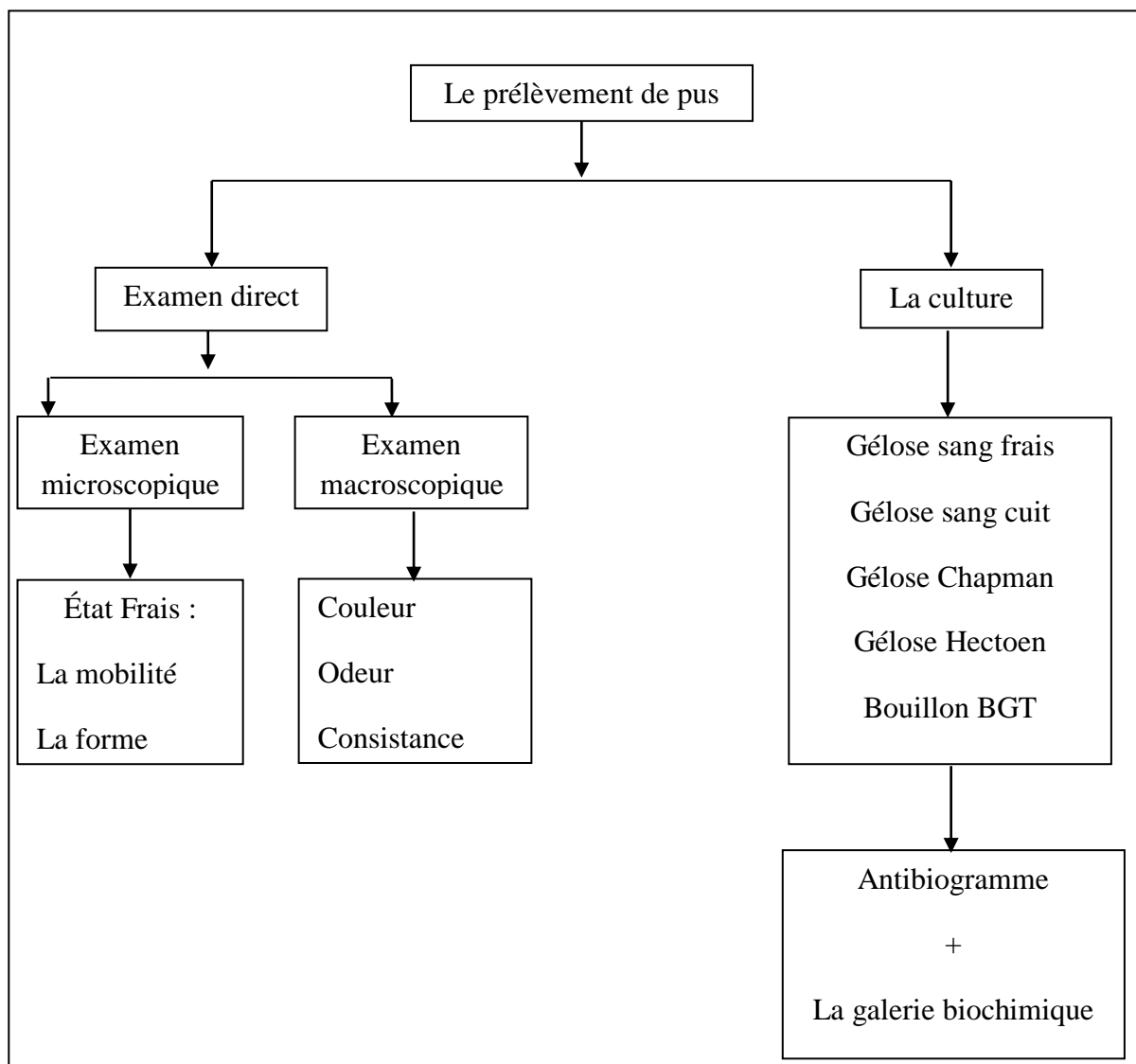


Figure 5. Organigramme de l'examen bactériologique de pus.

II.2.2. Tests de sensibilité aux antibiotiques

II.2.2.1. Antibiogramme

A. Technique de diffusion des disques sur milieu solide

Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure sur milieu d'isolement, on prélève quelques colonies bien isolées avec une pipette Pasteur et les transférées dans un tube d'eau physiologique stérile. On homogénéise la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, sa densité doit être de 0,5 MF mesurée par le densitomètre.

La gélose MH est employée lors de la méthode de diffusion en gélose pour les bactéries autres que les streptocoques pour lesquels on utilise la gélose MH additionnée de 5% du sang.

Procédure d'inoculation

Tremper un écouvillon de coton dans la suspension. Presser fermement contre la paroi intérieure du tube juste au-dessus du niveau du liquide, tourner l'écouvillon pour enlever les liquides excédentaires. Étaler à trois reprises sur la surface entière de la gélose, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. Enfin, écouvillonner partout autour du bord de la surface de la gélose.

Appliquer les disques d'antibiotiques sur les boîtes de Pétri dès que possible mais pas plus de 15 minutes après l'inoculation. Placer les disques individuellement avec des pinces stériles et les placer doucement contre la gélose.

Lecture et interprétation des résultats

Une fois que les disques sont placés sur la gélose, il faut incuber la boîte à 37°C pendant 16 à 18 heures. Après l'incubation, le diamètre de chaque zone d'inhibition est mesuré en millimètre avec un pied à coulisse ou une règle sur le fond de la boîte.

Les zones d'inhibition doivent être comparées au tableau d'interprétation des tailles des zones et notées en fonction des catégories suivantes : sensible (S), intermédiaire (I) et résistant (R) pour chaque antibiotique testé (**Annexe VI**).

B. Technique de l'E-test

Il s'agit d'une technique de diffusion en milieu gélosé permet de déterminer la CMI grâce à l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel continu de l'antibiotique à tester.

Technique

L'inoculum et la technique d'ensemencement sont similaires à ceux de la technique de diffusion des disques sur milieu solide. On applique la bandelette d'antibiotique sur la boîte de Pétri dès que possible mais pas plus de 15 minutes après l'inoculation. On dépose la bandelette doucement contre la gélose avec une pince stérile on commençant par l'extrémité correspondant aux concentrations les plus faibles puis on progressant jusqu'aux concentrations les plus élevées, on évitant la formation des bulles d'air. Une fois appliquée la bandelette ne peut pas être déplacée. Incuber pendant 24 heures à 37 °C.

Lecture

La lecture est réalisée à l'œil nu. Une ellipse d'inhibition de culture se dessine autour de la bandelette et la CMI correspond à la valeur lue à l'intersection de la culture bactérienne et de la bandelette. La valeur obtenue est comparée aux valeurs critiques de la table de lecture afin de classer les bactéries dans les catégories : S, I, R (**Annexe VI**).

II.2.2.2. Tests complémentaires

A. Tests complémentaires pour l'identification des Cocci à Gram positif

❖ Résistance inductible à clindamycine

Ce test est réalisé pour les staphylocoques et les streptocoques β -hémolytiques.

Technique

Nous avons préparé une suspension bactérienne de 0,5 MF à partir de ces souches pures. Cette suspension bactérienne a ensuite été ensemencée selon sur une gélose Mueller-Hinton et ont été placé un disque d'érythromycine à 15 μ g et un disque de clindamycine à 2 μ g. Les géloses ont ensuite été incubées pendant 24 heures à 37°C.

Lecture

Les souches présentant un diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 21 mm autour de la clindamycine, sans aplatissement visible de la zone d'inhibition en regard du disque d'érythromycine, ont été considérées comme sensible (**Biomatériaux, 2010**).

Les souches présentant un diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 21 mm autour de la clindamycine mais avec un aplatissement de la zone d'inhibition en regard du disque d'érythromycine, ont été considérées comme porteurs d'une résistance inductible (**Biomatériaux, 2010**).

❖ Résistance de *S. aureus* à l'oxacilline

Technique

La résistance des souches de *S. aureus* à l'oxacilline a été déterminée par la méthode de l'antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du CASFM (2014) on utilisant un disque de céfoxitine de 30µg.

Lecture

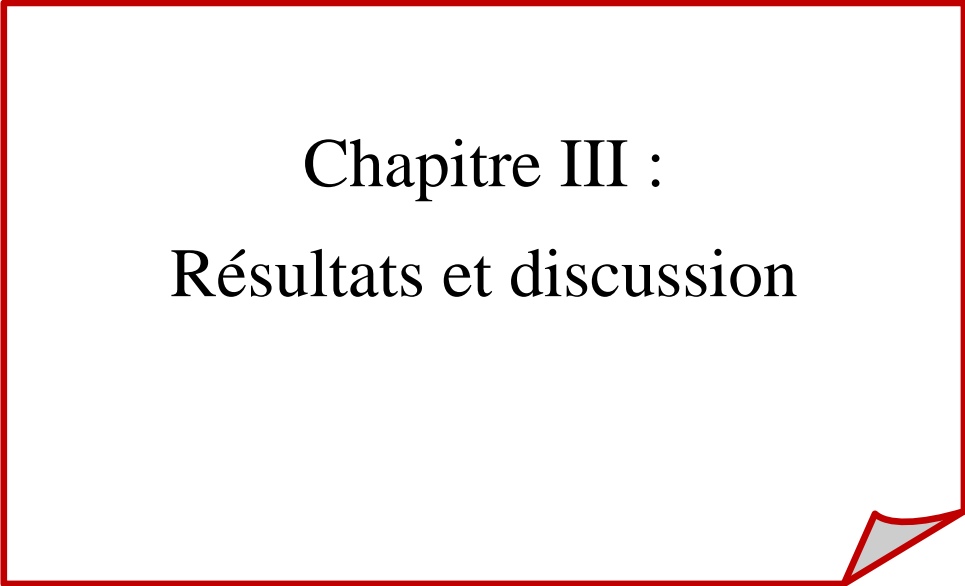
Les souches présentant un diamètre d'inhibition inférieur à 21 mm pour la céfoxitine ont été considérées comme étant des souches de SARM (*S. aureus* résistant à la méticilline), (**Biomatériaux, 2010**).

B. Tests complémentaires pour l'identification des bacilles à Gram négatif

Ces tests non pas été effectués due aux manque des antibiotiques nécessaires pour leur réalisation.

II.2.3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel SPSS version 17.00. L'analyse descriptive a été réalisée grâce au calcul des proportions pour les variables qualitatives (pourcentages) et le test de khi-deux a été utilisé pour comparer les différents pourcentages. La valeur de $p < 0.05$ a été considéré comme significative.



Chapitre III :
Résultats et discussion

III. Résultats et Discussion

Durant une période d'étude d'un mois et demi du (1) février au (15) mars 2020, 53 prélèvements de pus ont été collectés provenant de patients hospitalisés dans les divers services de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Boufarik, ainsi que certains hospitalisés dans les autres EPH de Blida et d'autres provenant de patients non hospitalisés. Ce chapitre présente les principaux résultats obtenus.

III.1. Répartition des prélèvements selon leur nature

Durant notre stage, nous avons réalisés une analyse bactériologique de 53 prélèvements purulents. Sur les 53 prélèvements de pus, 43 prélèvements sont des suppurations superficielles avec un taux de 81,13% et 10 prélèvements sont des suppurations profondes avec un taux de 18,87% ($P < 0.0001$) (**Figure 6**).

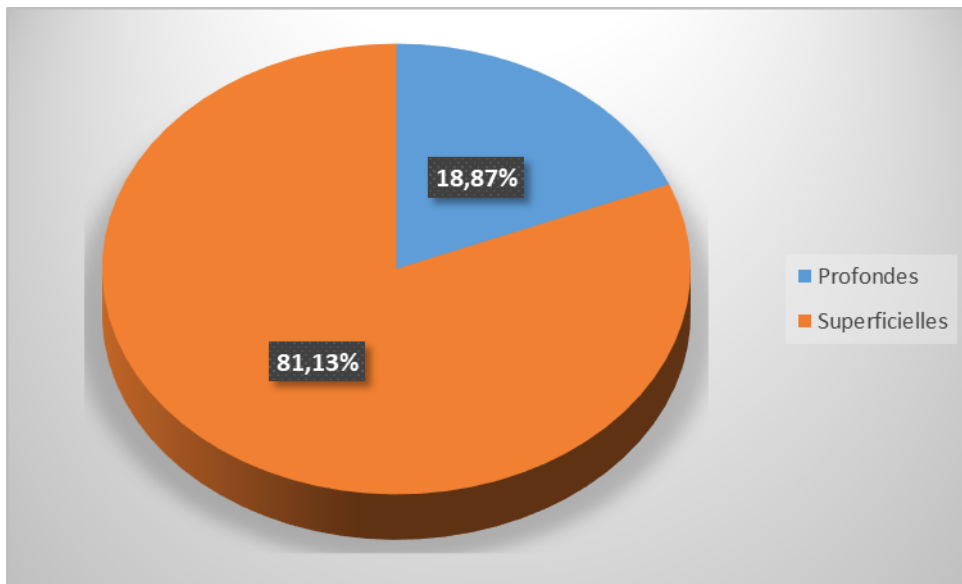


Figure 6. Répartition des prélèvements selon leur nature

La prédominance des suppurations superficielle (81,13%) dans notre étude est probablement dû au fait que la peau est un organe étendu et complexe, non stérile, colonisé par une flore résidente non pathogène, soumis, plus que tout autre à de nombreuses agressions (**Stevens et al., 2004**). Ce n'est donc pas étrange pour nous de rencontrer de nombreuses affections au niveau de la peau.

III.2. Répartition des prélèvements selon la culture

Nous considérons comme positifs, les prélèvements qui, après culture sur les différents milieux utilisés, montrent un développement bactérien. Parmi les 53 prélèvements de pus obtenus, 35 se sont avérées positifs, soit un taux de positivité de 66,04% alors que 18 prélèvements se sont révélés négatifs, soit un pourcentage de 33,96% (**Figure 7**).

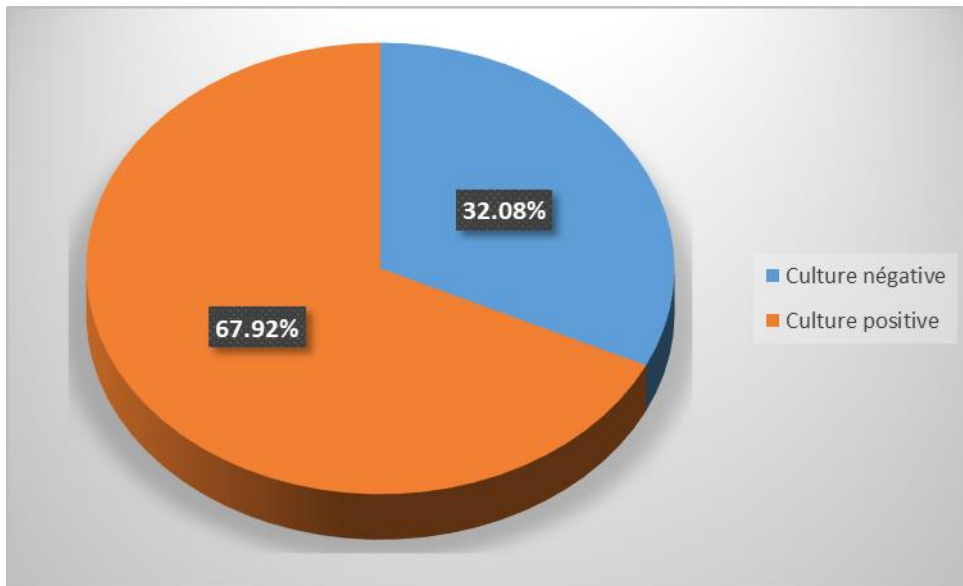


Figure 7. Répartition des prélèvements selon les résultats de cultures

Nos résultats sont proches à ceux de **Bankar *et al.*, (2018)** et **Gomatheswari et Jeyamurugan, (2017)**, soit un pourcentage de 78,55% et 71,49% de cultures positives respectivement, mais sont supérieurs à ceux trouvés par **Mahat *et al.*, (2017)** avec 43,7% de cultures positives. Les cultures négatives s'expliquent soit par la présence des germes exigeants et qui ne poussent pas dans les milieux usuels notamment les germes anaérobiques, soit sont liées le plus souvent à un traitement antibiotique entrepris durant la période de prélèvement ou bien d'une suspicion d'infection qui n'a pas lieu.

III.3. Répartition des prélèvements positifs selon le sexe

D'après les résultats de cette étude, le taux de prélèvements purulents positifs chez les patients de sexe féminin (52,87%) se rapproche à celui des patients de sexe masculin (47,22%) ($P > 0.07$), avec un sexe ratio Femme/ Homme de 1.11 (**Figure 8**).

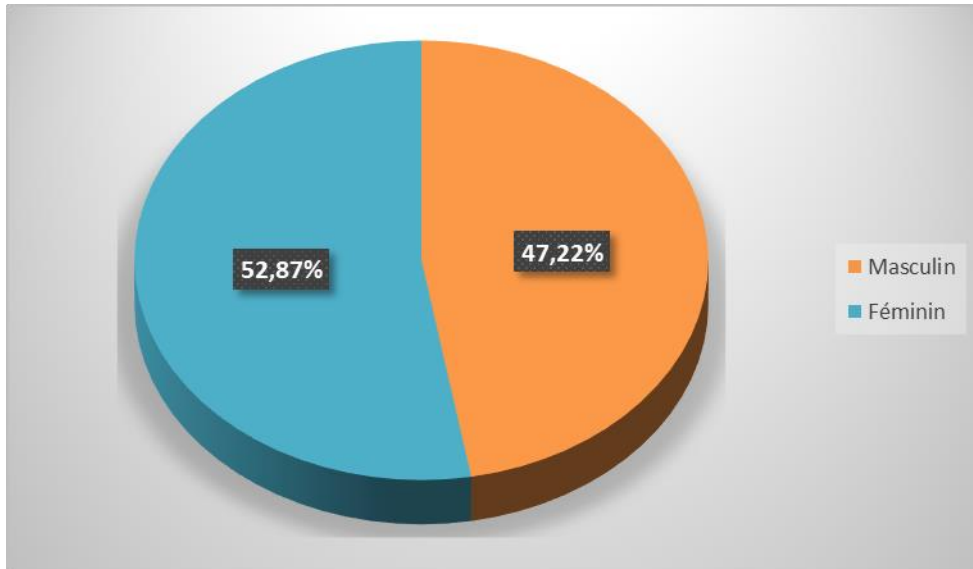


Figure 8. Répartition des prélèvements selon le sexe

Nos résultats divergent des résultats obtenus par **Gomatheswari et Jeyamurugan (2017)**, / et **Batatia et Daoudi (2016)** rapportant une prédominance des infections purulentes chez le sexe masculin. Cette différence pourrait s'expliquer par l'inégalité de la taille de la population étudiée.

III.4. Répartition des prélèvements positifs selon le type de culture

L'analyse cytot bactériologique du pus nous a permis de classer les cultures en deux groupes : cultures monomicrobiennes avec un taux de 71,43% et cultures polymicrobiennes avec un taux de 28,57% (**Figure 9**).

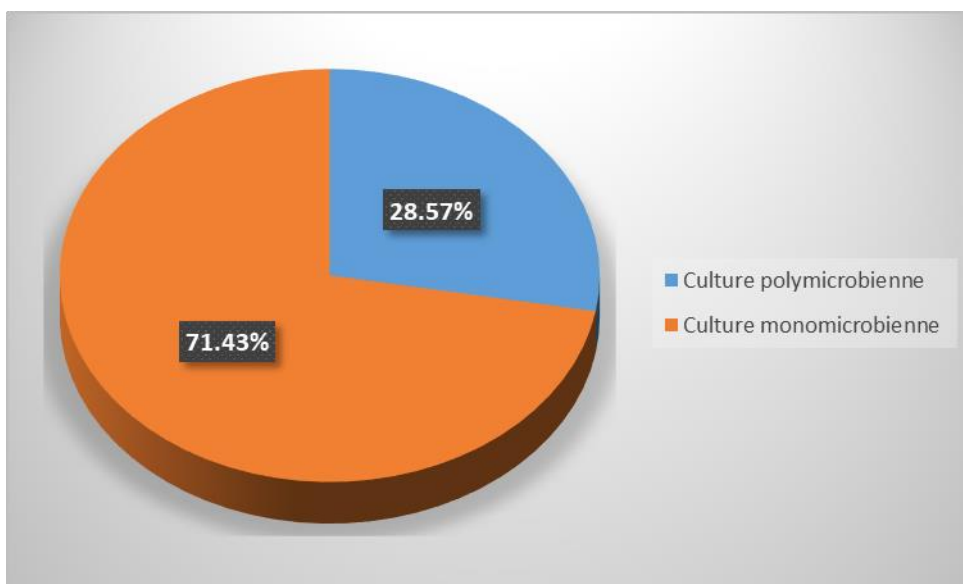


Figure 9. Répartition des résultats positifs selon le type de culture

Nos résultats sont en concordance avec ceux rapportée par **Verma, (2012)** et ceux retrouvés par **Amin *et al.*, (2017)** qui ont trouvé des taux de 84,31% et 79,92% des cultures monomicrobiennes respectivement. Les cultures polymicrobiennes peuvent être issues de prélèvements effectués au niveau de zones superficielles qui sont donc contaminés directement par la flore commensale ou bien de prélèvements effectués au niveau de zones profondes communiquant avec des flores commensales qui peuvent contaminer le prélèvement.

Selon **Bernatchez, (2009)**, les infections sont polymicrobiennes lorsqu'elles sont profondes et/ou chronique et/ou déjà traitées aux antibiotiques. Le préleveur, les instruments, les salles et l'environnement hospitalier peuvent constituer également des sources de contamination de prélèvements

III.5. Profil bactériologique des infections purulentes

III.5.1. Répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram

Dans l'ensemble des cultures positives, nous avons isolé et identifié 45 germes. Les résultats illustrés dans la **figure 10** indiquent que 65,91% du total des isolats sont des bactéries à Gram négatif alors que 34,09% sont des bactéries à Gram positif.

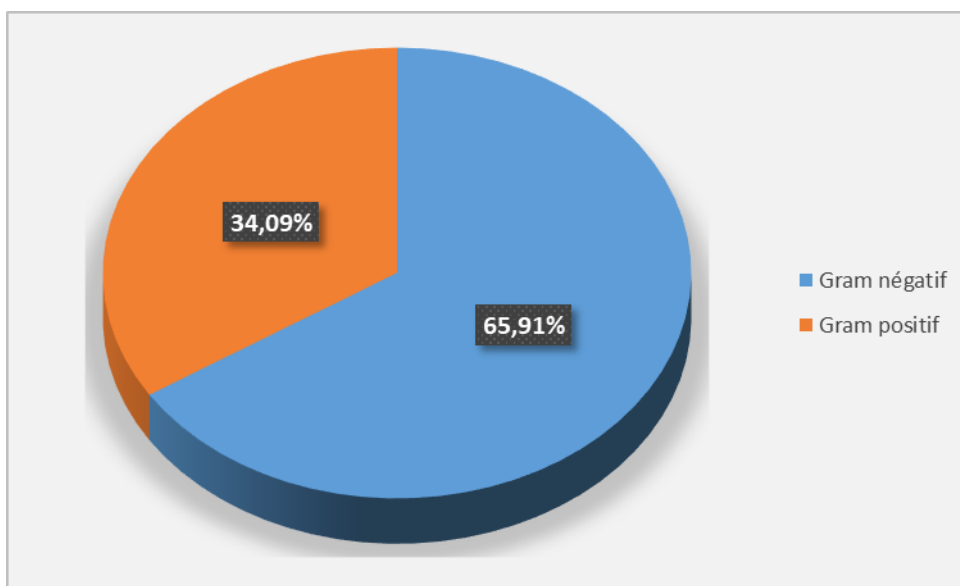


Figure 10. Répartition des isolats bactériens selon la coloration de Gram

Nos résultats sont semblables à ceux de **Wadekar et al., (2020)** (61,38% gram négatives et 38,62% gram positif), **Bankar et al., (2018)** (51,97% gram négatif et 47,36% gram positif), **Mahat et al., (2017)** (71,82% gram négatif et 28,18% gram positif) et **Shama et al., (2018)** (89% Gram négatif et 11% gram positif). Cette prédominance des bactéries à Gram négatif dans les infections purulentes pourrait être dû à la résistance élevée de ces bactéries par rapport aux isolats à Gram positif et donc à leur persistance dans les plaies infectées.

III.5.2. Répartition des bactéries isolées selon le groupe bactérien

La répartition des souches isolées selon le groupe bactérien montre que les entérobactéries sont les germes les plus incriminés à 51,11% (23 souches), suivis par les Staphylocoques avec un taux de 15,56% (7 souches), puis les BGN non fermentaires et les entérocoques les deux avec un taux de 13,33% (6 souches), suivi par les Streptocoques avec un taux de 6,66% (3 souches).

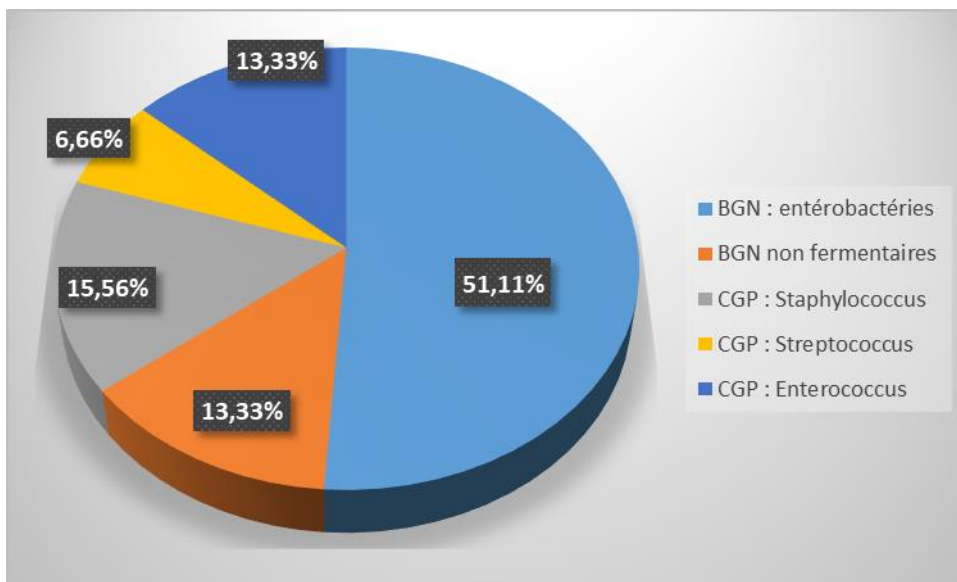


Figure 11. Répartition des bactéries isolées selon le groupe bactérien

Nos résultats sont en concordance avec les résultats d'une étude menée dans le CHU de Tizi-Ouzou par **Batatia et Daoudi, (2016)** et ceux de **Gomatheswari et Jeyamurugan, (2017)** qui ont montré une prédominance des entérobactéries suivi par les Cocci Gram positif. Les entérobactéries constituent une très vaste famille qui représente près des trois quarts des isollements d'un laboratoire de bactériologie médicale (**Denis et al., 2007**). Les espèces de

cette famille représentent la flore endogène de l'intestin. Elles sont à l'origine d'un grand nombre d'infections communautaires et d'infections nosocomiales (Pilly *et al.*, 2013).

III.5.3. Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne

D'après nos résultats de la répartition des différentes espèces isolée (Tableau I), nous avons observé que *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* sont les espèces les plus isolées avec 7 souches représentant 15,91% des isolats, suivit par *Escherichia coli* avec 6 souches (13,64%) et *Pseudomonas aeruginosa* avec 5 souches (11,36%)

Tableau I. Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne.

Famille/ genre		Espèce		Nombre (%)
Entérobactéries	23(52,27%)	<i>Escherichia coli</i>		6 (13,64 %)
		<i>Klebseilla</i>	<i>K. pneumoniae</i>	7 (15,91%)
			<i>K. oxytoca</i>	1 (2,27%)
		<i>Enterobacter</i>	<i>E. aerogenes</i>	1 (2,27%)
			<i>E. cloacae</i>	1 (2,27%)
		<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i>	2 (4,55%)
			<i>S. fecaria</i>	1 (2,27%)
		<i>Proteus</i>	<i>P. mirabilis</i>	3 (6,82%)
			<i>P. vulgaris</i>	1 (2,27%)
		BGN non fermentaires	6(13,64%)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Acinetobacterbaumannii</i>				1 (2,27%)
<i>Enterococcus</i>	7(13,64%)	<i>E. faecium</i>		3 (6,82%)
		<i>E. faecalis</i>		2 (4,55%)
		<i>E. durans</i>		1(2,27%)
		<i>S. spp</i>		2 (4,55%)

Résultats et discussion

<i>Streptococcus</i>	3(6,66%)	<i>S. pyogenes</i>	1(2,27%)
<i>Staphylococcus</i>	7(15,91%)	<i>S. aureus</i>	7(15.91%)

Dans notre étude, le pourcentage d'isolement des *S. aureus* est de 15,91%. Ce résultat est proche à celui rapporté par plusieurs études : **Amine et al., (2017)** (14,3%), **Gomatheswari et Jeyamurugan, (2017)** (18,5%) et **Batatia et Daoudi, (2016)** (16,88%). *Staphylococcus aureus* est un pathogène humain courant qui peut coloniser la peau, le nez et le pharynx avec des narines antérieures comme réservoir principal (**Ansari et al., 2019**). C'est la principale cause des infections de la peau et les tissus mous. Elle provoque une variété de ces infections, allant du bénin (impétigo) à la mort immédiate. Il s'agit de l'agent pathogène le plus couramment isolé des infections du site opératoire (ISS), des abcès cutanés et de la cellulite purulente (**Tonge et al., 2015**).

Klebsiella pneumonia présente un taux d'isolement de 15,91%. Ce taux est proche à celui trouvé par **Rao et al., (2017)** (12,15%), **Gomatheswari et Jeyamurugan, (2017)** (12,5%) et **Kumari et al., (2017)** (9,6%). *Klebsiella pneumoniae* est un pathogène opportuniste, qui affecte principalement les personnes dont le système immunitaire est affaibli et tend à provoquer des infections nosocomiales. C'est une bactérie Gram-négative qui réside dans l'environnement, y compris dans le sol et les eaux de surface et sur les dispositifs médicaux. Elle colonise facilement les surfaces muqueuses humaines, y compris le tractus gastro-intestinal et l'oropharynx, où les effets de sa colonisation semblent bénins. À partir de ces sites, les souches de *K. pneumoniae* peuvent pénétrer dans d'autres tissus et provoquer des infections graves chez l'homme tel que les abcès hépatiques (**Paczosa et Meccas, 2016**).

13,64% des isolats sont représentés par *Escherichia coli*. Ce résultat concorde à celui obtenue par **Batatia et Daoudi (2016)** (17,29%), **Amine et al., (2017)** (10,8%) et **Verma, (2012)** (16%). *Escherichia coli* est l'habitant commensal le plus répandu des voies gastro-intestinales des humains, ainsi qu'un des agents pathogènes les plus importants (**Allocati et al., 2013**). Il est le premier germe responsable d'infections communautaires et nosocomiales dont les prostatites et de suppurations diverses à partir de la flore digestive tel que les péritonites et infections postopératoires (**Denis et al., 2007**).

Pseudomonas aeruginosa présente un taux d'isolement de 11,36%, ce qui corrèle avec l'étude de **Batatia et Daoudi, (2016)** (9,6% d'isolement), **Kumari et al., (2017)** (19,1% d'isolement) et **Verma, (2012)** (18% d'isolement). *Pseudomonas aeruginosa* est un bacille à Gram négatif qui est présent dans divers environnements. Un pathogène opportuniste associé à des infections souvent nosocomiales. Ces infections ont tendance à se produire en association avec les lésions de la peau, des dispositifs médicaux ou chez les personnes immunodéprimées (**Ballok et O'Toole, 2013**).

III.6. Profil de résistance des souches isolées

L'antibiogramme réalisé au cours de cette étude a été effectué sur chaque souche isolée, afin de déterminer sa sensibilité et sa résistance vis-à-vis de divers antibiotiques. Les diamètres des zones d'inhibition mesurés ont été comparés aux diamètres critiques conformément aux normes **CA-SFM(2014)**.

III.6.1. Profil de résistance des Entérobactéries

L'antibiogramme des 23 souches d'entérobactéries isolées a montré une variabilité dans le comportement de ses souches vis-à-vis aux antibiotiques. Les taux de résistance aux antibiotiques de notre série sont de : 95,65%, 73,91%, 39,13%, 39,13% et 17,39% pour l'ampicilline, céfazoline, l'ofloxacine, céfotaxime et la colistine respectivement. Toutes nos souches sont sensibles à l'amikacine (100%).

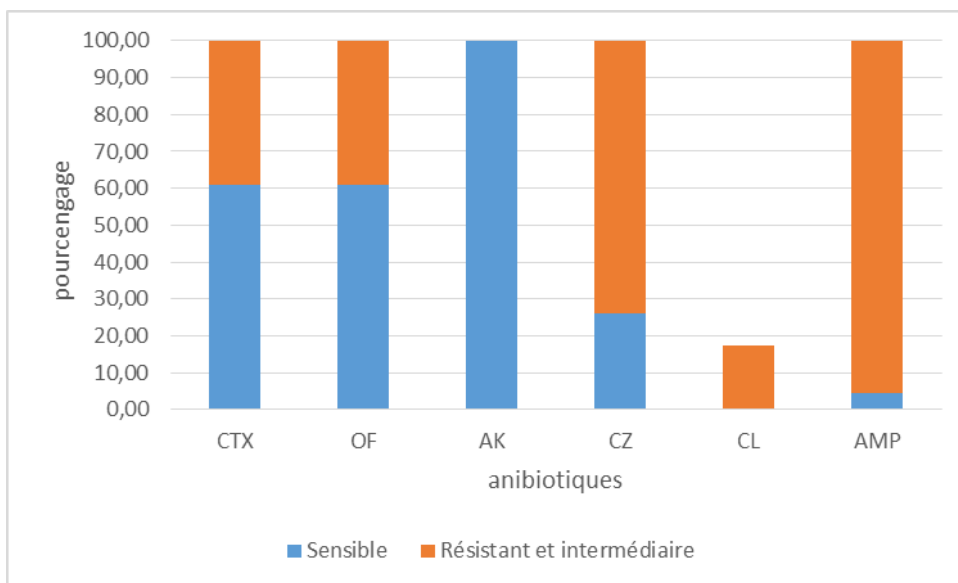


Figure 12. Profil de résistance des entérobactéries aux ATB testés (n=23)

Nos résultats corroborent avec ceux de **Benaouda-zaoui, (2013)** qui a noté une résistance élevée pour l'ampicilline (91%) et la céfazoline (70%), une résistance faible à la céfotaxime (34%), et une sensibilité élevée à l'amikacine (98%).

La résistance aux β -lactamines chez les Entérobactéries est principalement causée par des β -lactamases intrinsèques et acquises. Ces enzymes hautement diversifiées hydrolysent les bêta-lactames dans l'espace périplasmique, empêchant ainsi l'inhibition des protéines de liaison à la pénicilline. Des mécanismes non enzymatiques peuvent intervenir dans la résistance aux β -lactamines (la modification de la PLP, l'imprimabilité de l'antibiotique et les pompes à efflux). La résistance aux aminosides chez les Entérobactéries repose principalement sur les enzymes modifiant les aminosides qui entravent l'activité antibiotique (aminoside phosphotransférase, aminoside nucléotidyltransférase et aminoside acétyltransférase) ainsi que des méthylases de la sous-unité ribosomale 16S (c'est-à-dire la cible des aminosides). Toutes les Entérobactéries sont naturellement sensibles aux quinolones et aux fluoroquinolones. Une résistance de haut niveau émerge après des mutations chromosomiques successives dans les gènes codant l'ADN gyrase et topoisomérase IV (respectivement *gyrA* et *parC*). Les mutations chromosomiques peuvent également entraîner une diminution de la perméabilité ou une surexpression des pompes à efflux, entraînant une sensibilité réduite. Pour la résistance à la colistine, aucun déterminant de résistance transférable n'a été décrit et la résistance à la colistine repose principalement sur des mutations de gènes impliqués dans la polarité de la membrane externe (**Ruppé et al., 2015**).

➤ *Klebsiella* spp

L'étude de la résistance des 8 souches de *Klebsiella* spp aux différents antibiotiques a montré que ces bactéries sont résistantes à la plupart des antibiotiques. Les taux de résistance sont de 100 %, 87,5 %, 87,5 % et 50% pour l'ampicilline, la céfazoline, la céfotaxime et l'ofloxacine respectivement. Ces souches montrent une sensibilité totale (100%) vis-à-vis l'amikacine.

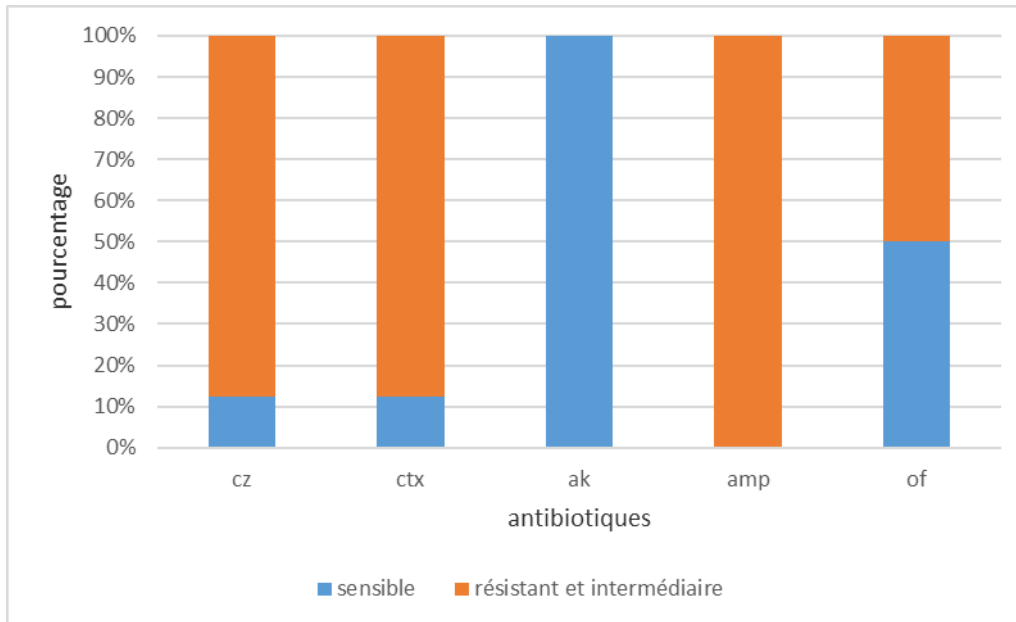


Figure 13. Résultats d l'antibiogramme de *Klebsiella* spp (n=8)

La résistance de souches de *Klebsiella sp* à l'ampicilline est en concordance avec les résultats d'**Amin et al., (2017)** (88,9%) et **Gomatheswari et Jeyamurugan, (2018)** (83%).

Klebsiella pneumoniae est naturellement résistante aux pénicillines des groupes G et A et à la carbénicilline sous l'effet d'une pénicillinase chromosomique appelée SHV1 (**Joly et Reynaud, 2002**). La résistance aux β -lactamines chez *Klebsiella pneumoniae* peut être due à la production de pénicillinase à haut niveau qui se caractérise par une résistance à très haut niveau aux amino et carboxy-pénicillines, et par une réduction de l'activité des uréedopénicillines et des céphalosporines de première et de deuxième génération (**Jarlier et Nordmann, 2000**). Ce sont des β -lactamases plasmidique de classe C d'Ambler qui présentent une résistance à l'ensemble des β -lactamines excepté les carbapénèmes et notamment aux C3G par acquisition d'un gène plasmidique (AmpC) (**Cavallo et al, 2004**). Des β -lactamase à spectre élargi (BLSE) peuvent être impliqués. Ils sont caractérisés par une forte diminution de l'activité des pénicillines, des céphalosporines de première, deuxième et troisième générations et de l'aztréonam (**Jarlier et Nordmann, 2000**). La diminution de la perméabilité de l'antibiotique peut être impliquée. La résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* aux quinolones est devenue préoccupante tant en milieu hospitalier qu'en médecine communautaire. Cette résistance est due à la protéine codée par le gène de résistance (qnr A) a été nommée QNR A, de 218 acides aminés qui protègent le complexe ADN-gyrase de l'inhibition par les quinolones (**Meradi et al., 2009**).

➤ *Escherichia coli*

Les 6 souches d'*Escherichia coli* isolées ont montré une résistance élevée vis-à-vis l'ampicilline (83,33%) et modéré à l'ofloxacine (50%). Alors qu'un taux faible de résistance au céfotaxime (33,33%) et la céfazoline (33,33%) a été noté. Aucune résistance n'a été signalée pour la l'amikacine. L'ensemble des antibiotiques testés et les résultats de l'antibiogramme sont résumés dans la **figure 16**.

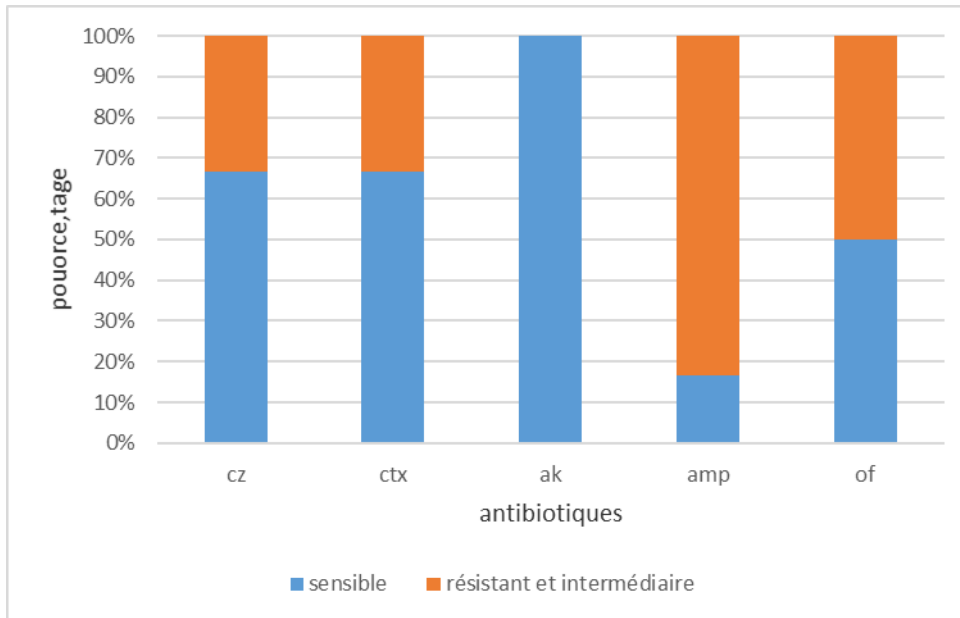


Figure 14. Profil de résistance d'*Escherichia coli* aux ATB testés (n=6)

Nos résultats sont proches à ceux rapportés par **Batatia et Daoudi, (2016)** (94,69%, 24,5%, 59,4%, 97,08% et 95,12% pour l'ampicilline, la céfotaxime, la céfazoline, la colistine et l'amikacine respectivement). La résistance aux aminopénicillines (ampicilline) et aux céphalosporines de première génération (céfazoline) chez *E. coli* est souvent médiée par la production de β -lactamases à spectre étroit telles que TEM-1, TEM-2 et SHV-1. *Escherichia coli* produit également des β -lactamases qui provoquent une résistance aux céphalosporines à spectre étendu et/ou aux carbapénèmes. Ces enzymes comprennent les β -lactamases AmpC médiées par le plasmide, les β -lactamases à spectre étendu (les types TEM, SHV, CTX-M) et les carbapénémases (métallo- β -lactamases). La régulation à la hausse des pompes d'efflux peut réduire les susceptibilités aux fluoroquinolones chez *Escherichia coli*, mais une résistance de haut niveau aux fluoroquinolones nécessite généralement des mutations de 1 à 2 points dans les régions de détermination de la résistance aux quinolones de *gyrA* et *parC*, les gènes chromosomiques codant respectivement pour l'ADN gyrase et la topoisomérase IV (**Pitot et al., 2015**).

➤ *Proteus spp*

Une sensibilité élevée vis-à-vis céfotaxime et l'amikacine a été montrée dans les antibiogrammes des 4 souches du *Proteus spp*. Toutes les souches ont montrées une résistance élevée à l'ampicilline et la céfazoline et la colistine, alors qu'une souche a montré une résistance vis-à-vis l'ofloxacin. Ces résultats corroborent avec ceux dénoncés par le réseau algérien de la surveillance de la résistance bactérienne des antibiotiques.

Proteus spp sont naturellement résistants aux polymyxines (colistine). Des β -lactamases à spectre étroit ont été signalées chez *Proteus spp*. Ces enzymes hydrolysent les pénicillines à spectre étroit, légèrement les céphalosporines de 1ère génération (GC) mais ne sont pas actives sur les 2e et 3e GC et les carbapénèmes. La résistance aux quinolones est due à la protection de la cible quinolone (ADN gyrase et topoisomérase IV) et des pompes à efflux spécifiques aux quinolones (**Girlich et al., 2020**).

➤ *Serratia spp*

3 souches de *Serratia spp* ont été isolées. Les antibiogrammes de ces souches ont montré une résistance totale vis-à-vis l'ampicilline. Une sensibilité totale à la céfotaxime et l'amikacine a été marquée. Deux souches présentent une résistance élevée à la céfazoline. 1/3 souche était résistante à colistine et une autre était résistante à l'ofloxacin. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par le réseau algérien de la surveillance de la résistance bactérienne des antibiotiques. Une souche de *Serratia marcescens* présente une résistance à la colistine, c'est l'aspect en cocarde qui détermine cette résistance.

La résistance aux β -lactamines peut être attribuée aux β -lactamases à spectre étendu médiées par les plasmides (BLSE) et à la β -lactamase chromosomique *AmpC*, qui peuvent être induites par la céfoxitine. La constitutive expression de pompes à efflux, faible perméabilité de son membrane extérieure et l'altération de la liaison à la pénicilline cibles de protéines peuvent contribuer à cette résistance (**Moradigavarand, 2016**). La résistance aux fluoroquinolones est le résultat de mutations dans l'ADN gyrase et surexpression de pompes d'efflux (**Yang et al., 2012**).

➤ *Enterobacter spp*

Les 2 souches d'*Enterobacter spp* étaient résistantes à l'ampicilline et la céfazoline. Ces résultats corroborent avec ceux de **kumari et al.,(2018)** et **Amin et al.,(2017)**. Nous avons noté une sensibilité totale vis-à-vis l'ofloxacin, l'amikacine et la céfotaxime. Nos résultats

sont en discordance avec ceux obtenues par **Kumari et al.,(2018)** qui ont signalé une résistance totale à la céfotaxime et la colistine.

Les espèces du genre *Enterobacter* ont des profils semblables de résistance aux antibiotiques, étant intrinsèquement résistantes à l'ampicilline, l'amoxicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, céfalocone (céphalosporines de première génération), céfoxitine (céphalosporine de deuxième génération) et céfamandole (**Harris, 2015**).

Selon le réseau algérien de la surveillance de la résistance bactériennes des antibiotiques, les souches d'*Enterobacter aerogenes* et *E. cloacae* sont naturellement résistantes à l'ampicilline et à la céfazoline, et sont naturellement sensible à l'ofloxacine, l'amikacine, la céfotaxime et la colistine.

III.6.2. Profil de résistance des bacilles à Gram négatif non fermentaires

Nous remarquons dans la **figure 17** que la sensibilité des 6 souches des BGNNF était d'un taux de 100% pour la céftazidime, de 83,33% pour la lévofloxacine, et la tobramycine, l'aztréonam et la colistine et de 66,67% pour chacun de la ticarcilline, l'amikacine et la nétilmicine. Nous remarquons aussi une faible résistance de 40% à l'ofloxacine et la piperacilline et une très faible résistance de 16,67% à la lévofloxacine et la ticarcilline.

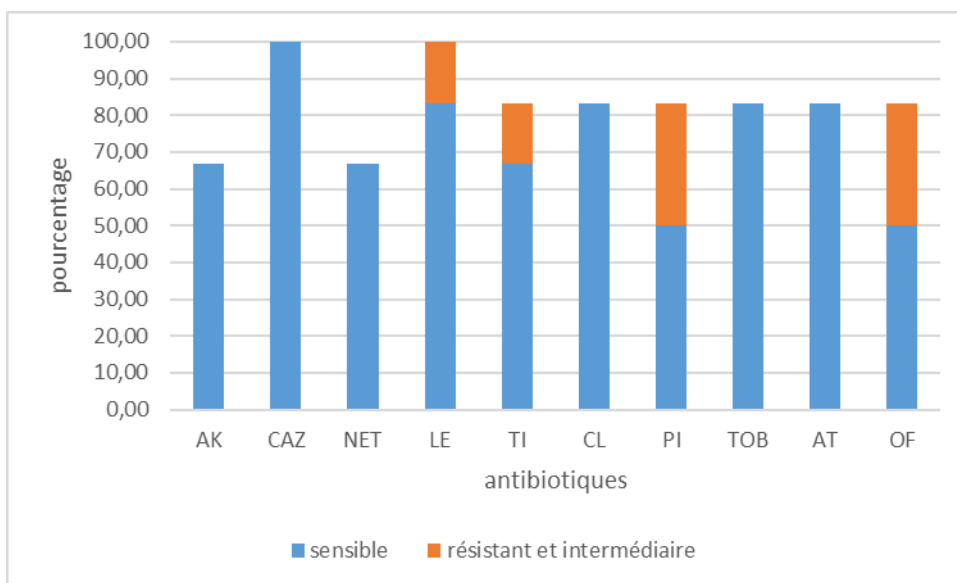


Figure 15. Résultats d l'antibiogramme des bacilles à Gram négatif non fermentaires (n=6)

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient au nombre de 5. Elles étaient toutes sensibles à la céftazidime et à la colistine. Une sensibilité élevée de 80% a été montrée vis-à-vis à, la netilmicine, la lévofloxacine, l'aztréonam et la tobramycine. Une faible résistance de 40% a été notée vis-à-vis l'ofloxacine et de 20% vis-à-vis la pipéracilline et la ticarcilline et la lévofloxacine.

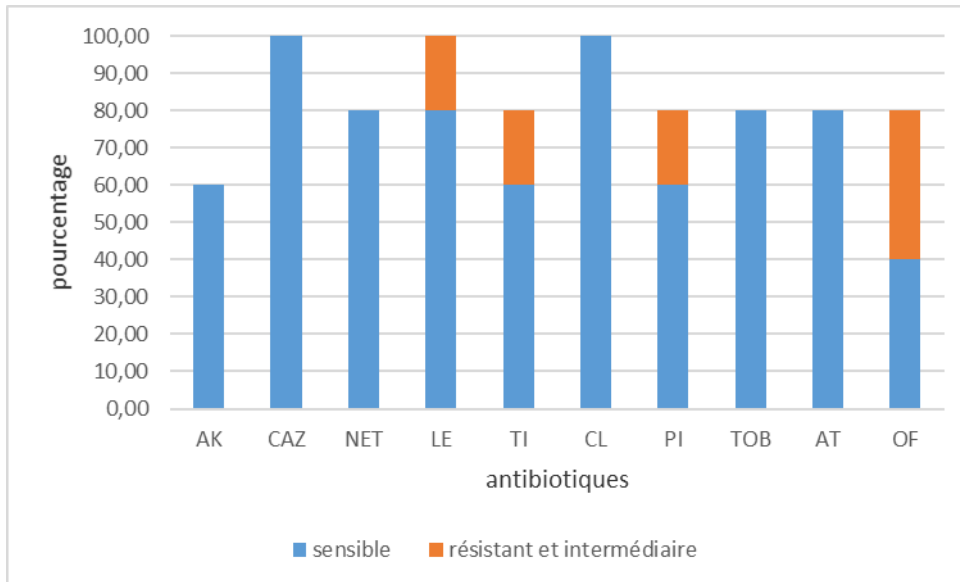


Figure 16. Profile de résistance de *P. aeruginosa* (n=5)

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* montrent une sensibilité élevée vis-à-vis les antibiotiques testés. Nos résultats sont confirmés par le réseau algérien de la surveillance de la résistance bactérienne des antibiotiques, qui montre une sensibilité naturelle vis-à-vis la céftazidime, la colistine et la nétilmicine, et une sensibilité inconstante à la ticarcilline, la lévofloxacine, la tobramycine, la pipéracilline et à l'aztréonam.

P. aeruginosa possède plusieurs systèmes d'efflux à trois composants, dont certains confèrent une résistance aux β -lactames lorsqu'ils sont fortement exprimés. La surexpression confère une résistance à la ticarcilline, à l'aztréonam, au céfépime et au méropénem. *P. aeruginosa* héberge une céphalosporinase inductible de type AmpC qui peut être dérégulée suite à des mutations dans le système de régulation. La résistance aux fluoroquinolones résulte de mutations dans les gènes codant pour la topoisomérase II et IV et / ou de l'hyper-expression des systèmes d'efflux (Ruppé et al., 2015)

➤ *Acinetobacter baumannii*

La seule souche *d'A. baumannii* a montré une sensibilité à l'ofloxacine, la colistine, l'amikacine, la céftazidime, la levofloxacine, la tobramycine, la ticarcilline. Alors qu'une résistance vis-à-vis la pipéracilline. La plupart du temps, la résistance acquise aux uréidopénicillines (pipéracilline) et au C3G repose sur la surproduction de la céphalosporinase de type AmpC (Ruppé *et al.*, 2015).

III.6.3. Profil de résistance des Staphylocoques

➤ *Staphylococcus aureus*

Un totale de 7 souches de *S. aureus* ont été isolées. Nous avons constaté une très grande résistance de ses souches vis-à-vis à la pénicilline (100%). Les résultats de l'antibiogramme ont montré que toutes ces souches étaient sensibles à la Vancomycine, l'amikacine, la rifampicine et la teicoplanine. On note également des taux faibles de résistance vis-à-vis la lévofloxacine, l'ofloxacine, la pristnamycine, l'oxacilline, la céfoxitine, l'érythromycine, la tétracycline, la clindamycine et l'acide fusidique 14,29%, 14,29%, 28,57%, 14,29%, 14,29%, 28,57%, 14,29%, 28,57% et 42,86% respectivement.

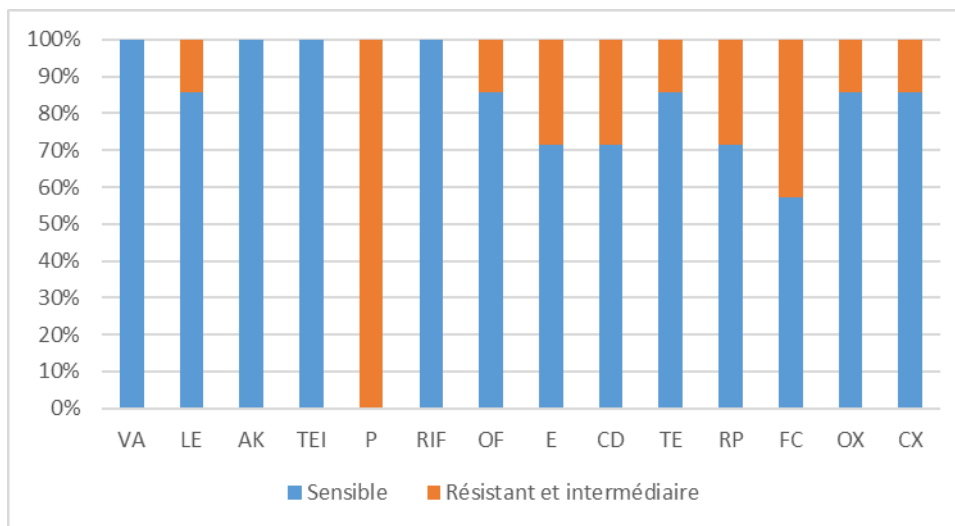


Figure 17. Profil de résistance de *Staphylococcus aureus* (n=7)

La résistance totale des souches de *Staphylococcus aureus* qui a été enregistrée pour la pénicilline, est proche de celle trouvée par Rao *et al.*, (2014), Khanam *et al.*, (2018), Benaouda-zaoui, (2013) et Btataia et Douadi, (2016) avec des taux de 84,62%, 84,5%, 94% et 94,47% respectivement. Toutes les souches isolées de *S. aureus* sont sensibles à la vancomycine, la rifampicine et à la teicoplanine, ce qui concorde avec les résultats trouvés par Btataia et Douadi, (2016). On note une sensibilité totale vis-à-vis la rifampicine, ce qui est proche des résultats trouvés par Batatia et Daoudi (2016) (93,45%) et Benaouda-zaoui 2013

(96%). une sensibilité élevée à la clindamycine (71,43%) ces résultats sont en concordance avec les résultats trouvés par **Rao et al., (2014)** (65,38%), **Benaouda-zaoui (2013)** (96%) et **Btataia et Douadi, (2016)** (77,82%). La résistance faible à la l'oxacilline (14,29%) est proche de celle trouvée dans l'étude de **Benaouda-zaoui (2013)** (18%).

La résistance aux β -lactamines chez les staphylocoques repose sur deux grands types de mécanismes : un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP. La résistance à la pénicilline est due à la production d'une β -lactamases (pénicillinase) codé par le gène *blaZ* d'origine chromosomique ou porté sur un transposon présente chez 90 % des isolats cliniques de *S. aureus*. Pour la résistance aux MLS, plusieurs mécanismes peuvent être impliqués. La modification de la cible de l'antibiotique par une méthylation d'une adénine de la sous unité 23s de l'ARN ribosomique par des méthylases sont codées par les gènes *erm*. Des enzymes inactivatrices qui modifient l'antibiotique lui-même, peuvent appartenir à la classe des hydrolases, des acétyltransférases ou des phosphotransférases ou une résistance par efflux peuvent être impliqués. La résistance aux quinolones peut être due à la modification de la cible qui implique une mutation au niveau des gènes chromosomique *griA* ou *griB* de la topoisomérase IV, l'altération des sous-unités A ou B de la gyrase par introduction d'une mutation au sein des gènes *gyrA* ou *gyrB* ou bien l'efflux de la drogue grâce à une protéine transmembranaire codée par le gène *norA*, chromosomique. (**Quincampoix et Mainardi, 2001**).

➤ Taux de *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM) et leur profil d'antibiorésistance

La résistance à la méthicilline a été déterminée en utilisant le disque de céfoxitine. Parmi les 7 souches de *Staphylococcus aureus*, 14,29% sont des SARM c.-à-d. présentant une résistance à la céfoxitine, ce qui correspond à une seule souche. Ce résultat est proche aux résultats trouvés par **Batatia et Douadi, (2016)** (18%).

Cette Résistance est due à l'acquisition d'une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle « la PLP2a ». Les PLP sont des protéines possédant une activité enzymatique (transpeptidases, carboxypeptidases ou glycosyltransférases) impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne et possédant une affinité pour les β -lactamines. La résistance à la méticilline, qui entraîne une résistance à toutes les β -lactamines, est déterminée par la

présence d'un gène chromosomique (*mecA*) inclus dans un élément génétique mobile "la cassette staphylococcique" (SCC*mec* : *staphylococcal cassette chromosome mec*), ce gène code pour la PLP2a. Cette PLP additionnelle à moins d'affinité pour les β -lactamines et en particulier pour la méticilline (Quincampoix et Mainardi, 2001).

III.6.4. Profil de résistance des Entérocoques

Les résistances des 6 souches d'*Enterococcus sp* a été modérée vis-à-vis la tecarcyline (50%) et faible vis-à-vis la pristinamycine (33,33%), la clindamycine (33,33%) et l'érythromycine (33,33%). Nous avons noté une bonne sensibilité à la lévofloxacine (100%), la vancomycine

(100%),

l'ampicilline

(100%) et la

rifampycine

(83,33%).

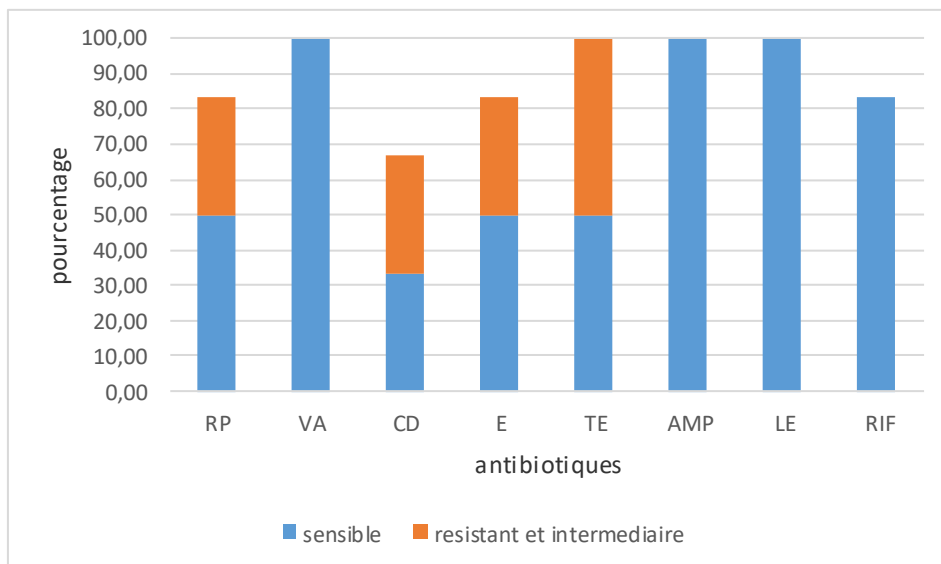


Figure 18. Profil de résistance des Entérocoques (n=6)

Deux mécanismes sont impliqués dans la résistance aux MLS, la modification de la cible par une méthylase codée par les gènes *ermA* ou *ermB*. Existence d'un mécanisme d'efflux, le gène *msrC* code pour une protéine impliquée dans l'efflux de l'érythromycine. (Quincampoix et Mainardi, 2001).

III.6.5. Profil de résistance des Streptocoques

Le profil de résistance des 3 souches de Streptocoques a montré une sensibilité totale vis-à-vis la vancomycine, lévofloxacine, ofloxacine et la tecarcyline. Une souche a montré une

résistance vis-à-vis la pristinamycine, la clindamycine, l'érythromycine et la rifampicine, alors que les autres étaient sensibles.

Les Streptocoques montrent encore une bonne sensibilité à la plupart des médicaments. Ces résultats sont similaires à ceux de **Rao *et al.*, (2014)** et **Khanam *et al.*, (2018)**. La résistance aux Macrolides, Lincosamides, Streptogramines (MLS) peut être due à plusieurs mécanismes : la modification de cible causée par des ARNr méthylase (gènes de la classe *erm*), des mutations ciblant l'ARNr 23S ou acquisition d'efflux actif.



Conclusion

Les infections suppuratives sont des infections courantes pouvant être causées par divers micro-organismes, nécessitant ainsi une antibiothérapie. L'utilisation excessive et parfois inadéquate des antibiotiques, a conduit à l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques. Il est donc important de maîtriser les profils épidémiologiques des germes impliqués et leurs sensibilités aux antibiotiques.

Les résultats obtenus durant notre étude montrent que les prélèvements purulents ont un taux de positivité de 67.92%. L'examen cyto bactériologique des prélèvements purulents nous a permis d'isoler 44 germes, avec une prédominance des bactéries à Gram négative avec un pourcentage de 65.91%. Les espèces les plus isolées étaient *Klebsiella pneumoniae* (15.91%), *Staphylococcus aureus* (15.91%), *Escherichia coli* (13.64%) et *Pseudomonas aeruginosa* (11.36%).

L'analyse des résultats de l'antibiogramme des souches isolées a permis de mettre en évidence la présence des taux élevés de résistance aux principales familles d'antibiotiques testées notamment chez les entérobactéries. L'amikacine était l'antibiotique le plus efficace contre ces derniers. *Klebsiella pneumoniae* a présenté une résistance élevée aux β -lactamines y compris les céphalosporines de troisième génération et aux quinolones. La présence des SARM a été signalée dans 14,29% des cas. Aucune souche de Cocci Gram positive n'a été résistante aux glycopeptides.

Les résultats de cette courte étude nous incitent à proposer quelques recommandations :

- Renforcement de l'application des mesures d'hygiène, et plus précisément l'hygiène des malades et de l'environnement hospitalier, surtout le lavage des mains et le port de gants afin de minimiser les infections purulentes nosocomiales.
- Sensibiliser la population à éviter l'automédication des antibiotiques qui constitue un risque des échecs thérapeutiques et facilite l'émergence des résistances bactériennes.
- Mettre en place un réseau de surveillance des bactéries multi-résistantes et contre les infections nosocomiales.

En perspective, ils seraient intéressant de compléter l'étude par :

- Elargir la taille de l'échantillon et la durée de l'étude.
- La détection phénotypique et génotypique des mécanismes de résistance aux antibiotiques par technique de biologie moléculaire.
- Tester l'effet antibactérien des extraits naturels et les huiles essentielles des plantes médicinales contre les souches incriminées pour établir des traitements alternatives.



Références bibliographiques

Al-Anazi K. et M. Al-Jasser A. (2014). Infections caused by *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Oncology*, **4**:1196.

Amin, M.A., El-Khlousy, M., Elberry, A.A., Hussein, R.R., Mostafa Kamel, N. (2017). Bacterial Profile and Antimicrobial Resistance Pattern of Pus Isolates in Beni-Suef University Hospital from 2008-2014: An Observational Study. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. **43**(139): 206-10.

Ansari, S., Jha, R.K., Mishra, S.K., Tiwari, B.R., Asaad, A.M. (2019). Progrès récents dans l'infection à *Staphylococcus aureus* : focus sur le développement de vaccins. *Infection and Drug Resistance*, **12**:1243–1255.

Asif, M., Alvi, I., Rehman S. (2018). Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infection and Drug Resistance*, **111**:1249-1260.

Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. (1992). Bactériologie clinique. 2ème édition. Paris: Ellipses,

Avril, J.L., Denis, F., Dabernat, H., Monteil, H. (2000). Bacteriologie clinique, 3 ème éd., Marketing, pp. 148-280.

Bankar, N., Wankhade, A., Brahmane, R., Hathiwala, R., Chandi, D. (2018). Bacteriological Profile of PUS/ WOUND SWAB and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus Aureus* Isolated From PUS & WOUND SWAB of Indoor Patients of Tertiary Care Hospital, Durg, Chhattisgarh India. *International Journal of Innovative Research in Medical Science* , **3** (4):2455-8737.

Barbier, F., Wolff, M. (2010). Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*. Vers l'impasse thérapeutique. *Médecine sciences*, **26**(111): 960 - 968.

Batatia K., Douadi, H. (2016). Évaluation de la résistance des bactéries isolées de suppurations aux antibiotiques au CHU de Tizi-Ouzou durant l'année 2016.

Battu, V., Brischoux, S. (2012). Les plaies: définitios et étiologie, *Actualités pharmaceutiques*, **1516** :1

Begon, E. (2013). Érysipèle, dermohypodermes bactériennes et fasciites nécrosantes. *EMC-Médecine d'urgence*, **8**(2) : 1.

Benaouda-zaoui, S. (2013). Examen cyto bactériologique des suppurations cutanées et des foyers d'infections fermés. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de master en biologie, université Blida 1.

Biradar, A., Farooqui, F., Prakash, R., Khaqri, S.Y., Itagi, I. (2016). Aerobic bacteriological profile with antibiogram of pus isolates. *Indian J Microbiol Res*, 3(3):245-249.

Britannica .(2006). <https://www.britannica.com/science/abscess>. consulté le 14/8/2020.

Carle, S. (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*, 42 :6-21.

Cavallo, J-D., R. Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., Garrab, E. (2004). Bêtalactamines. *EMC-Maladies Infectieuses*, 1:129-202.

Chassaignac, E. (1859). Traité pratique de la suppuration et du drainage chirurgical, Paris, 1p.

CHU de Liège. (2013). https://www.chu.ulg.ac.be/jcms/c_6892196/fr/pus-de-culture-aerobie-d-un-pus-de. Consulté le 14/8/2020.

CHU-PS Pitié-Salpêtrière. (2003). Bactériologie DCEM1. Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière. Service de Bactériologie.

Crouzilles, C. (2011). Infectiologie et hygiène : gestion des risques et soins infirmiers, Elsevier Masson, 3p.

Dagnachew, M., Yitayih, W., Getachew, F., Tesfaye, N ., Kasaw, A., Belete, B., Habtie, T., Feleke, M. (2014). Bacterial isolates and their antibiotic susceptibility patterns among patients with pus and/or wound discharge at Gondar university hospital . *BMC Research Notes*,7(1619):1-5.

Dallaris C. (2007). Microbiologie Pratique Pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire, Paris : Lavoisier, pp. 128-129.

Davin-Regli , A., Pagès, J.-M. (2015). *Enterobacter aerogenes* et *Enterobacter cloacae*: pathogènes bactériens polyvalents confrontés au traitement antibiotique. *Frontiers in Microbiology*, 6(1293).

Denis, F., Ploy, M.-C., Christian, M., Bingen, É., Quentin, R. (2007). Bactériologie médicale: techniques usuelles, Elsevier Masson, paris.

Denis, F., Ploy, M.-C., Christian, M., Bingen, É., Quentin, R. (2011). Bactériologie médicale: techniques usuelles, 2eme édition, Elsevier Masson, paris.

Drzewiecka, D. (2016). Importance et rôles de *Proteus* spp. Bactéries dans les environnements naturels. *Microb Ecol*, **72**(4): 741–758.

Duggal, S., Khatri, PK., Parihar, RS., Arora, R. (2015). Antibigram of Various Bacterial Isolates from Pus Samples in a Tertiary Care Centre in Rajasthan. *Int J Sci Res.*; **4**(5):1580–84.

Engbaek, K., El nageh, M.M, Groon, J. (1997). Specimen collection and transport for microbiological investigations. *WHO regional publication, Eastern Mediterranean series*; 8.

Fedrigo, G., Campoy, E., Di-Venanzio, G., Colombo, M., Vescovi E. (2011). *Serratia marcescens* Is Able to Survive and Proliferate in Autophagic-Like Vacuoles inside Non-Phagocytic Cells. *PLoS ONE*, **6**(18): 1-15.

Gaschignard, J., Bid, P., Faye, A. (2019) Infections à streptocoques et entérocoques. *EMC - Pédiatrie/Maladies infectieuses*. **14**(14) :1-25. .

Gheit, A., (2011). Les principales bactéries isolées des pus superficiels et leur comportement vis-à-vis des antibiotiques.

Girlich, D., Bonnin, R.A., Dortet, L., Naas, T. (2020). Génétique des gènes de résistance aux antibiotiques acquis chez *Proteus* spp. *Frontiers in Microbiology*, **11**: 256.

Gomatheswari, S., Jeyamurugan, T. (2017). Bacteriological Profile and the Antibiotic Susceptibility Pattern of Microorganisms Isolated from Pus/Wound Swab Isolates in Patients Attending a Tertiary Care Hospital in South India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* , **6** (10):1405-1413.

Harris, P.N. (2015). Clinical management of infections caused by *Enterobacteriaceae* that express extended-spectrum beta-lactamase and AmpC enzymes. *Semin.Respir.Crit Care Med*, **36**:56-73.

Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A., Sleator, R. (2012). *Acinetobacter baumannii*: An emerging opportunistic pathogen. *Landes Bioscience*, **3** : 243–250.

Jarlier, V ; Nordmann, P. (2000). Entérobactéries et β -lactamines. ESKA 2000-Précis de bactériologie clinique.

Joly, B., Reynaud, A. (2002). Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic. pp 79-80-83.

Khanam, R.A., Rafiqul Islam M., Sharif A, Parveen R., Sharmin I., Yusuf M.A. (2018). Bacteriological Profiles of Pus with Antimicrobial Sensitivity Pattern at a Teaching Hospital in Dhaka City. *Bangladesh Journal of Infectious Diseases*, **5**(1): 11-13.

Khanna A., Khanna M., Aggarwal A. (2013). «*Serratiamarcescens* - Un agent pathogène nosocomial opportuniste rare et des mesures pour limiter sa propagation chez les patients hospitalisés,» *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, vol. 7, n° 12, p. 243–246.

Koneman, E.W., Procop, G.W. (2016). Atlas des couleurs et manuel de microbiologie diagnostique de Koneman Wolters kluwrs, édition 7.

Kumari, P. H., Rani, P. U., Vijayalakshmi, P. (2018). Evaluation of microbiological profile and antibiogram of aerobic bacteria isolated from pus samples. *Journal of Medical & Allied Sciences* , **8** (1):26 - 35.

Larousse Médicale. (2006).
<https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/pus/15663>. Consulté le 12/8/2020.

Lim, J., Yoon, J., Hovd, C. (2010). Un bref aperçu d' *Escherichia coli* O157: H7 et de son plasmide O157. *J Microbiol Biotechnol*, **20**(11) : 5-14.

Liu, G.(2009). Molecular Pathogenesis of Staphylococcus aureus Infection, *NIH-PA Author Manuscript*, **165**: 9.

Mahat, P., Manandhar, S., Baydia, S. (2017). Bacteriological Profile of Wound Infection and Antibiotic Susceptibility Pattern of the Isolates. *Journal of Microbiology & Experimentation* , **4** (5).

Mamod, A. (2016). Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération : quelles alternatives aux carbapénèmes ? Etude prospective de la sensibilité in vitro du céfépime, du mércillinam et de la témocilline au CHU de Poitiers. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie (Arrêté du 17 juillet 1987) et mémoire du diplôme d'études spécialisées en pharmacie (Décret 88-996 du 19 octobre 1988), Université de Poitiers. P.19.

Maurin, M. (2018). Antibiotiques, antibiorésistance et environnement, Institut de Biologie et de Pathologie, CHU Grenoble alpes, Université Grenoble Alpes.

Meradi, L., Djahoudi, A., Abdi A., Bouchakour, M., Perrier Gros Claude J-D., Timinouni, M. (2009). Resistance aux quinolones de types qnr, aac (60)-Ib-cr chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie. *Pathologie Biologie*, **59** :73-78.

Monsel, G., Pourcher, V., Caumes, E. (2018). Infection cutanée bactérienne, *EMC-Médecine d'urgence*, **13**(11) : 4-5.

Montravers, P., Dufour, G., Daoud, O., Balcan, I. (2013). Péritonites, **10** (12) :1-3 .

Moradigaravand, D., Boinett, J.C., Martin, V., Peacock, S.J., Parkhill, J. (2016). Émergence indépendante récente de plusieurs clones de *Serratia marcescens* multirésistants au Royaume-Uni et en Irlande. *Genome Research*, **26** (8): 1101-1109.

National Pressure Ulcer Advisory Panel, European Pressure Ulcer Advisory Panel and Pan Pacific Pressure Injury Alliance. (2014). Prevention and Treatment of Pressure Ulcers : Quick Reference Guide. Cambridge Media : Perth, Australia ;

Nauciel, C., Vildé, J.L. (2005). Bctériologie médicale: connaissances et pratique, 2ème éd., Masson Elsevier.

Navon-Venezia, S., Kondratyeva, K., Carattoli, A. (2017). *Klebsiella pneumoniae* : une source et une navette mondiale majeure pour la résistance aux antibiotiques. **41**(13) : 252–275.

Paczosa MK., Meccas J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiol Mol Biol Rev.* **80**(3):629-61

Pitout, J., Cheng, A.C., Thielman, N.M., Guerrant, R.L. (2015).
<http://www.antimicrobe.org/b104.asp>

Podschun, P., Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. comme agents pathogènes nosocomiaux: épidémiologie, taxonomie, méthodes de typage et facteurs de pathogénicité. **11**(14) : 589–603.

Quincampoix, J., Mainardi, J. (2001). Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation*, **10**:267-275.

Rao, R., Basu, R., Biswas, D. (2014). Aerobic Bacterial Profile and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Pus Isolates in a South Indian Tertiary Care Hospital. *Journal of Dental and Medical Sciences* , **13** (3):59-62.

Reynaud, A. (2010). Bactériologie appliquée aux infections humaines. U.F.R. de sciences pharmaceutiques et biologiques – université de Nantes.

Rod, J. (2018). Guidelines on microbiological wound swabbing. <https://www.vicniss.org.au/media/1926/1500-rod-james-skin-and-soft-tissue-swabs-2>.

Ruppé, É., Woerther, P.L., Barbier, F. (2015). Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Annals of Intensive Care*, **2**(21): 2-15. .

Ryan, K., Ray, C., Sherris, J. (2004). Sherris medical microbiology: an introduction to infectious diseases. McGraw-Hill, , édition 4.

Sami, K., (2012). Les principales bactéries isolées des pus profonds et leur comportement vis-à-vis des antibiotiques.

Shama, M., Murugesan, K., Vijayan, H., (2018). Isolation Identification and Antibiotic Sensitivity Pattern of Pyogens from Pyogenic Pathogens. *Biomed Pharmacol.*; **11**(1):463–8.

Singh, S., Khare, M., Patidar, R.K., Bagde, S., Sahare, K., Dwivedi, D., Singh, V. (2013). Antibacterial activities against pyogenic pathogens, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **4**(18): 2974-79.

Sirijatuphat R, Siritongtaworn P, Sripojtham V, Boonyasiri A, Thamlikitkul V. (2014). Bacterial contamination of fresh traumatic wounds at Trauma Center, Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand. *J Med Assoc Thai*. **3**:20-S25.

Stevens, A., James, S et Yong, L.B. (2004). Anatomie pathologique. Edition de Boeck & Larcier. Bruxelles. P. 242.

Stora D., 2010, Pharmacologie B.P, 4ème éd.

Stucki, K., Harbarth, H., Nendaz, M. (2014). Infections à entérocoques : du plus simple au plus complexe. *Revue Médicale Suisse*, **10**:1918-1923.

Tankeshwar, A. (2019). Échantillon de pus: collecte, traitement, coloration et culture. <https://microbeonline.com/pus-sample-collection-staining-culture/>

Tong, S., Davis, J.H., E; Eichenberger, E., Holland, T.L., Fowler, V.J. (2015). Infections à *Staphylococcus aureus* : épidémiologie, physiopathologie, manifestations cliniques et prise en charge. *Clinical Microbiology Reviews*, **28**(3): 603–661.

Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L. (2016). Microbiology An Introduction 12th edition, Pearson Education, Inc.

Tzika, E., Ferrara, D., Boehncke, W.H., Toutous-Trellu, L., Barouti, N. (2015). Surinfection de plaie chronique par *Pseudomonas aeruginosa*. *Revue Médicale Suisse*, **111** :768-772.

Vandepitte, J., Verhaegen, J., Engbaek, K., Rohner, P., Piot, P., Heuck, C.C. (2003). Basic laboratory procedures in clinical bacteriology, second edition. World Health Organization Geneva, Switzerland. P. 90-91.

Verma, P. (2012). A study on isolation of different type of bacteria from pus. *International Journal Of Pharmacy & Life Sciences* , **3** (11), 2107-2110.

Vui, H.L.C., Soon, K. (2009). Pyogenic liver abscess as the first manifestation of hepatobiliary malignancy. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, **8**: 547-550.

Vulgaris Médical. (2011). <https://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/pus>. consulté le 12/8/2020.

Wadekar, M., Sathish, J., Pooja, C. (2020). Bacteriological profile of pus samples and their antibiotic susceptibility pattern. *Indian Journal of Microbiology Research* , **7** (1):43–47.

Willey, M., Sherwood, L., Woolverton, C. (2008). Prescott, Harley, and Klein's Microbiology, 7ème éd, MC Graw Hill.

Yang, H., Cheng, J., Hu, L., Ye, Y., Li, J.B. (2012). Identification of a *Serratia marcescens* Clinical Isolate with Multiple Quinolone Resistance Mechanisms from China. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **56**(10): 5426 –5427.

Annexes

Annexe I. Matériel non biologique

1. Appareils et outils de laboratoire



Figure (1). Un bec benzen (**originale**)



Figure (2). Microscope optique (**originale**)



Figure (3). Étuve d'incubation 37°C (**originale**)



Figure (4). Jarre d'anaérobiose (**originale**)



Figure (5). Densitomètre (**originale**)



Figure (6). Vortex (**originale**)

Tableau I: Matériels non biologiques

Appareillage	Outils de laboratoire	Milieux de culture	Autres produits
<ul style="list-style-type: none"> • étuve (37°C) • Autoclave • Réfrigérateur • Congélateur • Densitomètre • Microscope optique • Agitateur 	<ul style="list-style-type: none"> • Pipettes pasteur • Tubes à essais • Lames et lamelles • Écouvillons • Gaze • Bec Benzen • Seringues stériles • Portoir • Règle/ pied à coulisse • Tubes sec • Poire • Jarre d'anaérobiose • Pince stérile 	<ul style="list-style-type: none"> • Gélose Chapman • Gélose Hektoen • Gélose au sang cuit • Gélose au sang frais • Gélose Mueller Hinton • Gélose Mueller Hinton additionnée au sang • Milieu Sabouraud • Bouillon BGT 	<ul style="list-style-type: none"> • L'eau physiologique • L'huile de vaseline • L'huile d'immersion • Plasma humaine • Disques d'antibiotiques • Bandelette d'antibiotique • L'eau oxygénée • Disques d'oxydase <p>Les réactifs</p> <ul style="list-style-type: none"> • Réactif de Kovacs • Réactif de Voges Proskauer (VP I, VP II) • Réactif de NIN • Réactifs ZYM A/ ZYM B. <p>Les kits</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kit d'agglutination de S. aureus • Kit de groupage de Streptocoques

Annexe I. Matériel non biologique

2. Milieux de culture :

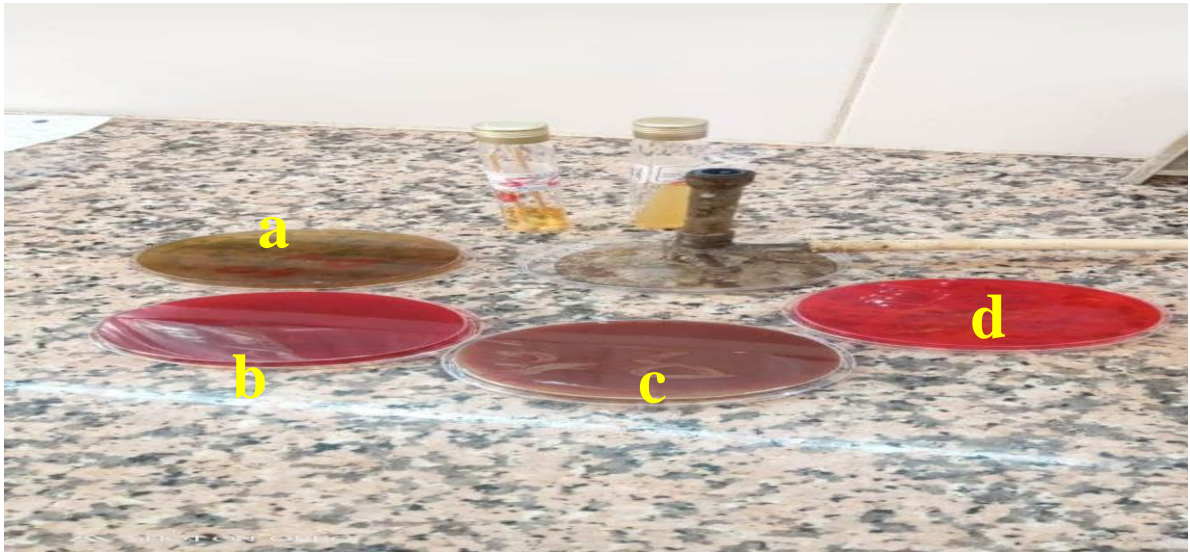



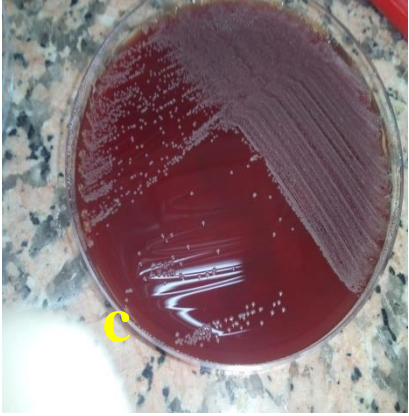


Figure (7). a. Milieu Hectoén, b. Milieu gélose au sang frais, c. Milieu gélose sang cuit, d. Milieu Chapman.



Figure (8). Milieu BGT.

Annexes II. Aspect macroscopique des colonies

Tableau II. Aspect macroscopiques de différentes bactéries isolées.

<p>Les Cocci Gram positif :</p> <ul style="list-style-type: none">▪ <i>Staphylococcus aureus</i> :<ul style="list-style-type: none">a. <i>S. aureus</i> sur milieu Chapman, des petites colonies rondes, dorés sur milieu jaune.b. <i>S. aureus</i> sur milieu GSC, des petites colonies rondes et grisâtres• Les SCN :<ul style="list-style-type: none">c. <i>S. epidermidis</i> sur milieu Chapman, des petites colonies rondes, blanches sur milieu rouge.	  
<p>Les Cocci Gram positif :</p> <ul style="list-style-type: none">• Streptocoques : Gross colonies blanches sur milieu GSC	

Les bacilles à Gram négatif

a. BGN Lactose (-) Sur milieu Hektoen :

- *Proteus* (croissance en vagues)
- *Aerobacter*
- *Pseudomonas* (colonies plat avec odeur caractéristique)

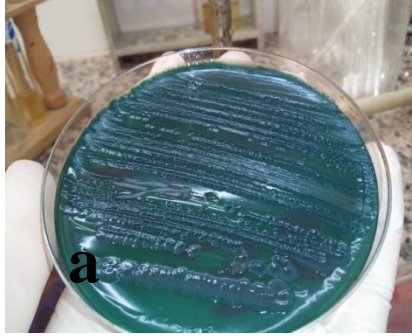
b. BGN Lactose (+) Sur milieu Hektoen :

- *K.p* (des colonies muqueuses)
- *E. coli* (aspect e œuf plat)
- *Citrobacter*
- *Enterobacter*
- *Serratia*

c. BGN sur milieu GSC :
des colonies bombés et muqueuses.

d. *E. coli* sur milieu Hektoen

e. *K. p* sur milieu Hektoen



Annexe III. Résultats de différents tests microbiologiques

Tests d'orientation

- Test de catalase :



Figure (9). Test de catalase

- Réaction négative: pas de dégagement des bulles d'oxygène (Ex : *Streptococcus pyogenes*)
- Réaction positive : un dégagement immédiat des bulles d'oxygène (Ex : *Staphylococcus aureus*)

- Test d'oxydase :

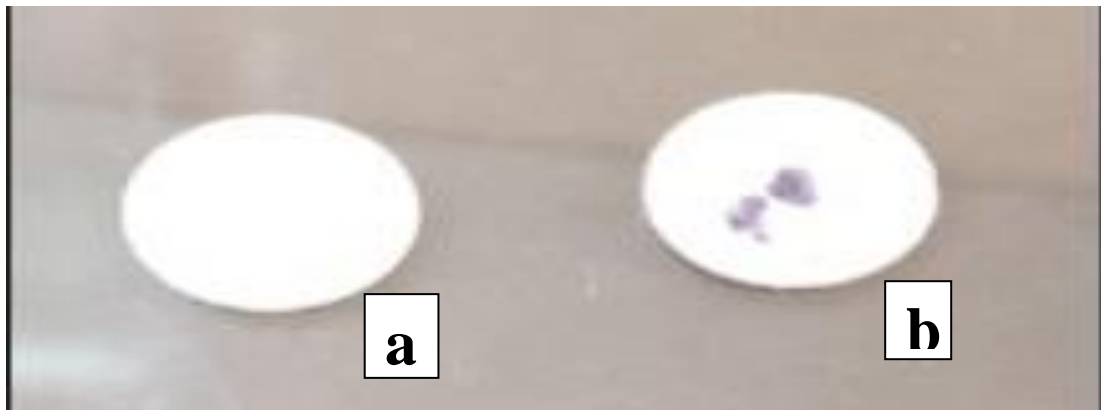


Figure (10). Test d'oxydase

- Réaction négative : absence de coloration (ex : Entérobactéries, *Acinetobacter*)
- Réaction positive : coloration bleu foncé à violet (*Pseudomonas aeruginosa*)

- **Test de coagulase**



Figure (11). Test de coagulase

a. Contrôle positif

b. Test positif : la formation d'un coagulum, due à la transformation du fibrinogène soluble e fibrine insoluble sous l'action de la coagulase, c'est un *S. aureus*.

c. Test négatif : pas de coagulum, c'est un staphylocoque coagulase négatif (SCN).

- **Test d'agglutination de *S. aureus* :**

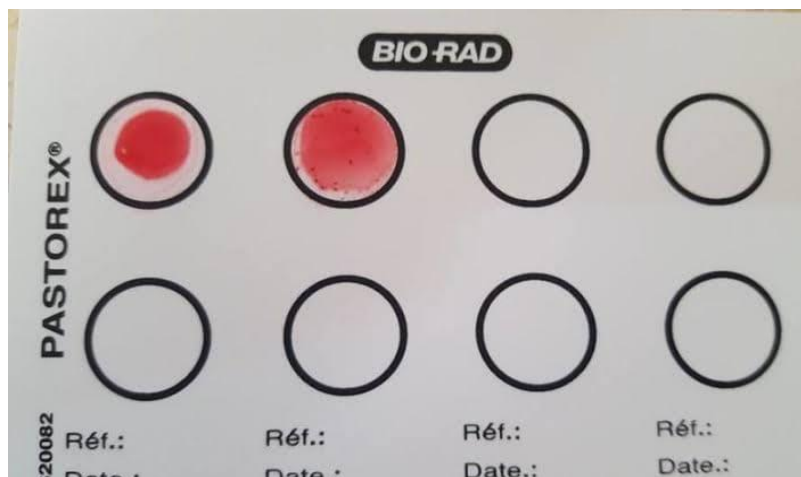


Figure (12). Test de Staphaurex

La formation d'une agglutination signifie que c'est *Staphylococcus aureus*

- Test d'agglutination des Streptocoques:



Figure (13).Test de Pastorex Strep

- L'enzyme d'extraction
- Les réactifs
- Dépôt de l'extrait sur la carte
- Dépôt des réactifs sur l'extrait
- Un résultat positif avec le réactif A se traduit par l'apparition d'une agglutination nette (*Streptococcus pyogenes*), un résultat négatif avec les autres réactifs.

Annexe IV. Table de lecture de la galerie API

Tableau III. Lecture de la galerie API NE.

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO ₃	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	<u>NIT 1 + NIT 2 / 5 min</u>	
				incolore	rose-rouge
			réduction des Nitrates en azote	<u>Zn / 5 min</u>	
				rose	incolore
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRyptOPhane)	<u>JAMES / immédiat</u>	
				incolore vert pâle / jaune	rose
<u>GLU</u>	D-glucose	1,92	fermentation (GLUcose)	bleu à vert	jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCuline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD- galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-βD- Galactopyranosidase)	incolore	jaune
<u>GLU</u>	D-glucose	1,56	assimilation (GLUcose)	transparence	trouble
<u>ARA</u>	L-arabinose	1,4	assimilation (ARAbinose)	transparence	trouble
<u>MNE</u>	D-mannose	1,4	assimilation (ManNosE)	transparence	trouble
<u>MNE</u>	D-mannose	1,4	assimilation (ManNosE)	transparence	trouble
<u>MAN</u>	D-mannitol	1,36	assimilation (MANnitol)	transparence	trouble
<u>NAG</u>	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)	transparence	trouble
<u>MAL</u>	D-maltose	1,4	assimilation (MALtose)	transparence	trouble
<u>GNT</u>	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GlucoNaTe)	transparence	trouble
<u>CAP</u>	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPrique)	transparence	trouble
<u>ADI</u>	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIrique)	transparence	trouble
<u>MLT</u>	acide malique	1,56	assimilation (MaLaTe)	transparence	trouble
<u>CIT</u>	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITrate)	transparence	trouble
<u>PAC</u>	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PHénylACétique)	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

Tableau IV. Lecture API Strepto

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS			
				NEGATIF		POSITIF	
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / jusqu'à 10 min (3)			
				Incolore		Rose-Rouge	
HIP	acide hippurique	0,4	hydrolyse (acide HIPpurique)	NIN / jusqu'à 10 min			
				Incolore/Bleu pâle Gris-bleuté		Bleu foncé/Violet	
ESC	esculine citrate de fer	1,16 0,152	hydrolyse β -glucosidase (ESCuline)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Incolore Jaune pâle	Incolore Jaune pâle Gris clair	Noir Gris	Noir
PYRA	acide pyroglutamique- β -naphtylamide	0,0256	PYRroldonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA à LAP) (1) au besoin décoloré par éclaircissement intense			
				Incolore ou Orange très pâle		Orange	
α GAL	6-bromo-2-naphtyl- α D- galactopyranoside	0,0376	α -GALactosidase	Incolore		Violet	
β GUR	acide naphтол-ASBI- glucuronique	0,0537	β -GIUcúRonidase	Incolore		Bleu	
β GAL	2-naphtyl- β D- galactopyranoside	0,0306	β -GALactosidase	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
PAL	2-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
LAP	L-leucine- β -naphtylamide	0,0256	Leucine AminoPeptidase	Incolore		Orange	
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune		Rouge	
				4 h	24 h	4 h	24 h
RIB	D-ribose	1,4	acidification (RIBose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
ARA	L-arabinose	1,4	acidification (ARABinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (MANnitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
SOR	D-sorbitol	1,36	acidification (SORbitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACTose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (TREhalose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
INU	inuline	5,12	acidification (INUline)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
RAF	D-raffinose	3,12	acidification (RAFFinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
AMD	amidon (2)	2,56	acidification (AMIDon)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
GLYG	glycogène	1,28	acidification (GLYcoGène)	Rouge ou Orange		Jaune franc	

Annexe V. Résultats de la galerie API

➤ Galerie api 20 E




<p><i>E. coli</i></p>	
	<p>(Originale)</p>
<p><i>Serratia marcescens</i></p>	
	<p>(Originale)</p>
<p><i>Klebsiella oxytoca</i></p>	
	<p>(Originale)</p>

Tableau VII. Profile de résistance d'autres entérobactéries

Genre	<i>Enterobacter</i>		<i>Serratia</i>			<i>Proteus</i>			
Espèce	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>S. marcescens</i>		<i>S. fecaria</i>	<i>P. mirabilis</i>			<i>P. vulgaris</i>
ATB/souches	51	66	94	100	93	54	85	100	85
AMP	R	R	R	R	R	R	R	R	R
OF	S	S	S	R	S	S	S	R	S
AK	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CZ	R	R	R	R	S	R	R	R	R
CL	-	-	R	S	S	R	R	R	R
CTX	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Tableau VIII. Profile de résistance des souches de *S. aureus*

ATB/souches	60	62	73	74	89	90	101
OX	S	S	S	S	S	S	R
VA	S	S	S	S	S	S	S
LE	S	S	S	R	S	S	S
AK	S	S	S	S	S	S	S
TEI	S	S	S	S	S	S	S
P	R	R	R	R	R	R	R
RIF	S	S	S	S	S	S	S
OF	S	S	S	R	S	S	S
E	S	S	R	R	S	S	S
CD	S	S	R	R	S	S	S

TE	S	S	S	S	R	S	S
RP	S	S	R	R	S	S	S
FC	R	S	S	R	R	S	S



Figure (14). Résultats de l'E-test pour Vancomycine pour les Staphylocoques.

Tableau IX. Profile de résistance des souches de *Streptococcus spp*, *S. pyogenes*, *S. faecium*, *E. faecium* et *E. faecalis*

Genre	<i>Streptococcus</i>		<i>Enterococcus</i>					
Espèce	<i>S. spp</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. faecium</i>			<i>E. faecalis</i>	
ATB/souches	54	64	63	86	57	111	76	83
RP	R	S	S	-	S	S	R	R

VA	S	S	S	S	S	S	I	S
CD	R	S	S	-	-	S	R	R
E	R	S	S	-	S	S	R	R
OF	S	S	S	S	-	-	-	-
TE	S	S	S	R	S	S	R	R
AMP	-	-	S	S	S	S	S	S
LE	S	S	S	S	S	S	S	S
RIF	I	S	S	-	S	-	S	S

Tableau X. Profile de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

ATB/souches	78	80	94	97	107
AK	S	S	-	S	-
CAZ	S	S	S	S	S
NET	S	S	S	S	-
LE	S	R	S	S	S
TI	S	S	-	S	S
CL	S	S	S	S	S
PI	S	S	-	S	R
OF	S	I	-	S	I
TOB	S	S	-	S	S
AT	I	S	S	-	S

Tableau XI. Profile de résistance de la souche d'*Acinetobacter baumannii*

<i>ATB / souches</i>	89
<i>OF</i>	<i>S</i>
<i>CL</i>	<i>S</i>
<i>AK</i>	<i>S</i>
<i>CAZ</i>	<i>S</i>
<i>NET</i>	<i>R</i>
<i>LE</i>	<i>S</i>
<i>TOB</i>	<i>S</i>
<i>TI</i>	<i>S</i>
<i>PI</i>	<i>S</i>

Annexe VII. La liste des antibiotiques testés

➤ **Entérobactéries**

Famille	Groupe	Antibiotique	Abréviation	Charge
B-lactamines	Penicilline	Ampicilline	AMP	10µg
	Céphalosporine	céfazoline	CZ	30µg
		Céfotaxime	CTX	30µg
aminosides	Aminosides	Amikacine	AK	30µg
Quinolones	Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5µg
		Ofloxacine	OF	5µg
Polymyxines	Polymyxines	Colistine	CL	CMI

➤ **Staphylococcus**

Famille	Groupe	Antibiotique	Abréviation	Charge
		Penicilline	P	10UI
		Oxacilline	OX ₁	1µg

b- lactamines	Penicilline	oxacilline	OX ₅	5µg
		Ampiciline	AMP	
	Céphalosporine	Céfoxitine	CX	30µg
Aminosides	Aminosides	Amikacine	AK	30µg
Macrolides	Macrolides vrais	Erythromycine	E	15µg
	Lincosamides	Clindamycine	CD	2µg
Glycopeptides		Vancomycine	VA	-
		Teicoplanine	TEI	30µg
Quinolones	Fluoroquinolones	Ofloxacine	OF	5µg
		Lévoﬂoxacine	LE	5µg
Rifampicine			RIF	5µg
Acide fusidique			FC	10µg
Cyclines	Tetracycline	Tetracycline	TE	30µg
Quiniprestine- delphopristine			RP	15µg

➤ *Pseudomonas spp*

Famille	Groupe	Antibiotique	Abréviation	Charge
B- lactamines	Penicilline	pipéracilline	PI	100µg
		ticarcilline	TI	75µg
	Céphalosporine	céftazidime	CAZ	30µg
	monobacam	aztreonam	AT	30µg
Aminosides	Aminosides	amikacine	AK	30µg
		Tobramycine	TOB	10µg
		nétilmicine	NET	30µg
	Fluoroquinolones	lévoﬂoxacine	LE	5µg

Quinolones		Ofloxacine	OF	5µg
Fosfomycine			FO	----
Polymyxines	Polymyxines	colistine	CL	10µg

➤ *Acinetobacter baumannii*

Famille	Groupe	Antibiotique	Abréviation	Charge
B- lactamines	Penicilline	pipéracilline	PI	100µg
		ticarcilline	TI	75µg
	Céphalosporine	céftazidime	CAZ	30µg
Aminosides	Aminosides	amikacine	AK	30µg
		Tobramycine	TOB	10µg
		nétilmicine	NET	30µg
Quinolones	Fluoroquinolones	lévofloxacine	LE	5µg
		Ofloxacine	OF	5µg
Polymyxines	Polymyxines	colistine	CL	10µg

➤ *Streptococcus spp*

Famille	Groupe	Antibiotique	Abréviation	Charge
b- lactamines	Céphalosporines	Céfotaxime	CTX	30µg
Macrolides	Macrolides vrais	Erythromycine	E	15µg
	Lincosamides	Clindamycine	CD	2µg
Glycopeptides		Vancomycine	VA	30µg

Quinolones	Fluoroquinolones	Ofloxacine	OF	5µg
		Lévofoxacine	LE	5µg
Rifampicine			RIF	30µg
Cyclines	Tétracycline	Tétracycline	TE	30µg
Quiniprestine- delphopristine			RP	15µg

➤ *Enterococcus spp*

Famille	Groupe	Antibiotique	Abréviation	Charge
B- lactamines	Pénicilline	Pénicilline	P	---
		Ampicilline	AMP	10µg
	Céphalosporine	Céfotaxime	CTX	30µg
Macrolides	Macrolides vrais	Erythromycine	E	15µg
	Lincosamides	Clindamycine	CD	2µg
Glycopeptides		Vancomycine	VA	30µg
		Lévofoxacine	LE	5µg
Rifampicine			RIF	5µg
Cyclines	Tétracycline	Tétracycline	TE	30µg
Quiniprestine- delphopristine			RP	15µg

Annexe VIII. Prélèvement

Outils de prélèvement



Figure (15). Ponction par aspiration a l'aide d'une seringue



Figure (16). Écouvillon stérile



Figure (17). Prélèvement par seringue



Figure (18). Prélèvement par écouvillonnage