



Université De Blida -1-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire  
Laboratoire de biotechnologie, environnement et santé, Blida.

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un Diplôme de MASTER

**Option : Microbiologie**

**Thème**

**Examen cyto bactériologique des liquides pleuraux et  
d'ascites : les principales étiologies incriminées et le  
profil d'antibiorésistance.**

Soutenu le : **17/09/2020**

Réalisé et présenté par :

**M<sup>elle</sup> OUKRID Ahlem**

**M<sup>elle</sup> KAIM Asma**

**Devant le Jury composé de :**

<b>Mr. GUETARNI D.</b>	<b>Professeur</b>	<b>Univ.de Blida 1</b>	<b>Président</b>
<b>Mme. AIT SAADI N.</b>	<b>M.C.A</b>	<b>Univ.de Blida 1</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme. LOUNACI L.</b>	<b>M.C.B</b>	<b>Univ.de Blida 1</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Mme. BENAMARA M.</b>	<b>Maitre assistante</b>	<b>Univ.de Blida 1</b>	<b>Co-promotrice</b>

**Année Universitaire : 2019-2020**

## **Remerciement**

*A Dieu tout puissant pour la volonté, la santé et patience qu'il nous a données durant toutes ces années d'études.*

*A notre promotrice **Dr. Lounaci. L**, recevez notre grande reconnaissance pour votre disponibilité, votre aide, votre rigueur scientifique et vos précieux conseils qui ont fait progresser ce travail. Les remerciements exprimés ici ne seront jamais à la hauteur de votre implication dans ce travail.*

*A notre co-promotrice **Dr. Benamara. M**, pour nous avoir accueillis au sein de leur laboratoire ainsi pour sa disponibilité et ses pertinents conseils.*

*Nous tenons à remercier les membres de jury, Monsieur **Guetarni. D**, Professeur à l'Université de Blida 1 qui a bien accepté de nous faire l'honneur de présider ce jury, nous saisissons cette occasion pour vous exprimer nos profond respect.*

*C'est avec un très grand plaisir qu'on remercie infiniment **Dr. Ait Saadi N**, d'avoir bien voulu examiner ce modeste travail, qu'elle trouve ici notre très profonde gratitude.*

*Nous adressons nos chaleureux remerciements à **M<sup>lle</sup> Manel**, ingénieur au niveau du laboratoire central de l'hôpital Frantz Fanon pour son aide, ses précieux conseils, ses encouragements, et sa gentillesse.*

*Nos sincères remerciements à tous les enseignants qui nous ont transmis leur savoir et à toutes les personnes qui nous ont apportés leur aide, leur soutien et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail, et à toute la promotion de 2019 /2020.*

## ***Dédicace :***

*Aujourd'hui et après toutes ces années, j'ai l'honneur, mais surtout le plaisir de  
dédier ce travail de à ;*

### ***Mes chers parents***

*Qui sont toujours dans mon cœur et m'ont retenu et encouragé et qui sans leur  
compréhension, leur conseils et leur tolérance, je n'aurai jamais pu atteindre  
mes objectifs, tout ce que je peux vous offrir ne pourra exprimer l'amour et la  
reconnaissance que je vous porte, qu'Allah vous préserve et vous procure  
santé et longue vie.*

### ***Mes sœurs Aicha, Selma et Chaima***

*Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et  
d'amour que dieu réalise vos rêves vous protège et vous garde pour  
moi.*

### ***A mes amis***

*Mohamed et Samiha, ce travail vous reflète ma profonde  
affection, que dieu vous protège et vous procure  
bonheur, santé et prospérité.*

### ***Ma binôme Ahlem***

*Notre collaboration reste gravée en mémoire entouré de souvenirs qu'on a  
passé ensemble jusqu'à ce travail puisse voir le jour je te souhaite la réussite  
dans ta vie avec beaucoup de joies et de bonheur.*

***ASMA***

## ***Dédicace :***

*Je dédie ce modeste travail :*

**« A Mes très chers parents. »**

*Pour l'amour, la tendresse et les sacrifices dont ils m'ont fait preuve. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous, rien au monde ne veut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être .Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous aviez consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.*

**« A l'homme de ma vie »**

*Mon support qui a sacrifié pour moi et qui est la cause d'allumer la bougie de mon avenir: **mon mari Abdou** je remercie Dieu de t'avoir dans ma vie.*

**A mes sœurs :** « Nassira, wahiba, fayza et lwiza »

**A mes frères :** « Mohamed et Farid »

**A mes cousines :** « Rima et Chaima »

**A mes neveux** Oussama, Nasro, et Abdou, **a ma nièce** Amani et

**ma chère copine** Soussou et je les souhaite que la réussite dans la vie.

**A ma binôme** « Asma » qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail Je te souhaite la réussite dans ta vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour te combler.

*A toutes nos familles paternelles et maternelles sans exception.*

**AHLEM**

## Résumé

Notre travail est une étude rétrospective portant sur les étiologies incriminées dans les liquides pleuraux et d'ascites, et le profil d'antibiorésistance des bactéries collectées au niveau de laboratoire central de centre universitaire de Blida unité de Frantz fanon, la période d'étude été entre Janvier 2018 et Décembre 2019.

Au cours de notre étude, 66 bactéries ont été isolées des liquides pleuraux dont 42 présentaient des bactéries aérobies ou aeroanaérobies facultatives, 02 anaérobies et 22 bacilles de Koch, 27 bactéries ont été isolées des liquides d'ascites dont 24 étaient des bactéries aérobies ou aeroanaérobies facultatives et 03 bacilles de Koch, qui sont issus majoritairement des services internes.

Les espèces bactériennes les plus incriminées dans les liquides pleuraux sont les bacilles de Koch occupant la 1<sup>ère</sup> place (33,33%), suivie par *Pseudomonas aeruginosa* (13,6%), *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus sp.* (6,06%), pour les liquides d'ascites les enterobactéries sont les plus fréquemment isolées (48,13%) en particulier *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* qui sont impliquées dans 18,51% et 14,81% des cas respectivement, les autres bactéries impliquées sont *Enterococcus cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* et les bacilles de Koch (11,11%), d'autres bactéries ont été isolées mais avec des fréquences moins importantes pour les deux liquides.

Les entérobactéries isolées des liquides pleuraux et d'ascites ont présentés un taux de résistance élevé à l'amoxicilline (90 % et 100% respectivement) et à la céfotaxime (80%) pour ceux qui sont isolées des liquides pleuraux. De faibles taux de résistance ont été enregistrés pour la ciprofloxacine (12,5% et 0% respectivement). Toutes les souches sont sensibles à l'imipénème. 60% des entérobactéries isolés des liquides pleuraux ont été productrices de BLSE et 27,2% pour ceux qui ont été isolés des liquides d'ascites. Pour *P. aeruginosa* une résistance modérée a été signalée vis-à-vis à la gentamycine et à la tobramycine (57,14% et 55,55% respectivement), une faible résistance au ceftazidime (11,11%) et une sensibilité totale à l'aztréonam et au ciprofloxacine.

**Mots clés :** Liquide pleural et d'ascite, profil d'antibiorésistance, bacilles de Koch, Entérobactéries.

## Abstract

Our work is a retrospective study of the etiologies incriminated in pleural fluid and ascites, and study the antibiotic resistance profile of collected bacteria at the central laboratory of the university center of Blida, Frantz Fanon, and the study period was between January 2018 and December 2019.

During our study, 66 bacteria were isolated from pleural fluids, 42 of which had optional aerobic or aeroanaerobic bacteria, 02 anaerobic and 22 Koch bacillus and 27 bacteria were isolated from ascites fluids, 24 of which were optional aerobic or aerobic bacteria and 03 Koch bacillies, which are mostly internally serviced.

The most offending bacterial species in pleural fluids are the Koch *Bacillus* occupy the 1st place (33.33%), Followed by *Pseudomonas aeruginosa* (13.6%), *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus* sp (6.06%), For ascites fluids *Enterobacteria* are the most frequently isolated (48.13%) in particular *Escherichia coli* and *klebsiella pneumoniae* which are involved in 18.51% and 14.81% of cases respectively , The other bacteria involved are *Enrerocacter cloacae*, *Pseudomonas aerugenosa* and Koch bacillies (11.11%), other bacteria were isolated but with less important frequencies for both liquids.

*Enterobacteriaceae* isolated from pleural fluids and ascites showed a high rate of resistance to amoxicillin (90% and 100% respectively) and cefotaxime (80%) for those who are isolated from pleural fluids. Low resistance rates were recorded for ciprofloxacin (12.5% and 0% respectively) and all strains are sensitive to the imipenem, 60% of *Enterobacteriaceae* isolated from pleural fluids were producing BLSE and 27.2% for those who were isolated from ascites. For *P. aeruginosa*, a moderate resistance was reported against gentamycin and tobramycin (57.14% and 55.55% respectively), low resistance to ceftazidime (11.11%) and total sensitivity to the aztreonam and ciprofloxacin.

**Keywords:** Pleural and Ascite Liquid, Antibiotic Resistance Profile, Koch Bacilies, *Enterobacteriaceae*.

## ملخص

عملنا عبارة عن دراسة بأثر رجعي تركز على المسببات المتورطة في السوائل الجنبية والاستسقاء ، ومقاومة المضادات الحيوية للبكتيريا التي تم جمعها على مستوى المختبر المركزي لمركز جامعة البليدة بوحدة فرانتز فانون ، وكانت فترة الدراسة بين يناير 2018 وديسمبر 2019.

خلال دراستنا ، تم عزل 66 بكتيريا من السوائل الجنبية ، منها 42 نوعًا من البكتيريا الهوائية أو الهوائية الاختيارية ، و 02 من البكتيريا اللاهوائية ، و 22 من عصيات كوخ ، وعزل 27 بكتيريا من السوائل الاستسقاءية ، منها 24 نوعًا من البكتيريا الهوائية أو البكتيريا الهوائية الاختيارية. و 03 عصيات كوخ ، والتي تأتي بشكل رئيسي من الخدمات الداخلية. الأنواع البكتيرية الأكثر تورطًا في السوائل الجنبية هي عصيات كوخ التي تحتل المرتبة الأولى (33 ، 33%) ، تليها الزائفة الزنجارية (13.6%) ، المكورات العنقودية الذهبية ، والعقدية (6.06%) ، بالنسبة لسوائل الاستسقاء ، تعتبر البكتيريا المعوية هي الأكثر عزلة (48.13%) خاصة الإشريكية القولونية والكلبسية الرئوية والتي تشارك في 18.51% و 14.81% من الحالات على التوالي ، البكتيريا الأخرى المعنية هي *Enrrocacter cloacae* و *Pseudomonas aeruginosa* و عصيات كوخ ، وقد تم عزل البكتيريا الأخرى ولكن بترددات أقل للسائلين.

أظهرت المعوية المعزولة من السوائل الجنبية والاستسقاء نسبة عالية من المقاومة للأموكسيسيلين ( 90% و 100% على التوالي) والسيفوتاكسيم ( 80%) لتلك المعزولة من السوائل الجنبية. سجلت معدلات مقاومة منخفضة للسيبروفلوكساسين ( 12.5% و 0% على التوالي). جميع السلالات عرضة للإيميبينيم. 60% من بكتيريا *Enterobacteriaceae* المعزولة من السوائل الجنبية أنتجت BLSE و 27.2% لتلك المعزولة من سوائل الاستسقاء. بالنسبة لـ *P. aeruginosa* ، تم الإبلاغ عن مقاومة معتدلة للجنتاميسين والتوبراميسين ( 57.14% و 55.55% على التوالي) ، ومقاومة منخفضة للسيفتازيديم (11.11%) والحساسية الكلية مع *aztreonam* و *ciprofloxacin*.  
**الكلمات المفتاحية:** السائل الجنبية والاستسقاء ، خصائص مقاومة المضادات الحيوية ، عصيات كوخ ، البكتيريا المعوية.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Représentation schématique d'un épanchement pleural...	2
<b>Figure 2.</b> Anatomie de la plèvre et la cavité pleurale.....	4
<b>Figure 3.</b> <i>S. pneumoniae</i> coloration de Gram.....	6
<b>Figure 4.</b> <i>H. influenzae</i> coloration de Gram.....	6
<b>Figure 5.</b> <i>S. aureus</i> coloration de Gram.....	7
<b>Figure 6.</b> <i>P. mirabilis</i> coloration de Gram.....	7
<b>Figure 7.</b> <i>Fusobactérium spp</i> coloration de Gram.....	7
<b>Figure 8.</b> Représentation schématique d'un épanchement péritonéal.....	9
<b>Figure 9.</b> Coupe transversale de l'abdomen.....	10
<b>Figure 10.</b> <i>E. coli</i> coloration de Gram.....	11
<b>Figure 11.</b> <i>K. pneumoniae</i> coloration de Gram .....	12
<b>Figure 12.</b> <i>Enterobacter cloacea</i> coloration de Gram.....	12
<b>Figure 13.</b> <i>Enterococcus spp</i> coloration de Gram.....	12
<b>Figure 14.</b> Différentes étapes de la mise en évidence des germes incriminés dans les liqui pleuraux et d'ascites et les différents tests réalisés dans l'étude.....	17
<b>Figure 15.</b> Répartition des résultats selon la provenance des patients.....	31
<b>Figure 16.</b> Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne des liquides pleuraux testés.....	34
<b>Figure 17.</b> Profil de résistance des entérobactéries isolées à partir des liquides pleuraux..	36
<b>Figure 18.</b> Profil de résistance de <i>P. aeruginosa</i> isolé à partir des liquides pleuraux.....	37
<b>Figure 19.</b> Répartition des résultats selon la provenance des patients .....	38
<b>Figure 20.</b> Répartition des souches bactériennes selon l'espèce isolée à partir des liquides d'ascites .....	40
<b>Figure 21.</b> . Profil de résistance des entérobactéries isolées à partir des liquides d'ascites.	41



## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b> Les mécanismes physiopathologiques et les situations cliniques correspondantes.....	5
<b>Tableau II.</b> Les principaux germes responsables de pleurésies chez l'adulte et l'enfant.....	5
<b>Tableau III.</b> Caractéristiques des bactéries responsables de pleurésies.....	6
<b>Tableau IV.</b> Etiologies des transsudats et exsudats.....	9
<b>Tableau V.</b> Les facteurs influencent dans la formation d'ascite.....	11
<b>Tableau VI.</b> Caractéristiques des bactéries rencontrées dans les infections du liquide d'ascite.....	11
<b>Tableau VII.</b> Autres étiologies de l'ascite.....	13
<b>Tableau VIII.</b> Antibiotiques, cible et mécanismes de résistance.....	15
<b>Tableau IX.</b> Les milieux utilisés dans la mise en culture des échantillons des liquides.....	19
<b>Tableau X.</b> Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne des liquides pleuraux testés .....	32
<b>Tableau XI.</b> Les antibiotiques testés et interprétation de leur résultat .....	35
<b>Tableau XII.</b> Les antibiotiques testés et interprétation de leur résultat .....	36
<b>Tableau XIII.</b> Répartition des souches bactériennes isolées selon l'espèce .....	39
<b>Tableau XIV.</b> Antibiotiques testés et interprétation de leur résultat .....	41

## Liste des abréviations

**ADH:** Arginine Dihydrolase

**API:** Analytical Profil Index.

**API20E:** Analytical Profile Index 20E (E= Enterobacteria)

**API 20 Strep:** Analytical Profile Index 20 Strep (Strep= Streptocoques)

**ATB:** Antibiotique

**BHIB:** Brain-Heart Infusion Broth

**BLSE:**  $\beta$ -Lactamase à Spectre Elargi

**BGN:** Bacille à Gram Négatif

**BGT:** Bouillon Glucosé Tamponné.

**BK:** Bacilles de Koch

**CHU:** Centre Hospitalier Universitaire

**CO2:** Dioxyde de Carbone

**EBLSE:** Entérobactéries Productrices de  $\beta$ -Lactamase à Spectre Elargi

**GSC:** Gélose au Sang Cuit

**C3G:** Céphalosporine de troisième Génération.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peroxyde d'Hydrogène

**HK:** Gélose Hektoen

**I:**Intermédiaire

**MF:** Mc Farland

**ODC:** Ornithine Dé-Carboxylase

**OCDE:** l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques

**ONPG:** Ortho-Nitrophényl- $\beta$ -Galactoside

**PVD:** le Dépôt Physique en phase Vapeur

**PLP2a:** Protéine Liant la Pénicilline 2a

**R:** Résistant

**S:** Sensible

**SARM:** *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.

**SASM:** *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline.

**SCN:** *Staphylococcus* à Coagulase Négative.

## Glossaire

**Atélectasie:** affaissement des alvéoles d'une partie du poumon ou d'un poumon entier, dû à une absence de ventilation consécutive à l'obstruction totale ou partielle d'une bronche (**Larousse Médicale, 2006**).

**Asbestose:** maladie pulmonaire chronique due à l'inhalation intense et prolongée de fibres d'amiante (**Larousse Médical, 2006**).

**Cirrhose:** la cirrhose est une maladie du foie, résultant d'agressions biochimiques répétées, le plus souvent par la consommation chronique d'alcool ou par des virus hépatotropes (**Larousse Médicale, 2006**).

**Embolie pulmonaire:** obstruction brutale de l'une des branches de l'artère pulmonaire par un caillot sanguin. L'embolie pulmonaire est une affection fréquente et une cause importante de mortalité. Elle est due à la formation d'un caillot sur la paroi d'une veine (**Larousse Médicale, 2006**).

**Hémothorax:** épanchement de sang dans la cavité pleurale (**Larousse Médicale, 2006**).

**Hypertension portale (HTP) :** augmentation de la pression sanguine dans le système veineux portal. La veine porte conduit jusqu'au foie le sang veineux provenant du tube digestif sous-diaphragmatique (estomac, intestin grêle, côlon) de la rate et du pancréas. Après épuration dans le foie, ce sang est ramené au cœur par la veine cave inférieure (**Larousse Médicale, 2006**).

**Insuffisance cardiaque :** ou défaillance cardiaque, Incapacité du cœur à assumer sa fonction de pompe et de propulsion du sang (**Larousse Médicale, 2006**).

**Lupus érythémateux :** maladie inflammatoire d'origine auto-immune touchant un grand nombre d'organes (**Larousse Médicale, 2006**).

**Le péristaltisme :** ensemble des contractions musculaires d'un organe creux, provoquant la progression de son contenu d'amont en aval (**Larousse Médicale, 2006**).

**Pression oncotique :** grandeur exprimant le degré de facilité avec lequel des protéines en solution dans un fluide attirent l'eau (**Larousse Médicale, 2006**).

**Polyarthrite rhumatoïde :** maladie rhumatismale inflammatoire caractérisée par une atteinte de la synoviale (membrane conjonctive tapissant la face interne des articulations). La polyarthrite rhumatoïde est une maladie fréquente (1 % de la population), à prédominance nettement féminine (3 malades sur 4 sont des femmes). De cause inconnue, elle fait partie des maladies auto-immunes, au cours desquelles l'organisme produit des anticorps (facteur rhumatoïde) dirigés contre ses propres tissus (**Larousse Médicale, 2006**).

**Rétention hydrosodée** : une rétention hydrosodée est comme son nom l'indique, une rétention d'eau. Elle entraîne des œdèmes (notamment au niveau des membres inférieurs) et elle est fréquente en cas de grossesse ou de pathologies telles que l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, l'insuffisance rénale ou une cirrhose hépatique, par exemple. En effet, lorsque le débit sanguin diminue, le rein a du mal à éliminer le sodium et l'eau d'où la formation d'œdèmes. Une rétention hydrosodée se traite donc tout d'abord par l'administration de diurétiques (**Pillou, 2014**).

**Syndrome cave supérieure** : syndrome de la veine cave supérieure ou plus simplement appelé syndrome cave supérieur (SCS) est une pathologie due à un trouble du retour veineux dans le territoire drainé par la veine cave supérieure (VCS) (**Reinaud, 2018**).

**Tube distal rénal** : Le tubule rénal se compose de quatre segments : le tube contourné proximal, l'anse de Henle, le tube contourné distal et le tube collecteur, qui s'ouvre au fond des calices du rein en une zone appelée papille. Le tubule rénal fait suite au glomérule et constitue avec celui-ci le néphron (**Larousse médicale, 2016**).

## Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Glossaire

Abréviation

Introduction.....	1
<b>Chapitre I. Synthèse Bibliographique.</b>	
I.1. Liquide pleural.....	2
I.1.1. Définition.....	2
I.1.2. Rappel anatomique.....	2
I.1.2.1 .La plèvre et la cavité pleural.....	2
I.1.2.2. Anatomie de la plèvre.....	3
I.1 .3. Rappel physiopathologique.....	4
I.1.4. Agents responsables d'un épanchement pleural.....	5
I.1.4.1. Etiologies bactériennes.....	5
I.1.4.2. Etiologies virales.....	8
I.1.4.3.Etiologies parasitaires.....	8
I. 1.4.4. Autres étiologies.....	8
I.2. Liquide d'ascite.....	9
I.2.1. Définition.....	9
I.2.2 .Rappel anatomique.....	10
I.2.3. Rappel Physiopathologique.....	10
I.2.4 Agents responsables de l'ascite.....	11
I. 2.4 .1 Etiologies bactériennes.....	11
I. 2.4 .2.Autres étiologies.....	13
I.2.5. Tuberculose des séreuses : place des complexes mycobactériens dans l'étiologie des épanchements pleuraux et d'ascites.....	13
I. 2.5.1. Rappel bactériologique.....	13
I. 2.6. L'antibiorésistance.....	14
I. 2.6.1. Définition d'un antibiotique.....	14

I. 2.6 .2. Définition de la résistance.....	14
I. 2.6. 3. Résistance aux Antibiotiques des principales Bactéries infectant les liquides pleuraux et d'ascites.....	14

## **Chapitre II. Matériel et Méthodes.**

II. 1. Objectif de l'étude.....	16
II.1.1. Matériel non biologique.....	16
II.1.2. Matériel biologique.....	16
II. 2. Méthodes.....	16
II .2.1. Prélèvement.....	18
II.2.2. Examen macroscopique des liquides pleuraux et d'ascites.....	18
II.2.3 Mise en culture.....	19
II.2.4. Examen microscopique.....	20
II.2.4.1. Analyse Cytologique.....	20
II.2.4.2. Etat frais.....	20
II.2.4.3. Examen après coloration au bleu de méthylène.....	21
II.4.2.4. Coloration de Gram.....	21
II.2.5. Testes d'identification bactérienne.....	22
a. Identification des bacilles à Gram négatif.....	22
b. Identification des cocci gram positif.....	24
b.1 Identification des <i>Staphylococcus</i> .....	25
b.2 Identification des <i>Streptococcus</i> .....	26
b. 3 Identification des <i>Enterococcus</i> .....	27
II.2.6. Identification de <i>M. tuberculosis</i> .....	28
II.2.7. Détermination du profil d'antibiorésistance.....	29

## **Chapitre III. Résultats et Discussion**

III. Résultats de l'étude cyto bactériologique des liquides pleuraux et d'ascites.....	31
III.1. Etude rétrospectives de l'étiologie bactérienne et la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les liquides pleuraux et d'ascites.....	31
III.1.1. liquide pleural.....	31
III.1.1.1. Répartition des résultats de liquide pleural selon la prévenance des patients.....	31
III.1.1.2. Répartition des bactéries isolées à partir des liquides pleuraux.....	32
III.1.1.3. Antibiorésistance des principales bactéries isolées à partir des liquides pleuraux.....	34
a. Profil de résistance des entérobactéries.....	35
b. Profil de résistance de <i>P. aeruginosa</i> .....	36

III.1. 2. Liquide d'ascite.....	38
III.1.2.1. Répartition des résultats de liquide d'ascite selon la provenance des patients.....	38
III.1.2.2. Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne.....	38
III.1.2.3. Antibiorésistance des principales bactéries isolées à partir des liquides d'ascites.....	40
<b>Discussion</b> .....	41
<b>Conclusion</b> .....	46
<b>Références Bibliographiques.</b>	
<b>Annexes.</b>	

# **Introduction**



Les liquides de ponction sont des liquides d'épanchement correspondent à une quantité anormale de liquide dans les séreuses, il s'agit des liquides pleuraux, des liquides d'ascite, des liquides articulaires, les liquides péricardiques ou de tout autres liquides corporels normalement stériles pouvant être prélevé par ponction. Dans notre travail nous avons traités les liquides pleuraux et d'ascites.

Les épanchements pleuraux correspondent à une présence anormale liquidienne dans l'espace pleural, les pleurésies surtout infectieuses constituent une complication importante des maladies respiratoires et l'antibiothérapie est une pratique courante dans leur traitement (**Vautrin, 2009 ; Fofana, 2007**).

L'ascite est l'accumulation de liquide libre d'origine pathologique dans la cavité abdominale, l'ascite est la complication la plus fréquente de la cirrhose responsable d'une mortalité de 50% (**Andrade et al ., 2009 ; Moore et al.,2006**).

L'étude cytologique est nécessaire et permet le comptage des leucocytes, neutrophiles, globules rouges, et la recherche des cellules néoplasiques, les recherches bactériologiques sont systématiques avec mises en culture aérobie et anaérobie, auxquelles peuvent s'ajouter des recherches sur milieux plus spécifiques dans un cas de bactéries à croissance lente comme les mycobactéries. L'identification directe de germes pathogènes au cours d'un processus infectieux permettra une antibiothérapie adaptée (**Dembélé ,2009 ; Vautrin, 2009**).

La tuberculose pleurale est la première ou la deuxième forme la plus courante de tuberculose extra-pulmonaire ainsi que la principale cause d'épanchement pleural dans de nombreux pays. Elle est rare chez les jeunes nourrissons et plus fréquente chez les enfants de plus de 10 ans (**Ben Ameer, 2016**).

La tuberculose péritonéale, qui représente 1 à 2% de toutes les formes de tuberculose, peut se développer n'importe où dans la cavité abdomino-pelvienne, mais elle touche principalement l'épiploon, le tractus intestinal, le foie, la rate ou les organes génitaux féminins en plus du péritoine pariétal et viscéral (**Koc et al., 2006**).

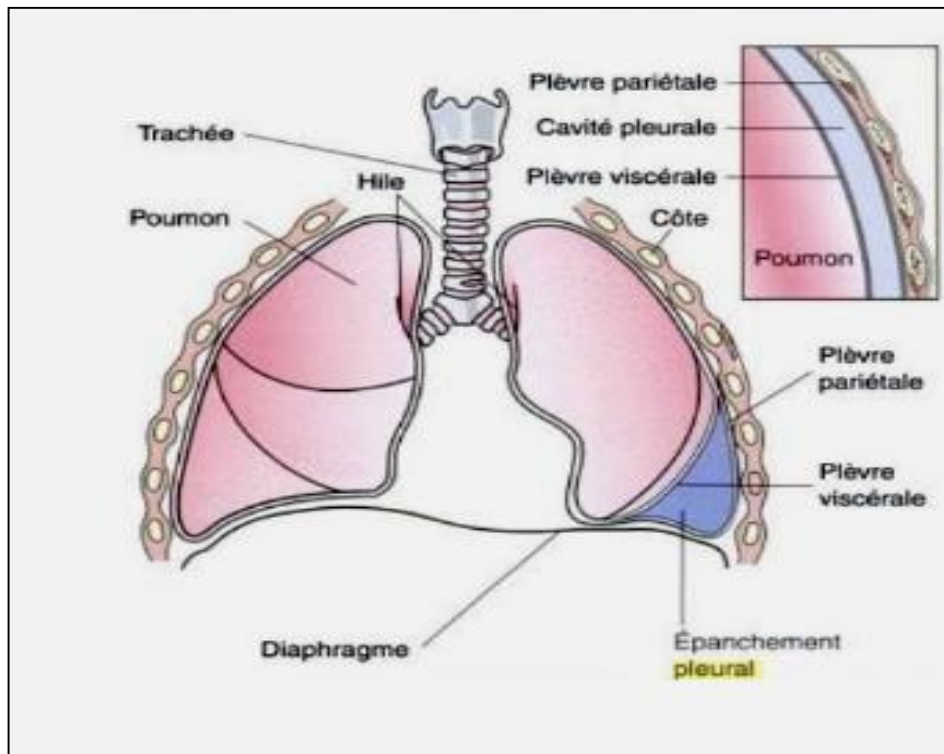
Dans cette optique l'objectif de notre étude menée au niveau de laboratoire central de centre universitaire de Blida unité de Frantz fanon est orienté vers une étude rétrospective de l'étiologie bactérienne et la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les liquides pleuraux et d'ascites.

**Chapitre I**  
**Synthèse bibliographique**

## I.1. Liquide pleural

### I. 1.1. Définition

L'épanchement pleural est une accumulation de liquide dans la cavité pleurale, c'est un processus pathologique primitif, il s'agit habituellement d'une atteinte secondaire. normalement, la cavité pleurale contient une petite quantité de liquide, qui lubrifie les feuillets de la plèvre et leur permet de bouger sans frotter l'un contre l'autre (**Fig.01**) (**Suzanne et al., 2011**).



**Figure 01** : Représentation schématique d'un épanchement pleural (**Suzanne et al., 2011**).

### I.1.2. Rappel anatomique

#### I. 1.2.1. La plèvre et la cavité pleurale

La plèvre est une membrane séreuse enveloppant le poumon, constituée d'un feuillet viscéral qui fait corps avec le poumon et recouvre les scissures interlobaires, un feuillet pariétal moule sur les côtes, le médiastin et la coupole diaphragmatique, ces deux feuillets se réfléchissent l'un dans l'autre au niveau du hile et limitent une cavité virtuelle, la cavité pleurale (**Kernbaum, 2008**).

Cette cavité étanche, à une pression inférieure de 4 mm de mercure à la 1pression atmosphérique, contient 10 à 20 ml de liquide pleural, qui permet le glissement de ces

feuillet l'un sur l'autre lors des mouvements respiratoires et peut héberger des cellules du système immunitaire inné dont des macrophages (**Chevalier, 2018**).

Le liquide pleural est produit essentiellement par la plèvre pariétale et consiste en un transsudat des vaisseaux systémiques de la plèvre pariétale qui transite par l'interstitium et traverse le mésothélium vers l'espace pleural où la pression est négative (**Louis, 2009**).

### **I. 1 .2.2. Anatomie de la plèvre**

#### **a. La plèvre viscérale**

Elle tapisse toute la surface du poumon à l'exception d'une partie de sa face médiastinale où elle se réfléchit au niveau du hile sur les éléments du pédicule pulmonaire. (**Fig.02**) (**Bouchet et Chevrel, 2001**).

#### **b. La plèvre pariétale**

Elle comporte trois segments (costal, diaphragmatique et médiastinal) qui se poursuivent l'un dans l'autre et forment les culs-de-sac pleuraux. Elle tapisse presque entièrement la face endothoracique de la cavité thoracique (**Fig.02**) (**Bouchet et Chevrel, 2001**).

#### **c. La plèvre costale**

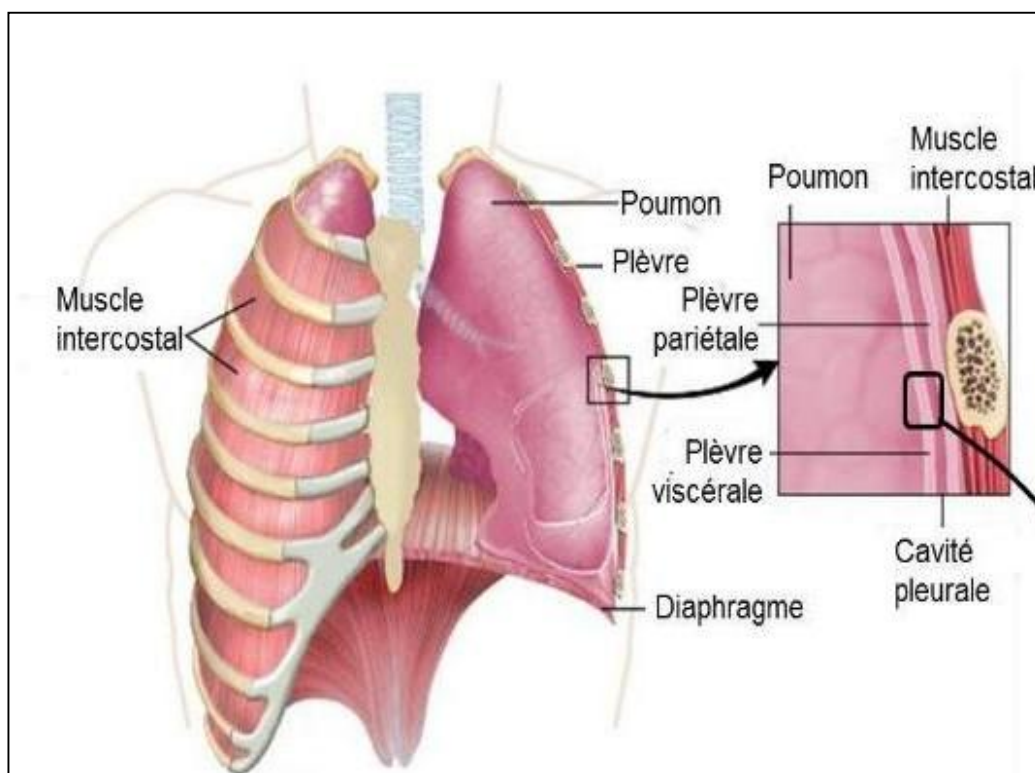
Elle tapisse la face profonde des côtes et des espaces intercostaux dont elle est séparée par le fascia endothoracique et se réfléchit alors en arrière pour devenir plèvre médiastinale. en bas elle se réfléchit pour devenir plèvre diaphragmatique (**Bouchet et Chevrel, 2001**).

#### **d. La plèvre diaphragmatique**

Plus mince que la plèvre costale, à gauche comme à droite elle se réfléchit en dedans pour devenir plèvre médiastinale (**Bouchet et Chevrel, 2001**).

#### **e. La plèvre médiastinale**

Elle s'étend selon une direction antéropostérieure depuis les gouttières costo-vertébrales en arrière jusqu'à la face postérieure du sternum en avant (**Bouchet et Chevrel, 2001**).



**Figure 02.** Anatomie de la plèvre et la cavité pleurale (Chevalier, 2018).

### I.1.3. Rappel physiopathologique

Le volume liquidien pleural physiologique est 10 à 20 ml, la sécrétion et la résorption sont équilibrées à l'état normal afin d'assurer l'homéostasie de son volume et de sa composition, le liquide pleural transite de la plèvre pariétale vers la plèvre viscérale en raison du gradient de pression entre l'interstitium pariétal et la cavité pleurale (Chevalier, 2018; Louis, 2009).

Les phénomènes de sécrétion et de réabsorption sont à l'origine du maintien d'une pression négative, permettant l'inflation du poumon à l'inspiration. Elle peut par différents phénomènes, se remplir d'air (pneumothorax) ou de liquide, formant une pleurésie; c'est sur celle-ci que se concentre notre étude (Droneau, 2017).

Le Tableau I résume les mécanismes physiopathologiques et les situations cliniques correspondantes.

**Tableau. I** les mécanismes physiopathologiques et les situations cliniques correspondantes

<b>Mécanismes physiopathologiques</b>	<b>Situations cliniques</b>
Augmentation du liquide interstitiel pulmonaire.	Décompensation cardiaque, pneumonie, embolie pulmonaire.
Augmentation de la perméabilité des capillaires pleuraux.	Cancer, tuberculose.
Augmentation de la pression intravasculaire dans la plèvre. Diminution de la pression pleurale.	Décompensation cardiaque, hypertension pulmonaire, syndrome veine cave supérieure, atélectasie.
Diminution de la pression oncotique.	Hypoalbuminémie.
Brèche ou rupture du canal thoracique	Chylothorax.
Brèche vasculaire intrathoracique.	Hémothorax.

(Thys ,2016).

#### **I.1.4. Agents responsables d'un épanchement pleural**

##### **I.1.4.1 Etiologies bactériennes**

Le tableau ci-après représente les principaux germes responsables de pleurésies chez l'adulte et l'enfant.

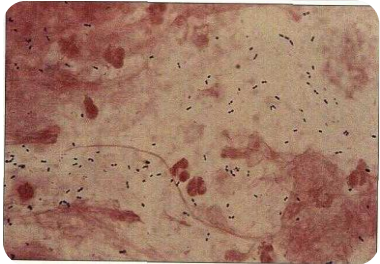
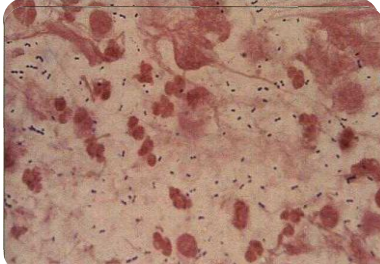
**Tableau II.** Les principaux germes responsables de pleurésies chez l'adulte et l'enfant.

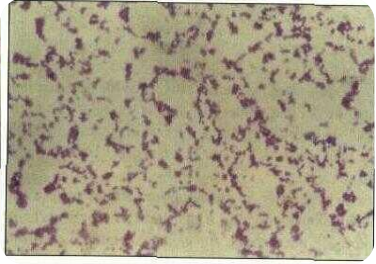
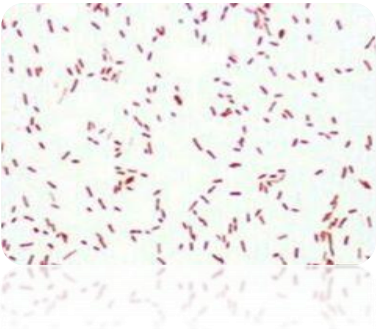
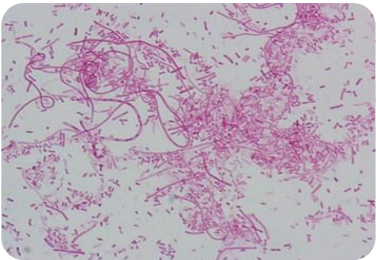
	<b>Pleurésies chez l'adulte</b>	<b>Pleurésies chez l'enfant</b>
<b>Principaux germes bactériens</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Streptococcus pneumoniae</i> et les autres Streptocoques oraux.</li> <li>- <i>Staphylococcus aureus</i></li> <li>- Enterobactéries (<i>Klebseilla pneumoniae</i> en particulier).</li> <li>- Bactéries anaérobies strictes.</li> <li>- <i>Mycobacterieum tuberculosis</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Staphylococcus aureus</i></li> <li>- <i>Streptococcus pneumoniae</i></li> <li>- <i>Haemphilus influeanzae</i></li> <li>- Bactéries anaérobies strictes</li> </ul>

(Fraperie et Massere,2016).

Les espèces bactériennes les plus redoutables dans les pleurésies sont synthétisées dans le tableau III.

**Tableau III.** Caractéristiques des bactéries responsables de pleurésies.

Espèces bactériennes	Caractéristiques	Microscopie photonique (X100)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cocci à Gram positif, lancéole en flamme de bougie parfois en courtes chainettes, encapsulés.</li> <li>• Aéro-anaérobie Catalase-, agglutination des antigènes capsulaires.</li> <li>• Culture sur milieu au sang frais sous atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>, 24 h à 37C°. (<b>Ramdani-Bougues et al., 2005</b>).</li> </ul>	 <p data-bbox="1054 846 1417 992"><b>Figure 03.</b> <i>S. pneumoniae</i>. Coloration de Gram (<b>Hart et Shears, 2003</b>).</p>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coccobacilles à Gram négatif avec un polymorphisme important, Immobiles parfois capsulées.</li> <li>• Aérobie- anaérobie facultatif, Glucose +, oxydase+, lactose –.</li> <li>• Culture sur milieu au sang cuit 24h à 35-37C° (<b>Ramdani-Bougues et al., 2005 ; Singleton, 2005 ; Peltola et al., 1977</b>).</li> </ul>	 <p data-bbox="1054 1395 1417 1541"><b>Figure 04.</b> <i>H influenzae</i>. Coloration de Gram (<b>Hart et Shears, 2003</b>).</p>

<p><i>Staphylococcus aureus</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cocci à gram positif arrondie, diplocoques ou en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobile.</li> <li>• aérobie-anaérobie facultatif, Catalase +, coagulase+.</li> <li>• Culture sur milieu sélectif Chapman à 24h à 37C°. (<b>Flandrois, 2000; Ramdani-Bouguess et al., 2005</b>).</li> </ul>	 <p><b>Figure 05.</b> <i>S.aureus</i> coloration de Gram (<b>Hart et Shears, 2003</b>).</p>
<p>Entérobactéries</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bacilles à Gram négatif, mobiles par flagelles péritriches, non sporulés.</li> <li>• Aérobie facultatif, catalase +, oxydase-, réduisent habituellement les nitrates en nitrite.</li> <li>• Culture sur les milieux les plus simples (gélose ordinaire) 24 h entre 24 et 37°C (<b>Savadojo et al., 2016</b>).</li> </ul>	 <p><b>Figure 06.</b> <i>P. mirabilis</i> coloration de Gram (<b>Williams, 2016</b>).</p>
<p>Les bactéries anaérobies</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• les plus fréquemment isolées sont ; les cocci à Gram+ (peptostreptococcus), bacilles à Gram + (actinomycètes) et bactéries à Gram – (Prevotelle, fusobactérium) (<b>Ramdani-Bouguess et al ., 2005</b>).</li> </ul>	 <p><b>Figure 07.</b> <i>Fusobactérium spp</i> coloration de Gram (<b>Banket et al., 2010</b>).</p>



#### **I.1.4.2. Etiologies virales**

Début brutal par un syndrome grippal, une leuco-neutropénie est typiquement retrouvée et l'épanchement est lymphocytaire, elles sont assez fréquemment rencontrées, correspondent à une réaction pleurale secondaire à la lésion pulmonaire infectieuse sous-jacente, même s'il peut y avoir très rarement une atteinte pleurale directe, Les virus comme l'adénovirus touchant essentiellement l'enfant (**Dioulde, 2017 ; Vautrin, 2009**)

#### **1.1.4.3 Etiologies parasitaires**

La pleurésie parasitaire peut être causé par les amibes, le parasite en cause est *Entamoeba histolitica*, succédant fréquemment à un abcès du foie par colonisation des organes de voisinage, Le cheminement vers le poumon se fait par effraction diaphragmatique progressive, Elle se présente comme une pleuropneumopathie fébrile traînante et douloureuse, rebelle aux antibiotiques si les stades intestinaux et hépatiques ont été silencieux (**Fantin et al., 1988**).

Autres parasites peuvent être à l'origine d'une pleurésie, comme les *Paragonimus*, les *Echinococcus*, sans apporter de signe de spécificité infectieuse, et l'interrogatoire permet d'orienter vers une recherche parasitaire en fonction de l'habitus et des conditions de vie du patient. La guérison va de pair avec le traitement parasitaire adéquat. (**Vautrin, 2009**).

#### **I.1.4.4 Autres étiologies**

Exsudat: il s'agit d'une altération du mésothélium avec une augmentation de la perméabilité capillaire résultant des processus inflammatoires (infections, maladies auto-immunes) ou de diminution du drainage lymphatique.

Transsudat : augmentation de la pression capillaire hydrostatique pulmonaire (insuffisance cardiaque) ou diminution de la pression oncotique capillaire (syndrome néphrotique) (**Droneau, 2017**)

Le tableau IV résume les différentes étiologies des exsudats et des transsudats.

**Tableau. IV.** Etiologies des transsudats et des exsudats.

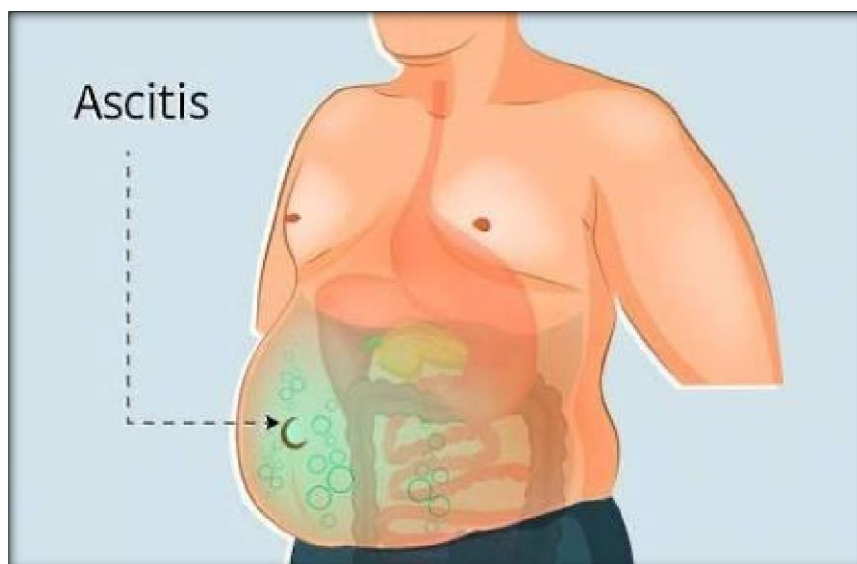
<b>Etiologies des transsudats</b>	<b>Etiologies des exsudats</b>
Insuffisance cardiaque Embolie pulmonaire Cirrhose hépatique Syndrome néphrotique Atélectasie Péricardite constrictive Syndrome cave supérieure Urinothorax Dialyse péritonéale myxœdème Syndrome demons-meigs	Infection Embolie pulmonaire Hémothorax Néoplasie Maladies digestif Collagénose et vascularites Iatrogène Syndrome de dressler Chylothorax Insuffisance rénal terminal Asbestose

(Allo, 2011).

## I.2. Liquide d'ascite

### I.2.1. Définition

L'ascite est l'accumulation de liquide libre d'origine pathologique dans la cavité péritonéale, il se manifeste par une augmentation du volume de l'abdomen, attestée par l'augmentation du périmètre ombilical avec parfois une prise de poids, il devient cliniquement détectable lorsqu'au minimum 500 ml de liquide se sont accumulés (Andrade et al., 2009 ; Buffet, 2012).



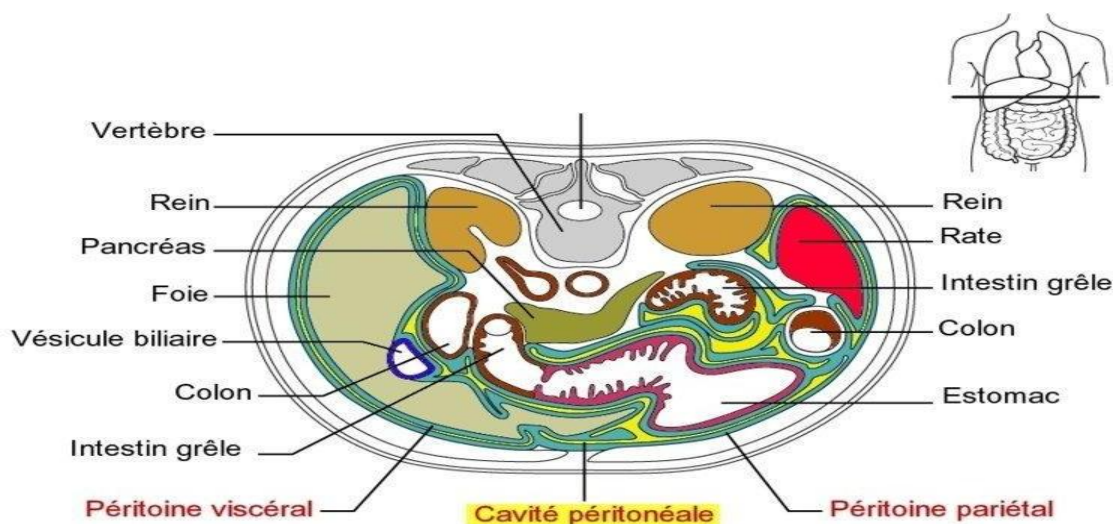
**Figure 08.** Représentation schématique d'un épanchement péritonéal (Quispe, 2020)

### **I.2.2. Rappel anatomique**

Le péritoine est une membrane aréolaire couverte par une seule couche de cellules mésothéliales munies de microvillosités. Sa surface approche celle du corps entier soit 1,7 m<sup>2</sup>. Il comprend deux parties : le péritoine pariétal et le péritoine viscéral.

Le péritoine pariétal, vascularisé et innervé par des vaisseaux et nerfs somatiques, d'où le caractère aigu et précis de la douleur liée à son irritation, couvre les parois de l'abdomen, la face antérieure du diaphragme et du pelvis.

La majeure partie des organes intra péritonéaux est couverte par le péritoine viscéral, irrigué par les vaisseaux splanchniques et innervé par le système nerveux autonome, d'où le caractère sourd et mal localisé de la douleur due à son irritation (**Dembélé, 2009**) (**Fig. 09**).



**Figure 09** : Coupe transversale de l'abdomen (**Fraperie et al., 2016**).

### **I.2.3. Rappel Physiopathologique**

Le liquide péritonéal est toujours présent bien qu'en très petite quantité, chez le sujet normal. Il est principalement issu du liquide interstitiel hépatique, passant à travers la capsule du foie.

L'ascite ne se forme qu'en cas d'hypertension portale et de rétention hydrosodée, L'hypertension portale est nécessaire, mais non suffisante. Elle localise la rétention hydrosodée dans la cavité péritonéale. La rétention hydrosodée est en partie secondaire à l'insuffisance hépatocellulaire qui induit une stimulation du système rénine-angiotensine et donc une production accrue d'aldostérone ce qui entraîne une réabsorption accrue de sodium et d'eau au niveau du tube distal rénal (**Carrier et al., 2014 ; Dembélé, 2009**).

Le tableau V décrit les facteurs influençant la formation d'ascite.

**Tableau V.** Les facteurs influencent dans la formation d'ascite

Mécanismes physiopathologiques	Situations cliniques
Augmentation du liquide interstitiel pulmonaire	Décompensation cardiaque, pneumonie, embolie pulmonaire
Augmentation de la perméabilité des capillaires pleuraux	Cancer, tuberculose
Augmentation de la pression intravasculaire dans la plèvre Diminution de la pression pleurale	Décompensation cardiaque, hypertension pulmonaire, syndrome veine cave supérieure Atélectasie
Diminution de la pression oncotique	Hypoalbuminémie
Apparition ou augmentation de liquide dans la cavité péritonéale	Cirrhose, dialyse péritonéale, syndrome de Demons-Meig
Brèche ou rupture du canal thoracique	Chylothorax
Brèche vasculaire intrathoracique	Hémothorax

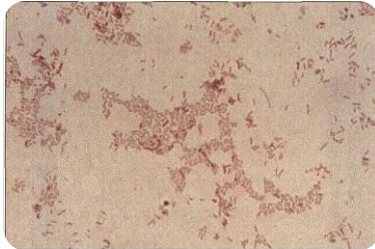
(Dembélé ,2009).

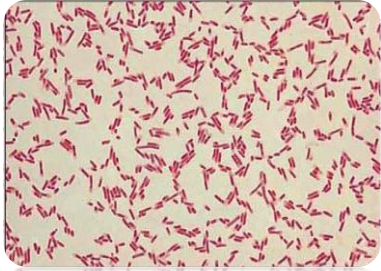
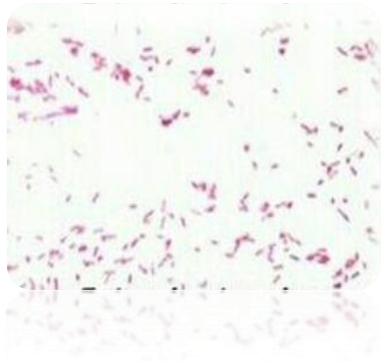
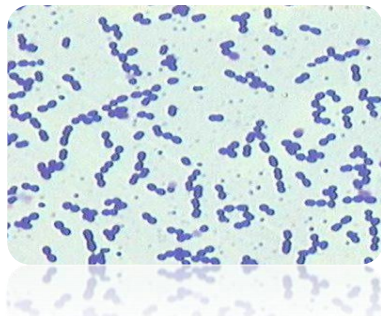
#### I.2.4.Agents responsables de l'ascite

##### I.2.4.1.Etiologies bactériennes

Selon Grosjean et al. (2017), les bactéries fréquemment isolées du liquide d'ascite sont : *E.coli*, *Kleibsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Streptococcus spp*, *Enterococcus spp* et *Staphylococcus spp*, le tableau VI synthétise les caractéristiques des plus redoutables bactéries trouvées dans les infections du liquide d'ascite.

**Tableau VI.** Caractéristiques des bactéries rencontrées dans les infections du liquide d'ascite.

Espèces bactériennes	Caractéristiques	Microscopie photonique (X100)
<i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bacilles à Gram négatif, mobiles, non capsulées.</li> <li>• aérobie-anaérobie facultatif, oxydase -, catalase +, lactose +, Fermentant le glucose.</li> <li>• Se développant aisément sur les milieux (Drigalski, EMB, Hektoen, Mac Conkey) 18-24 h à 37C°. (Savadoغو et al., 2016).</li> </ul>	 <p><b>Figure10.</b> <i>E. coli</i>. Coloration de Gram (Hart et Shears, 2003).</p>

<p><i>Klebsiella spp.</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bacilles Gram négatif en forme de bâtonnet, non mobiles, généralement encapsulées.</li> <li>• Anaérobie facultatif, lactose +, oxydase -, RM+ et VP-.</li> <li>• Se développe sur les milieux classiques d'isolement pour les entérobactéries (Drigalski, EMB, Hektoen, Mac Conkey) 24 h à 37°C (Diallo, 2007).</li> </ul>	 <p><b>Figure 11.</b> <i>K.pneumoniae</i>. Coloration de Gram (Chouguiat et al., 2016).</p>
<p><i>Enterobacter spp.</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bacilles à Gram négatif, mobiles par les flagelles péritriches, non capsulé.</li> <li>• Anaérobies facultatifs, oxydase -, lactose +, RM+ et VP-.</li> <li>• Se développant aisément sur milieu ordinaire et gélose au sang, 24 h à 30C° (Savadoغو et al., 2016).</li> </ul>	 <p><b>Figure 12.</b> <i>E. cloacea</i>. Coloration de Gram (Aryal, 2018).</p>
<p><i>Enterococcus spp.</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cocci à Gram positif, anciennement classés en tant que <i>Streptococcus</i> du groupe D, non mobiles, non capsulés.</li> <li>• Anaérobies facultatifs, oxydase+, catalase -.</li> <li>• Se multiplier aisément sur les géloses ordinaires Trypticase-Soja et gélose au sang 18 à 24 h à 35 C° (Aguilar-Galvez et al.,2011 ;Cattoir , 2017 ).</li> </ul>	 <p><b>Figure 13.</b> <i>Enterococcus spp.</i>.Coloration de Gram (Hamani et Kheniche, 2018).</p>

Les espèces bactériennes *Streptococcus spp* et *Staphylococcus spp* sont décrites dans le chapitre I, tableau VI pages 6-7.

### I.2.4.2. Autres étiologies

**Tableau VII.** Autres étiologies de l'ascite.

<b>Les principales étiologies des ascites</b>	<b>Exemples ou explication</b>
Les hépatopathies	• La cirrhose est la cause principale qui apparaît en cas d'hypertension portale et de rétention sodée.
Les pathologies carcinomateuses non Hépatiques	• L'ascite néoplasique, l'ascite de la maladie gélatineuse du péritoine, et l'ascite des mésothéliomes péritonéaux.
La tuberculose péritonéale	• Elle est rare. Il faut la soupçonner lorsque la concentration de lymphocytes (70 à 80%) affirmée par la présence de BK.
Causes plus rares	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La pancréatite chronique.</li> <li>• La pancréatite Cardiaque.</li> <li>• Ascite chyleuse.</li> </ul>

(Ouedrago, 2008)

### I.2.5. Tuberculose des séreuses : place des mycobactéries dans l'étiologie des épanchements pleuraux et d'ascites

#### I .2.5.1. Rappel bactériologique

*Mycobacterium tuberculosis* est un bacille fin, légèrement incurvé, de 2 à 5µm de longueur sur 0,2 à 0,3µm de largeur. Ses extrémités sont arrondies. Il est immobile, acapsulé, asporulé et se présente en petits amas ou sous forme isolée, aérobie intra et extracellulaire. Il est très sensible à certains agents physiques : chaleur, lumière, solaire, rayons X ou UV (Flandrois., 1997).

*M. tuberculosis* ne pousse pas sur les milieux usuels et nécessite des milieux très enrichis. Le plus employé est un milieu à l'œuf, dit milieu Lowenstein-Jensen, sur lequel les colonies sont de teinte crème-beige, sèches, à surface rugueuse, en forme chou-fleur, l'apparition des colonies n'est observable qu'à partir du 21ème jour en moyenne, ils ne sont pas colorables par les colorants usuels, mais sont colorées par la fuchsine phéniquée à chaud selon la méthode de ZIEHL-NEELSEN (Hmdad, 2007 ; Flandrois., 1997).

- **La tuberculose pleurale**

La tuberculose pleurale fait partie des formes les plus fréquentes des tuberculoses extrapulmonaires. Elle est rare chez le nourrisson et observée surtout chez l'enfant de plus de dix ans. La contamination de la plèvre est secondaire à la rupture dans la cavité pleurale d'un foyer caséeux pulmonaire ou d'une adénopathie, ou encore à une dissémination hématogène

(Ben Ameer et al., 2016 ; Timouyas, 2017).

- **La tuberculose péritonéale**

Elle touche plus fréquemment la femme jeune, se situe au quatrième rang des tuberculoses extrapulmonaires particulièrement en milieu africain et recherchée devant une ascite exsudative lymphocytaire, elle est souvent secondaire à la rupture d'un ganglion mésentérique, mais peut aussi survenir par contamination intestinale ou génitale (Ndiaye et al., 2012).

## **I.2.6. L'antibiorésistance**

### **I.2.6 .1.Définition d'un antibiotique**

Un antibiotique est une substance active capable d'inhiber la croissance de la bactérie (effet bactériostatique) ou de tuer la bactérie (effet bactéricide), elle est admise à des faibles doses et ne doit pas être toxique. Cette substance peut être chimique naturelle, synthétique, ou semi synthétique ayant un mode d'action spécifique contre les bactéries. La majorité des antibiotiques sont des molécules naturelles, produites essentiellement par des bactéries ou certains champignons. (Kohanski et al., 2010 ; Elliott et al., 2011).

#### **I.2.6.2. Définition de la résistance**

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique si la concentration minimale de cet antibiotique capable d'inhiber sa croissance est supérieure aux concentrations obtenues dans le sérum d'un malade traité à doses standards par cet antibiotique. On distingue deux sortes de résistances : la résistance naturelle et la résistance acquise.

**La résistance naturelle** : ou résistance intrinsèque, est celle que développe un agent infectieux contre un médicament donné sans jamais avoir été en contact avec celui-ci. Elle concerne toutes les souches d'une même espèce et constitue une caractéristique génétique de cette espèce, portée par le chromosome bactérien.

**La résistance acquise** : est la résistance développée par un agent infectieux contre un médicament auquel il était auparavant sensible. Elle ne touche que certaines souches au sein d'une espèce normalement sensible au médicament concerné. Elle peut être due à une mutation ou être le fait de l'acquisition par l'agent infectieux de matériel génétique facultatif (plasmides, transposons) (Larousse médical, 2006).

#### **I.2.6.3.Résistance aux antibiotiques des principales bactéries infectant les liquides pleuraux et d'ascites**

Les mécanismes de résistance des principales molécules utilisés dans l'antibiothérapie des infections bactériennes y compris celles des liquides pleuraux et d'ascites sont résumés dans le tableau ci-après.

**Tableau VIII.** Antibiotiques, cible et mécanismes de résistance.

<b>Familles et Mode d'action</b>	<b>Exemple de molécule</b>	<b>Mécanisme de résistance</b>
<p><b>Inhibition de la synthèse de la paroi :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Les beta-lactamines : rassemblant la sous-famille des pénicillines, céphalosporines, des carbapénèmes.</li> <li>• Glycopeptide.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pénicilline, méticilline, ampicilline...</li> <li>• Vancomycine...</li> </ul>	<p>Enzymes qui dégradent l'ATB: Pénicillinase, cephalosporinase, carbapénèmase, BLSE. Modification de la cible (PLP) Cible à faible affinité.</p>
<p><b>Inhibition de la synthèse protéique :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aminoside.</li> <li>• Tétracyclines.</li> <li>• Macrolides.</li> <li>• Chloramphénicol.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gentamycine, streptomycine...</li> <li>• Oxytétracycline, chlortétracycline...</li> <li>• Erythromycine, clindamycine...</li> <li>• Chloramphénicol.</li> </ul>	<p>Diminution de la perméabilité, modification de la cible, augmentation de l'efflux, inactivation de l'ATB.</p> <p>Protection de la cible. Acétylase.</p>
<p><b>Inhibition de la synthèse d'acide nucléique :</b></p> <p>Inhibition de la synthèse d'ADN :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Quinolone</li> </ul> <p>Inhibition de la synthèses d'ARN:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Rifamycine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ciprofloxacine, levofloxacine...</li> <li>• Rifamycine, rifacillin</li> </ul>	<p>Protection de le cible, modification de l'ADN gyrase , efflux d'antibiotique, et modification de la cible.</p>
<p><b>Perturbation de la membrane plasmique :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Polymyxine.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Polymyxine B...</li> </ul>	<p>Modification du lipopolysaccharide, capsule et pompes d'efflux.</p>
<p><b>Interférence avec une voie métabolique</b> (par exemple l'interférence avec la synthèse de l'acide folique) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sulfamides.</li> <li>• Trimetoprime.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sulfamethoxazole, sulfisoxazole...</li> <li>• Trimétoprime en association avec Sulfamethoxazole.</li> </ul>	<p>Modification de la cible (faible affinité)</p>

(Willey *et al.*, 2008 ; Elliott *et al.*, 2012).



**Chapitre II**  
**Matériel et Méthodes**

### **I.1. Objectif de l'étude**

Notre travail est réalisé au niveau du laboratoire Central du centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Blida (Unité Frantz Fanon).

L'objectif de ce travail est de réaliser une étude rétrospective sur l'examen cyto bactériologique des liquides pleuraux et des liquides d'ascite et étudier le profil d'antibiorésistance des germes incriminés dans les infections de ces derniers. La période de l'étude est comprise entre le mois de Janvier 2018 et le mois de Décembre 2019.

#### **I.1.1. Matériel non biologique**

Le matériel non biologique (équipements, composition des milieux de cultures, réactifs, disques d'antibiotiques) utilisé dans cette étude est décrit en Annexe I.

#### **I.1.2. Matériel biologique**

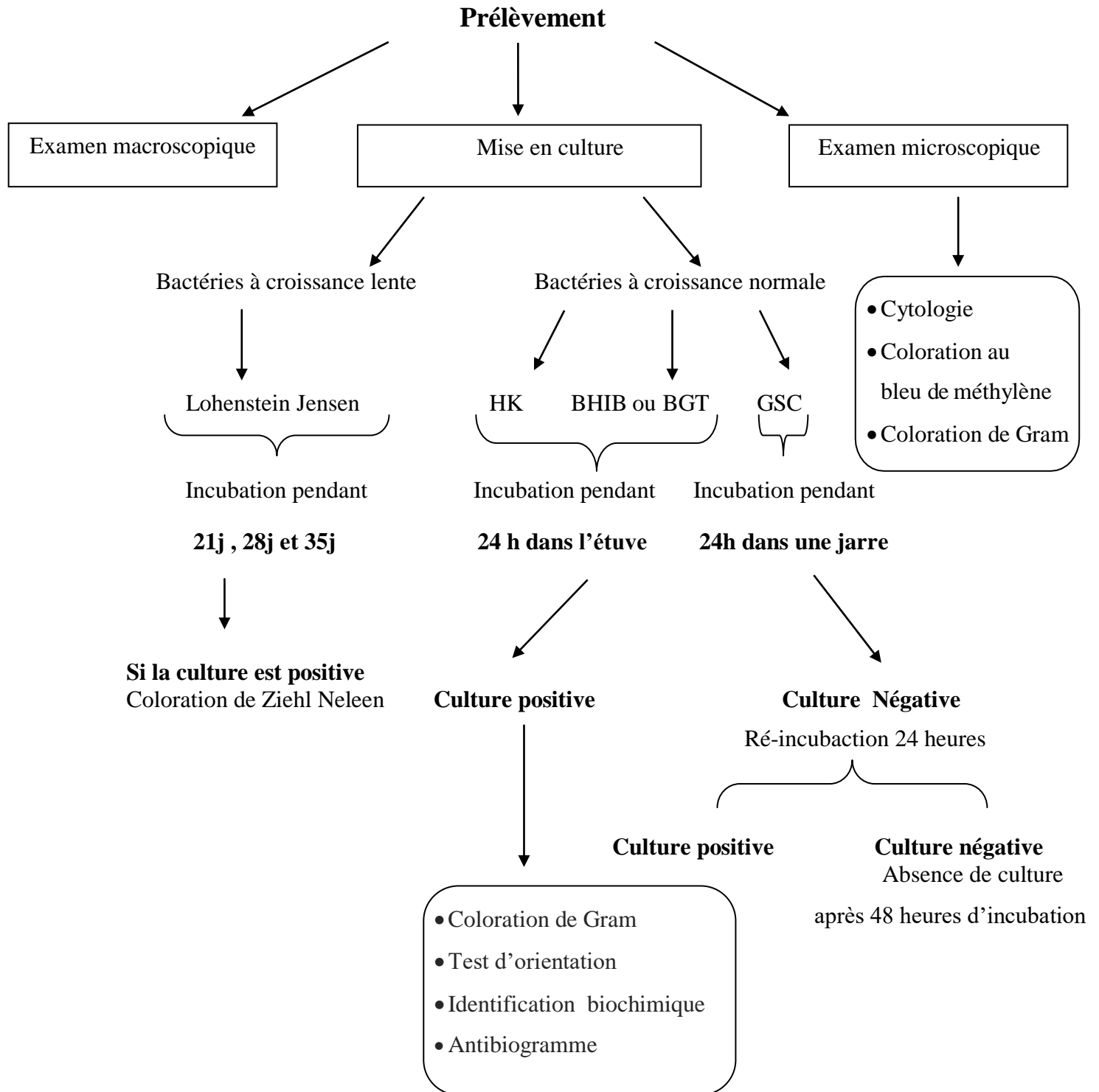
Les échantillons biologiques sur lesquels est effectuée cette étude sont le liquide pleural et le liquide d'ascite. Les prélèvements sont reçus au laboratoire dans des tubes ou des seringues accompagnés d'une fiche de renseignement (**Annexe II**).

Ces liquides ont été diagnostiqués dans les différents services au niveau de CHU (internes) ainsi que certains provenant des autres établissements hospitaliers de Blida et considérés comme externes.

### **II. 2..Méthodes**

Pour diagnostiquer les différentes bactéries présentes dans le liquide pleural et le liquide d'ascite, plusieurs techniques ont été utilisées pour déterminer les différentes étiologies incriminées et le profil d'antibiorésistance des bactéries trouvées dans ces épanchements.

La figure 14 présente les différentes étapes de la mise en évidence des germes incriminés et différents tests réalisés.



**Figure 14.** Différentes étapes de la mise en évidence des germes incriminés dans des liquides pleuraux et d'ascite et les différents tests réalisés dans l'étude.

### **II .2.1. Prélèvement :**

Les prélèvements sont effectués par le clinicien dès les premiers signes cliniques ou radiologiques d'épanchement ou d'infection et avant toute antibiothérapie. Soit par la ponction pleural ou thoracentèse pour le liquide pleural soit par la ponction d'ascite ou paracentèse pour le liquide d'ascite (**Annexe III**).

- **Transport des échantillons :**

Le délai maximum de transport est de 2 heures à température ambiante. Dans le cas où le délai doit être dépassé, les prélèvements seront réalisés en milieu de transport ou à défaut conservés réfrigérés. Les liquides de ponction en seringue doivent être transférés dans des systèmes hermétiquement clos ou les seringues doivent être bouchées.

- **La Réception et l'enregistrement des prélèvements**

Chaque prélèvement reçu au niveau de laboratoire est accompagné par une fiche de renseignement décrivant l'état clinique du patient dans le but de rassembler le maximum d'informations. Après la réception, ils sont enregistrés sur le registre dans la partie des liquides de ponction et on leur donne un numéro.

### **II.2.2.Examen macroscopique des liquides pleuraux et d'ascites**

Pour apporter les informations utiles au diagnostic (couleur, limpidité, caractère hémorragique), on distingue les catégories d'épanchements suivantes :

- Aspect citrin transparent.
- Aspect jaune foncé.
- Aspect jaune trouble ou jaune verdâtre.
- Séro-hémorragique.
- Aspect franchement hémorragique.
- Plus exceptionnel mais facilement reconnaissable, épanchement laiteux.

### II.2.3.Mise en culture

Les milieux utilisés dans la mise en culture des échantillons des liquides pleuraux et d'ascite sont décrit dans le tableau suivant:

**Tableau IX.** Les milieux utilisés dans la mise en culture des échantillons des liquides pleuraux et d'ascites.

Milieu de culture	Utilisation
Milieu Hektoon	Sélectif aux bactéries Gram négatifs, permet de différencier entre les BGN lactose positives et les BGN lactose négatives.
Gélose au sang cuit (GSC)	Utilisé pour les bactéries exigeantes mais aussi la culture des bactéries non exigeantes.
Bouillon d'enrichissement (glucosé tamponné BGT ou cœur-cervelle BHIB)	Utilisé pour la culture d'une grande variété de microorganismes exigeants et non exigeants soit bouillon glucosé tamponné BGT recommandé pour la culture des streptocoques, pneumocoques, et autres germes exigeants , soit le bouillon cœur-cervelle BHIB .
Milieu Lohenstein-Jensen	C'est un milieu sélectif parfaitement adapté pour l'isolement, le dénombrement et la différenciation des mycobactéries.

Après le séchage des milieux coulés en boîtes de pétri, l'ensemencement pour le milieu Hektoon et Gélose au sang cuit se fait par la méthode des trois quadrants en stries qui permet d'isoler les différentes bactéries contenues dans un mélange, pour le bouillon d'enrichissement on verse deux gouttes de prélèvement dans ce dernier (**Annexe III**).

Les milieux ensemencés sont incubés dans une étuve avec des particularités :

- Le bouillon d'enrichissement et le milieu Hektoon sont incubés à 37 °C pendant 24 heures.
- Les géloses au sang cuit sont également incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures mais dans une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> à l'aide d'une jarre vidée de l'oxygène.

## **II.2.4. Examen microscopique**

### **II.2.4.1. Analyse Cytologique**

L'analyse cytologique doit répondre à un ou deux objectifs en fonction de la nature de l'échantillon. Il peut s'agir d'une analyse quantitative ou qualitative.

L'analyse quantitative permet de répondre en nombre d'éléments figurés par unité de volume (millimètre cube ou microlitre, millilitre). Alors que l'analyse qualitative est utilisée pour connaître avec précision la nature des éléments figurés observés lors de l'analyse quantitative **(Denis et al., 2016)**.

L'observation microscopique des échantillons des liquides pleuraux et d'ascites s'effectue selon les étapes suivantes :

- ✓ Placer une lamelle sur la cellule Nageotte.
- ✓ Poser la cellule sur une surface bien horizontale.
- ✓ Introduire le liquide à analyser entre lamelle et la cellule Nageotte à l'aide d'une pipette pasteur.
- ✓ Observation au microscope au grossissement (G X40)

La lecture sur la cellule Nageotte se fait par comptage de nombre d'éléments dans une bande comme suit :

-Si la bande est chargée d'éléments : on prend en considération une seule bande puis on multiplie le nombre d'éléments (x 4) et on le divise sur 5.

- Si la bande n'est pas chargée : on prend en considération le nombre de toutes les bandes puis on multiplie le nombre d'éléments (x 4) et on le divise sur 5.

Si le nombre de leucocytes est supérieure a 30 leucocytes / mm<sup>3</sup> on réalise la coloration au bleu de méthylène.

### **II.2.4.2. Etat frais**

L'état frais est une technique qui consiste à examiner les micro-organismes vivants entre lame et lamelle et de distinguer leur morphologie et leur mobilité **(Garnier et Denis, 2010)**.

#### ✓ **Technique:**

La technique est réalisée à partir d'un écouvillon humidifié par l'eau physiologique. Après une homogénéisation du prélèvement liquéfié, on prélève une goutte de suspension bactérienne. Ensuite, on dépose la goutte de suspension au centre d'une lame propre, et on la

recouvre d'une lamelle en portant d'une position inclinée de 45°, l'observation se fait à l'objectif (x 40).

### ✓ **La lecture**

La lecture des résultats s'effectue essentiellement pour :

- Observer la réaction inflammatoire : présence de lymphocytes, mais également la présence d'hématies, cellules épithéliales.
- Visualisation la mobilité des bactéries et la présence ou l'absence des levures.

### **II.2.4.3.Examen après coloration au bleu de méthylène**

La coloration au bleu de méthylène est une coloration très simple qui permet d'observer la présence de polynucléaires et de lymphocytes et les différencier les uns des autres : les polynucléaires sont de grosses cellules à cytoplasme riche en granules qui prennent la couleur du colorant les rendant faciles à reconnaître. Alors que les lymphocytes sont de taille plus petite que les polynucléaires, avec un gros noyau occupant la majeure partie du cytoplasme. Cette coloration nous oriente vers une infection bactérienne s'il y'a prédominance de polynucléaires ou vers une infection viral s'il y'a une prédominance lymphocytaire.

La coloration au bleu de méthylène s'effectue selon les étapes suivantes :

- ✓ Réaliser un frottis et le fixer.
- ✓ Recouvrir la lame de bleu de méthylène pendant 5 à 10minutes.
- ✓ Rincer à l'eau distillée puis sécher la lame.

La lecture s'effectue par observation microscopique à l'objectif (x100) en ajoutant une goutte d'huile à immersion avec un éclairage important (diaphragme ouvert).

Toutes les cellules apparaissent colorées en bleu, ce qui nous mène à distinguer les cellules suivantes:

-Les polynucléaires : ont un noyau polylobé qui prend la couleur bleu, d'où l'observation de granules bleus après coloration, il s'agit d'une infection bactérienne.

-Les lymphocytes : sont de taille moindre que les polynucléaires, et se caractérise par leur gros noyau qui prend la coloration bleu, il s'agit d'une infection viral.

### **II.2.4.4.Coloration de Gram**

Elle sert à différencier et classer les bactéries selon leur affinité morfo-tinctorial en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif et à Gram négatif selon la composition chimique et la perméabilité de la paroi à l'alcool-acétone (**Lanotte et al., 2010**). Elle permet aussi de renseigner sur la forme, la taille, et le mode de regroupement des bactéries.

✓ **Technique**

C'est la coloration de référence en bactériologie. Elle est réalisée comme suit :

Sur frottis fixé à la chaleur puis à l'alcool :

- recouvrir la lame de violet de gentiane : 1 minute
- lavé à l'eau
- recouvrir de lugol : 1 minute
- décoloré à l'alcool : 30 min la lame étant tenue inclinée.
- stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau
- recouvrir la lame de fuchsine diluée, 30 secondes à 1 minute
- lavé à l'eau
- sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur
- examiné à l'immersion grossissement (x100).

✓ **Lecture :**

La coloration en rose est en faveur des bactéries Gram positif tandis qu'on violet elle orient vers des bactéries à Gram négatif.

**II.2.5. Testes d'identification bactérienne**

L'orientation vers une famille ou un genre bactérien est réalisée en considérant à la fois, les données et les recherches bibliographiques sur les bactéries fréquemment isolées des liquides pleuraux et des liquide d'ascite et en associant les préférences culturelles des bactéries et leurs caractéristiques afin de sélectionner les disques d'antibiotiques à tester et la galerie biochimique qui identifieront le ou les germes isolés.

**a. Identification des bacilles à Gram négatif**

Les cultures positives sur la gélose au sang cuit et sur le milieu Hekton sélectif aux bactéries Gram négatif nous orientent vers les BGN qui peuvent être des fermentaires ou non fermentaires.

La couleur des colonies sur le milieu Hekton permet de différencier entre les BGN fermentant le lactose en induisant un virage de couleur du milieu vers le jaune, et entre les BGN non fermentaires dont les colonies ont la même couleur du milieu utilisé.

La confirmation on des résultats s'effectue en réalisant une coloration de Gram et un test d'oxydase pour différencier entre les BGN oxydatifs (oxydase positif) et les BGN non oxydatifs (oxydase négatif).



### **Test d'oxydase**

L'oxydase est le critère le plus discriminatif et le plus employé pour l'identification des BGN, Ce test recherche l'enzyme de la chaîne respiratoire cytochrome oxydase.

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

#### ✓ **Technique :**

Ce test est réalisé à l'aide des disques vierges sur lequel on dépose une goutte du réactif N-diméthylparaphénylène diamine, sur lequel on dépose une colonie par une pipette Pasteur stérile.

#### ✓ **Lecture :**

L'observation est immédiate:

-Oxydase (+) : l'apparition d'une coloration bleu-violet

-Oxydase(-) : absence de coloration.

### **Identification biochimique par galerie miniaturisée API**

**La galerie API 20<sup>E</sup>** : est un système standardisé d'identification des entérobactéries et certains BGN non fermentaires. Elle est composée de 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés. Ces galeries se présentent sous forme de produits desséchés que l'on réhydrate par inoculation de la suspension du germe à tester pour la mise en évidence d'enzymes ou de fermentation de sucres (**Biomérieux, 2010**).

**La galerie API 20NE** : Système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas* et *Acinetobacter*), combinant 8 tests conventionnels inoculés avec une suspension bactérienne saline, et 12 tests d'assimilation inoculé avec la suspension bactérienne saline mélangée au medium (milieu minimum) (**Lagha, 2007**).

#### ✓ **Technique**

- On réunie le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation avec la répartition environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, sans oublié d'inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. En effet, on retire la galerie de son emballage individuel et on la dépose dans la boîte d'incubation.

- On prépare l'inoculum bactérien selon les exigences du fournisseur et on l'utilise pour

inoculer les micro-tubes à l'aide de pipette Pasteur, en évitant la formation de bulles d'air. On remplit le micro-tube et la cupule pour les tests qui sont encadrés, on craie l'anaérobiose pour les tests soulignés par l'ajout de l'huile de vaseline dans la cupule.

### ✓ Lecture

Après incubation en aérobiose à 37°C, pendant 24h, quelques tests nécessitent l'ajout de réactif pour révéler le résultat. La lecture de la galerie se fait par comparaison des couleurs obtenues aux couleurs définissant le résultat positif ou négatif, Nous obtenons un code dit « Profil Numérique » qu'on introduit dans l'Api Web qui nous donne l'espèce correspondante au code introduit (**Lagha, 2015**) (**Annexe V**).

### **b. Identification des cocci à gram positif**

Afin d'orienter vers les cocci à gram positif, il faut d'abord obtenir une culture positive sur milieu gélose au sang cuit et l'aspect des colonies de cette culture est un indicateur de genre bactérien.

Le test de catalase est réalisé pour distinguer les staphylocoques qui sont catalase positive des streptocoques qui sont catalase négative.

### **Test de catalase**

Pendant leur respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction suivante :

$$2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$$
 (l'oxygène libéré se dégage sous forme gazeuse). (**Marchal, 1992**).

### ✓ Technique :

On dépose sur une lame propre et sèche de l'eau oxygénée à 10 volumes, puis on met des colonies bactériennes prélevées d'un milieu solide.

### ✓ Lecture :

La présence de bulles d'oxygène témoigne de la présence de l'enzyme (catalase positive) (**Denis et al., 2016**) .

### **b.1. Identification de Staphylocoques**

L'aspect macroscopique des colonies et l'obtention des cocci à Gram positif arrangés en grappe de raisin avec un test de catalase positif nous orientent vers le genre *Staphylococcus*.

Le test de la coagulase est réalisé pour différencier entre les *S. aureus* et les staphylocoques à coagulase négative.

#### **Test de la coagulase**

Ce test est basé sur la propriété de *S. aureus* à provoquer la coagulation d'un plasma. Cette coagulation est due à la sécrétion d'une protéine extracellulaire ; la staphylocoagulase ou la coagulase.

La Staphylocoagulase joue un rôle central dans le pouvoir pathogène des Staphylocoques, en leur permettant de lutter contre les anticorps opsonisants et la phagocytose (Leloir et Gautier, 2010).

#### **✓ Technique :**

- Prendre une quantité de sérum humain et le verser dans 3 tubes secs.
- Ajouter quelques colonies de *Staphylococcus aureus* (souche de référence) au premier tube.
- Ajouter quelques colonies de la boîte à examiner au deuxième tube.
- Ne rien ajouter au troisième tube (témoin).
- Incuber dans l'étuve à 37°C.

#### **✓ Lecture :**

Un test positif : formation d'un coagulum lié à la transformation du fibrinogène en fibrine, spécifique à *S. aureus*.

Un test négatif : pas de coagulation, bactérie définie en tant que staphylocoque à coagulase négative (SCN)

#### **Test d'agglutination de *S. aureus***

Le test d'agglutination au latex permet de mettre en évidence les constituants externes spécifiques au *S. aureus*, ce qui les différencie des staphylocoques à coagulase négative.

*S. aureus* possède dans sa paroi des récepteurs au fibrinogène et des protéines A. Leur recherche est donc un critère important d'identification. Cette recherche se réalise par une simple réaction d'agglutination en présence de colonies de *S. aureus* et des particules de latex sensibilisées avec du fibrinogène, des anticorps anti-globules rouges.

✓ **Technique :**

Déposer une goutte dans le cercle de la carte et ajouter à l'aide d'un kit une colonie des staphylocoques, et mélanger.

✓ **Lecture :**

- Si on observe une agglutination : la colonie est *S. aureus*,
- En son absence : on dit que ce sont des staphylocoques à coagulase négatif (SCN).

**Identification biochimique par galerie miniaturisée API 20 Staph**

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation ( $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 18-24 h) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

**b .2. Identification des Streptocoques**

La classification des Streptocoques est basée sur d'hémolyse entourant les colonies sur une gélose au sang cuit.

L'observation sur la gélose au sang cuit des colonies grisâtres plates avec un centre ombiliqué entouré d'une hémolyse alpha, ou parfois les colonies sont grosses et muqueuses ainsi la coloration de Gram nous permet d'observer des diplocoques de Gram positif en flamme de bougie, ce qui nous oriente vers l'identification des *S. pneumoniae*.

**Test d'agglutination de *S. pneumoniae***

Ce test détecte les antigènes capsulaires de *S. pneumoniae*, par l'utilisation des particules de latex sensibilisées par des anticorps spécifiques aux antigènes capsulaires.

La technique consiste à mettre en contacte le réactif avec une colonie mélangée à l'eau physiologique sur une lame d'agglutination de fond noir en homogénéisant avec des mouvements rotatoires dans un délai de 1mn. Un test positif se traduit par une réaction d'agglutination.

✓ **Technique :**

Sur une lame d'agglutination de fond noir, le réactif est mis en contacte avec une colonie mélangée à l'eau physiologique, et est homogénéisé avec des mouvements rotatoires.

### ✓ **Lecture :**

Se fait tout en faisons agiter la lame en mouvement orbital, dans un délai de 1mn.

- Le test est positif : S'il ya agglutination des cellules bactériennes, *S. pneumoniae*.
- Le test est négatif : si aucune agglutination ne se forme

### **Sérotypage des Streptocoques**

Il s'agit d'un test d'agglutination au latex pour l'identification des streptocoques des groupes A, B, C, D, F et G. La majorité des streptocoques pathogènes possèdent des antigènes spécifiques polysaccharidiques permettant leur classification en groupes. Après extraction, ces antigènes peuvent être recherchés avec des particules de latex sensibilisées par des immunoglobulines spécifiques, qui agglutinent en présence de l'antigène correspondant.

### ✓ **Technique :**

Déposer une goutte de chaque réactif au latex sur les cercles de la carte sans oublier le témoin positif, et ajouter une colonie dans chaque cercle en mélangeant avec un agitateur fourni dans le kit. La présence d'agglutination dans l'un des cercles indique le groupe du Streptocoque.

### ✓ **Lecture :**

Se fait tout en faisons agiter la carte en mouvement orbital, dans un délai de 1mn.

-Une réaction positive se traduit par l'agglutination des particules de latex correspondant au groupe sérologique de la bactérie en question.

-Une réaction négative est notée en l'absence d'agglutination

### **Identification biochimique par galerie miniaturisée API 20Strep**

La galerie biochimique miniaturisée API 20Strep est un système standardisé pour l'identification des streptocoques et entérocoques, par l'association de 20 tests biochimiques à grand pouvoir discriminant, dont des tests enzymatiques inoculés par une suspension bactérienne saline riche de 5 MF, et des tests de fermentation inoculés par la suspension bactérienne mélangée au medium fournis avec la galerie.

### **b .3. Identification des Entérocoques**

Les entérocoques donnent de petites colonies grisâtres pales de 1,5 mm de diamètre généralement regroupés en chainettes dégradant l'esculine formant ainsi un halo noir au tour des colonies sur gélose sélective BEA. La pureté des souches à été vérifiée par la coloration de Gram pour sélectionner les cocci à Gram positif.

L'identification a été réalisée par les tests suivants:

### **Test d'hémolyse**

Le test d'hémolyse s'effectue sur gélose au sang sur lequel les colonies d'entérocoques apparaissent translucides de 1 à 2 mm de diamètre; ce test est très important dans l'identification ainsi que la classification des entérocoques; il présente « 3 types » d'hémolyses :

**-Hémolyse  $\alpha$**  : résulte d'une hémolyse partielle des hématies au tour des colonies qui leur reflètent une couleur verdâtre.

**-Hémolyse  $\beta$**  : résulte d'une hémolyse complète des hématies et qui s'interprète par une zone claire autour des colonies.

**- Hémolyse  $\gamma$  (absence d'hémolyse)**: dans ce troisième cas il n'y a pas d'hémolyse où la gélose au sang reste totalement rouge.

### **Identification biochimique par galerie miniaturisée API**

L'identification a été complétée par les tests biochimiques du système « Galerie API 20 Strep ». Il permet de faire un diagnostic du groupe ou d'espèce pour la plupart des entérocoques et pour les germes apparentés les plus courants.

#### **II.2.6. Identification de *M. tuberculosis***

### **Mise en culture sur le milieu Lohenstein-Jensen**

La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de vert de malachite et de sels minéraux qui inhibent la plupart des organismes contaminants. La culture des mycobactéries est favorisée par les substances nutritives apportées, entre autres, par l'œuf et les oligoéléments (**Annexe III**).

La technique consiste à mettre deux gouttes du prélèvement dans deux tubes du milieu Lohenstein-Jensen. L'incubation s'effectue à 37 C° en position incliné, et la lecture se fait après 21 jours, 28 jours puis 35 jours. Une culture positive se traduit par l'apparition des colonies ayant un aspect de chou fleur.

### **Coloration de Zhiel-Nelson**

La coloration de Zhiel-Nelson est réalisée sur frottis fixé à la chaleur puis à l'alcool Sécher.

-Examiné à l'immersion (objectif X100). selon les étapes suivantes (**Denis et al ;2016**):

-Recouvrir la lame avec de la fuchsine : chauffer par intermittence pendant 10 à 15 minutes, jusqu'à émission de vapeurs (pour la technique à froid, la durée de contact entre la

fuchsine et la préparation est de 3 heures).

- Décolorer à l'acide sulfurique dilué au quart pendant 1 minute, laver à l'eau.
- Décoloré à l'alcool à 95° pendant 10 minutes, lavé à l'eau.
- Contre colorer au bleu de méthylène pendant 2 minutes, laver à l'eau.
- Sécher.

Lecture: Les bacilles acido-alcoolo-résistants apparaissent roses sur fond bleu.

## **II.2.7.Détermination du profil d'antibiorésistance**

### **Technique diffusion des disques sur milieu solide**

La technique utilisée est l'antibiogramme. Elle est basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration de l'antibiotique, obtenu après sa diffusion à partir du disque, qui est initialement chargé d'une quantité connue d'ATB.

Les antibiotiques testés étaient choisis pour chaque famille suivant la septième édition de la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale.

- Les milieux utilisés dans notre étude sont les suivants :
  - Milieu Mueller Hinton coulé en boîtes de Pétri pour les bactéries non exigeantes.
  - Mueller Hinton au sang pour les bactéries exigeantes.
  - L'épaisseur de la gélose doit être de  $4 \text{ mm} \pm 0,5 \text{ mm}$  (approximativement 25 ml pour une boîte de 90 mm de diamètre). La surface de la gélose doit être séchée avant emploi.
- L'antibiogramme est réalisé selon les étapes suivantes :
  - ✓ On racle à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques à partir d'une culture jeune.
  - ✓ On décharge les colonies dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
  - ✓ On homogénéise bien la suspension bactérienne (son opacité doit être équivalente à 0,5MF ce qui correspond à  $2.10^8 \text{ UFC /ml}$  ; un densitomètre est utilisé pour vérifier l'inoculum bactérien).
  - ✓ L'ensemencement de l'antibiogramme s'effectue par la méthode d'écouvillonnage. Trois répétitions sont réalisées pour chaque espèce bactérienne testées.
  - ✓ Enfin, on dépose chaque disque d'antibiotique de 6 mm de diamètre à l'aide d'une pince bactériologique stérile en faisant attention à ne pas déplacer les disques après application car la diffusion des antibiotiques est très rapide. La durée d'incubation diffère d'une bactérie à une autre, elle varie de 18 à 24h à 37°.

- La lecture des résultats de l'antibiogramme s'effectue comme suit :
  - Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse métallique à l'extérieur de la boîte fermée.
  - Les résultats sont comparés avec des tableaux de lecture spécifique à chaque groupe des bactéries.
  - Les bactéries sont classées dans trois catégories : sensible (S), résistant (R) et intermédiaire (I) (**Annexe VI**).

### **Tests complémentaires**

Pour certains antibiotiques ou familles d'antibiotiques, l'antibiogramme standard n'est pas suffisant, des tests complémentaires doivent être pratiqués avant une interprétation définitive (**Rahal et al., 2011**).

Le test de synergie permet de détecter une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE) désigne des enzymes produites par les entérobactéries, *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de la 3<sup>ème</sup> génération (C3G) (tels que la céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et des monobactams (aztréonam), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine, moxalactam) ni des Carbapénèmes (imipénème).

La recherche de la BLSE pour les Entérobactéries se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10 $\mu$ g) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G (céfotaxime) de 30 $\mu$ g et Pour les *Pseudomonas* et *Acinetobacter*, il se fait en déposant un disque de ticarcilline+acide clavulanique (TCC 75/10 $\mu$ g) à 30mm d'un disque de C3G : ceftazidime (CAZ 30 $\mu$ g) ou aztreonam (ATM 30  $\mu$ g), Puis incubé 24h à 37°C.



**Chapitre III**  
**Résultats et Discussion**

### III. Résultats et discussion

#### III.1. Etude rétrospective de l'étiologie bactérienne et la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les liquides pleuraux et d'ascites

- La population étudiée

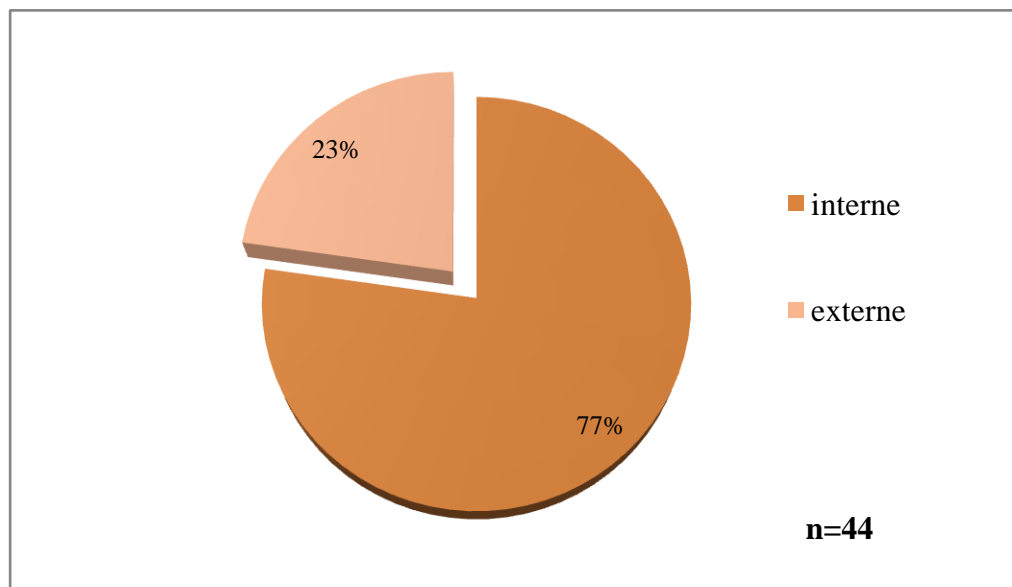
Il s'agit d'une étude rétrospective de l'étiologie bactérienne et la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les liquides pleuraux et d'ascites, la période de l'étude est compris entre Janvier 2018 et décembre 2019 au niveau du laboratoire central du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Blida, Unité Frantz Fanon.

##### III.1.1. liquide pleural

66 bactéries ont été isolées des liquides pleuraux reçus, 42 présentaient des bactéries aérobies ou aéroanaérobies facultatives, 02 anaérobies et 22 *Mycobacterium tuberculosis*.

##### III.1.1.1. Répartition des résultats de liquide pleural selon la provenance des patients

Les résultats présentés dans la figure 15 montrent que les bactéries incriminées proviennent dans la plupart des cas chez les patients hospitalisés (internes) 77% (34 cas), le reste des cas positifs a été identifié chez les patients consultants à titre externe 23% (10 cas). Ce constat peut être expliqué par la contamination des malades au niveau de l'hôpital dans le cadre des infections nosocomiales.



**Figure 15.** Répartition des résultats selon la provenance des patients (externes ou internes).

### III.1.1.2. Répartition des bactéries isolées à partir des liquides pleuraux

66 bactéries ont été isolées des liquides pleuraux reçus, dont 42 présentaient des bactéries aérobies ou aeroanaérobies facultatives, 02 anaérobies et 22 *Mycobacterium tuberculosis*.

Le tableau X montre que le profil bactériologique des liquides pleuraux dans notre étude était largement dominé par les *Mycobacteriaceae* (33.33%) suivi par les *Entérobactériaceae* et les *Streptococcaceae* avec un taux de 15.12% et enfin les *Pseudomonaceae* avec un taux de 13.63%, par contre les autres cocci à Gram positif ou à Gram négatif sont moins impliqués.

En analysant aussi la Figure 16 qui montre les résultats de la répartition globale des différentes espèces isolées à partir des prélèvements des liquides pleuraux, On a observé que le bacille de Koch est l'espèce la plus dominante représentée par 22 souches (33,3%), suivie par *P. aeruginosa* avec 09 souches (13,6%), *S. aureus* et *Streptococcus sp* avec 4 souches (6,06%), *Enterococcus faecalis*, Staphylococcus à coagulase négatif, *Serratia marcescens* et *Klebsiella pneumoniae* avec un effectif de 03 souches pour chaque espèce représentés par un pourcentage de 4,5%.

Concernant les bactéries anaérobies, 02 souches ont été isolées avec un pourcentage de 3,03%, une à partir d'un patient admit en pneumologie et l'autre d'un patient suivi en oncologie.

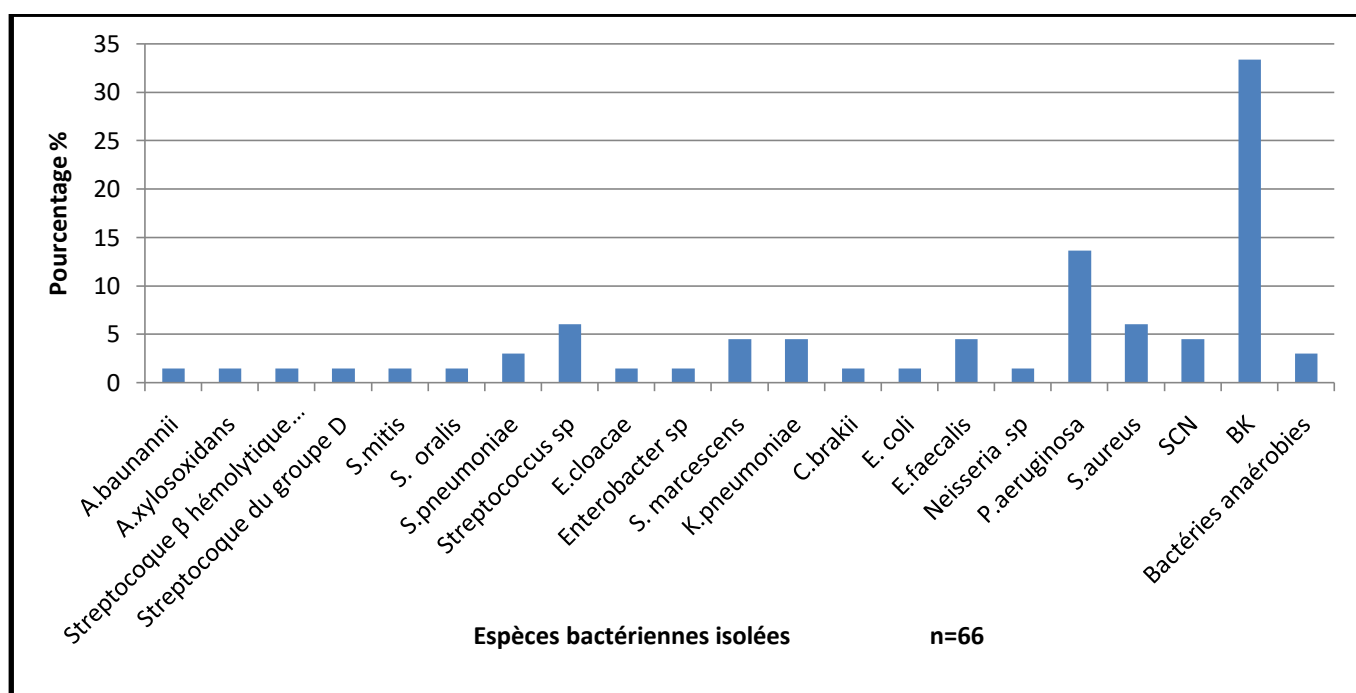
Un pourcentage de 1,5% est administré aux espèces *Acinitobacter baumannii*, *Achromobacter xylosoxidans*, Streptocoque  $\beta$  hémolytique du groupe A, Streptocoque du groupe D, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sp*, *Neisseria sp*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Citrobacter braki*, et *Escherichia coli* avec un effectif de 01 souche pour chaque espèce.

**Tableau X.** Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne des liquides pleuraux testés.

<b>Famille</b>	<b>Espèce bactérienne</b>	<b>Gram</b>	<b>nombre</b>	<b>Pourcentage</b>
<i>Moraxellaceae</i> 1 (1.51%)	<i>A. baumannii</i>	-	1	1.51%
<i>Alcaligenaceae</i> 1 (1.51%)	<i>A. xylosoxidans</i>	-	1	1.51%
<i>Streptococcaceae</i> 10 (15.13%)	<i>Streptocoque</i> β hémolytique du groupe A	+	1	1.51%
	<i>Streptocoque</i> du groupe D	+	1	1.51%
	<i>S. mitis</i>	+	1	1.51%
	<i>S. oralis</i>	+	1	1.51%
	<i>S. pneumoniae</i>	+	2	3.03%
	<i>Streptococcus sp</i>	+	4	6.06%
<i>Enterobacteriaceae</i> 10 (15.12%)	<i>E. cloacae</i>	-	1	1.51%
	<i>Enterobacter sp</i>	-	1	1.51%
	<i>S. marcescens</i>	-	3	4.54%
	<i>K. pneumoniae</i>	-	3	4.54%
	<i>C. brakii</i>	-	1	1.51%
	<i>E. coli</i>	-	1	1.51%
<i>Enterococcaceae</i> 3 (4.54%)	<i>E. faecalis</i>	+	3	4.54%
<i>Neisseriaceae</i> 1 (1.51%)	<i>Neisseria sp</i>	-	1	1.51%
<i>Pseudomonaceae</i> 9 (13.63%)	<i>P. aeruginosa</i>	-	9	13.63%

## Résultats et discussion

<i>Staphylococcaceae</i> 7 (10.6%)	<i>S. aureus</i>	+	4	6.06%
	SCN	+	3	4.54%
<i>Mycobacteriaceae</i> 22 (33.33%)	<i>M. tuberculosis</i>		22	33.33%
	Bactéries anaérobies		2	3.03%
<b>Total</b>			66	100%



**Figure 16.** Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne des liquides pleuraux testés.

### III.1.1.3. Antibiorésistance des principales bactéries isolées à partir des liquides pleuraux

Pour ce qui concerne la résistance bactérienne aux antibiotiques, l'étude rétrospective s'est intéressée à celle des entérobactéries et de *P. aeruginosa*, car il s'agit des étiologies bactériennes les plus fréquentes dans notre étude.

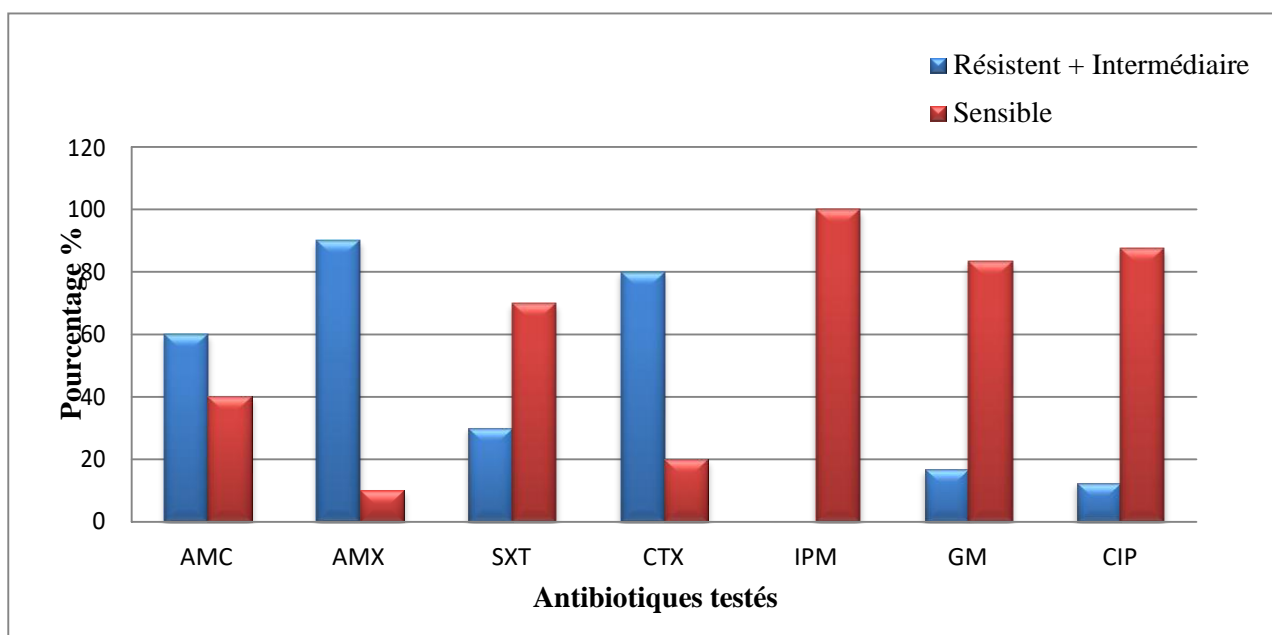
Basant sur la 7<sup>ème</sup> édition de la standardisation des antibiogrammes à l'échelle nationale, le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré et comparé avec les valeurs critiques des diamètres d'inhibition de chaque espèce.

### a. Profil de résistance des entérobactéries

Parmi les 10 entérobactéries isolées, 3 (60%) étaient productrices de BLSE, 09 (90%) étaient résistantes aux amoxicilline, 08 (80%) aux céfotaxime, 03 souches étaient résistantes au Triméthoprimé–sulfaméthoxazole avec un pourcentage de (30%) et une seule souche au ciprofloxacine et au gentamicine (12.5% et 16.66% respectivement), aucune résistance au imipénèmes n'a été enregistrée (Tableau XI et Figure 17).

**Tableau XI.** Les antibiotiques testés et interprétation de leur résultat

Antibiotiques testés	Résultat	Explication
Amoxicilline + acide clavulanique (pour les BLSE)	3/5 Résistantes (60%)	5 souches ont été testées, 3 résistantes ou intermédiaires et 2 sensibles
Amoxicilline	9/10 Résistantes (90%)	10 souches ont été testées, 9 résistantes ou intermédiaires et 1 sensible
Triméthoprimé – sulfaméthoxazole	3/10 Résistantes (30%)	10 souches ont été testées, 3 résistantes ou intermédiaires et 7 sensibles
Céfotaxime	8/10 Résistantes (80%)	10 souches ont été testées, 8 résistantes ou intermédiaires et 2 sensibles
Imipénème	0/10 Résistantes (0%)	10 souches ont été testées, toutes sensibles
Gentamicine	1/6 Résistante (16.66%)	6 souches ont été testées, 1 résistante ou intermédiaire et 5 sensibles
Ciprofloxacine	1/8 Résistantes (12.5%)	8 souches ont été testées, 1 résistante ou intermédiaire et 7 sensibles



**Figure 17.** Profil de résistance des entérobactéries isolées à partir des liquides pleuraux.

### b .profil de résistance de *P. aeruginosa*

A partir de les 9 souches de *P. aeruginosa* isolées, une souche était productrice de BLSE avec pourcentage de 14.28%, ensuite par un ordre décroissant de taux de résistance 57.14% (4) étaient résistantes aux Gentamicine, 55.55% (9) aux tobramycine, 44.44% (4) aux ticarcilline et 33.33% (3) aux imipénème. Aucune résistance n'a été détectée aux aztréonam et aux ciprofloxacine (**Tableau XII, Figure 18**).

**Tableau XII.** Les antibiotiques testés et interprétation de leur résultat

Antibiotiques testés	Résultat	Explication
ticarcilline + acide clavulanique (pour les BLSE)	1/7 Résistante (14.28%)	7 souches ont été testées, 1 résistante ou intermédiaires et 6 sensibles
Aztréonam	0/6 Résistantes (0%)	6 souches ont été testées, toutes sensibles
Tobramycine	5/9 Résistantes (55.55%)	9 souches ont été testées, 5 résistantes ou intermédiaires et 4 sensibles

## Résultats et discussion

Ticarcilline	4/9 Résistantes (44.44%)	9 souches ont été testées, 4 résistantes ou intermédiaires et 5 sensibles
Imipénème	3/9 Résistantes (33.33%)	9 souches ont été testées, 3 résistantes ou intermédiaires et 6 sensibles
Ciprofloxacine	0/6 Résistantes (0%)	6 souches ont été testées, toutes sensibles
Ceftazidime	1/9 Résistante (11.11%)	9 souches ont été testées, 1 résistante ou intermédiaire et 8 sensibles
Gentamicine	4/7 Résistantes (57.14%)	7 souches ont été testées, 4 résistantes ou intermédiaires et 3 sensibles

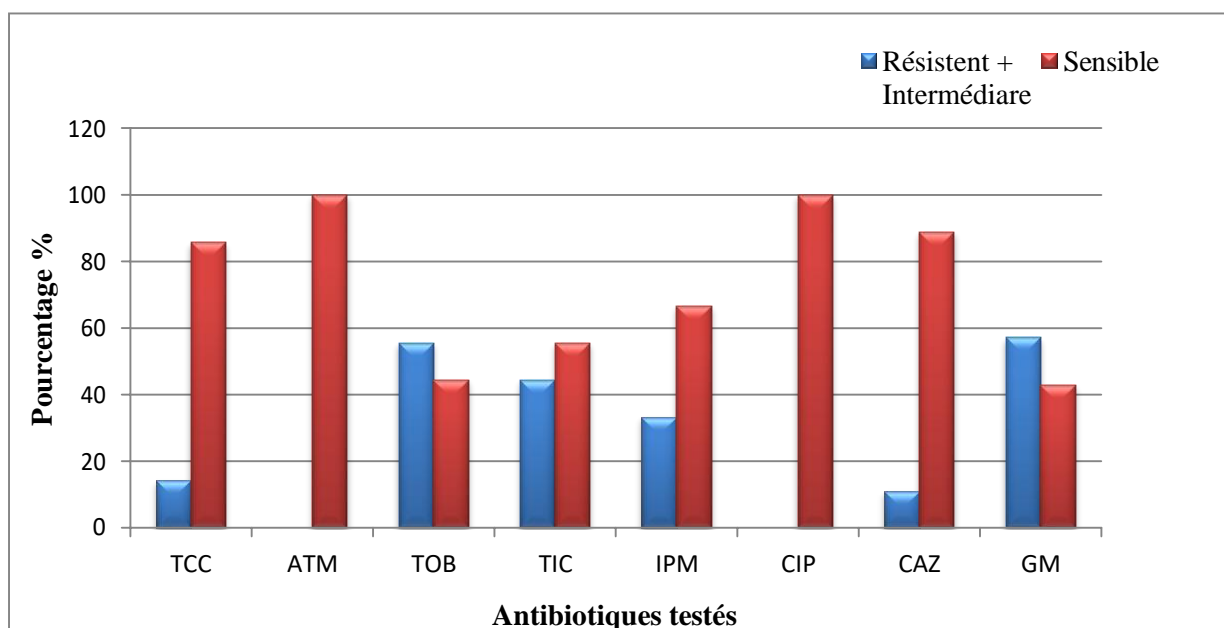


Figure 18. Profil de résistance de *P. aeruginosa* isolée à partir des liquides pleuraux.

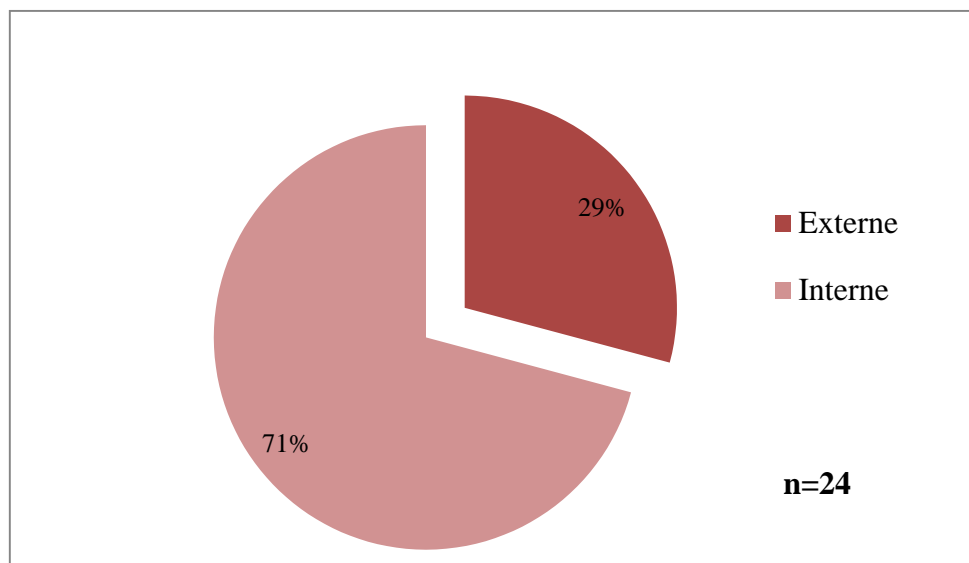


### III.1.2. Liquide d'ascite

Pour les liquides d'ascites, 27 bactéries ont été diagnostiquées en totale, dont 24 étaient des bactéries aérobies ou aeroanaérobies facultatives et 03 *Mycobacterium tuberculosis*.

#### III.1.2.1. Répartition des résultats de liquide d'ascite selon la provenance des patients

Les résultats illustrés dans la figure 19 montrent que les bactéries incriminées proviennent majoritairement chez les patients internes 71% (17 cas), par rapport aux patients consultants à titre externe 29% (07 cas).



**Figure 19.** Répartition des résultats selon la provenance des patients (externes ou internes)

#### III .1.2.2.Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne

En analysant le tableau XIII, nous avons remarqué la prédominance des entérobactéries avec un pourcentage de 48.13% par rapport aux autres familles bactériennes.

La figure 20 représente la répartition des souches bactériennes isolées selon l'espèce.

Nous avons remarqué que *E. coli* été la souche la plus isolée avec un pourcentage de 18.51% (5) suivie par 4 isolats de *Klebsiella pneumoniae* avec un pourcentage de 14.81%, puis *Enterococcus faecium*, *P. aeruginosa* et les BK 11.11%.

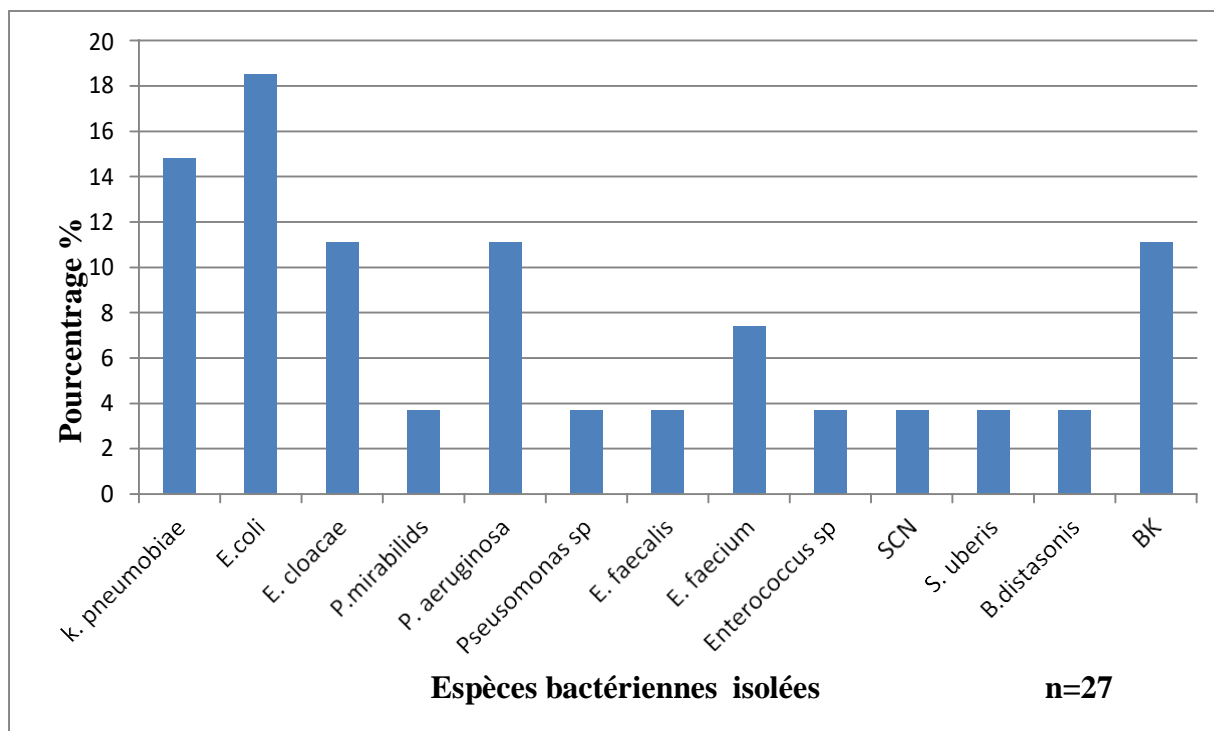
02 isolats de *Enterobacter faecium* ont été également trouvés avec un pourcentage de 8.33% et une seule espèce diagnostiquée comme *Bacteroides distasonis*, ainsi que pour les espèces suivantes: *Pseudomonas sp*, *Enterococcus faecalis*, SCN, *Enterococcus sp*, *Proteus mirabilis* et *Streptococcus uberis* avec un pourcentage de 3.70% pour chacune respectivement.

## Résultats et discussion

Concernant le *Mycobacterium tuberculosis* (BK), il a été retrouvé 3 fois avec un pourcentage de (11.11%),

**Tableau XIII.** Répartition des souches bactériennes isolées selon l'espèce.

Famille	Espèce bactérienne	Gram	Nombre	Pourcentage %
<i>Enterobacteriaceae</i> 48.13%	<i>K. pneumoniae</i>	-	4	14.81%
	<i>E. coli</i>	-	5	18.51 %
	<i>E. cloacae</i>	-	3	11.11%
	<i>P. mirabilis</i>	-	1	3.70%
<i>Pseudomonaceae</i> 14.81%	<i>P.aeruginosa</i>	-	3	11.11%
	<i>Pseudomonas sp</i>	-	1	3.70%
<i>Enterococcaceae</i> 15.73%	<i>E. feacalis</i>	+	1	3.70%
	<i>E. feacium</i>	+	2	7.40 %
	<i>Enterococcus sp</i>	+	1	3.70%
<i>Staphylococcaceae</i> 3.70%	SCN	+	1	3.70%
<i>Streptococcaceae</i> 3.70%	<i>S. uberis</i>	+	1	3.70%
<i>Bacteroidaceae</i> 3.70%	<i>B. distasonis</i>	-	1	3.70%
<i>Mycobacteriaceae</i> 11.11%	<i>M .tuberculosis</i>		3	11.11%
<b>Total</b>			27	100%



**Figure 20.** Répartition des souches bactériennes selon l'espèce isolées à partir des liquides d'ascites

### III.1.2.3. Antibiorésistance des principales bactéries isolées à partir des liquides d'ascites

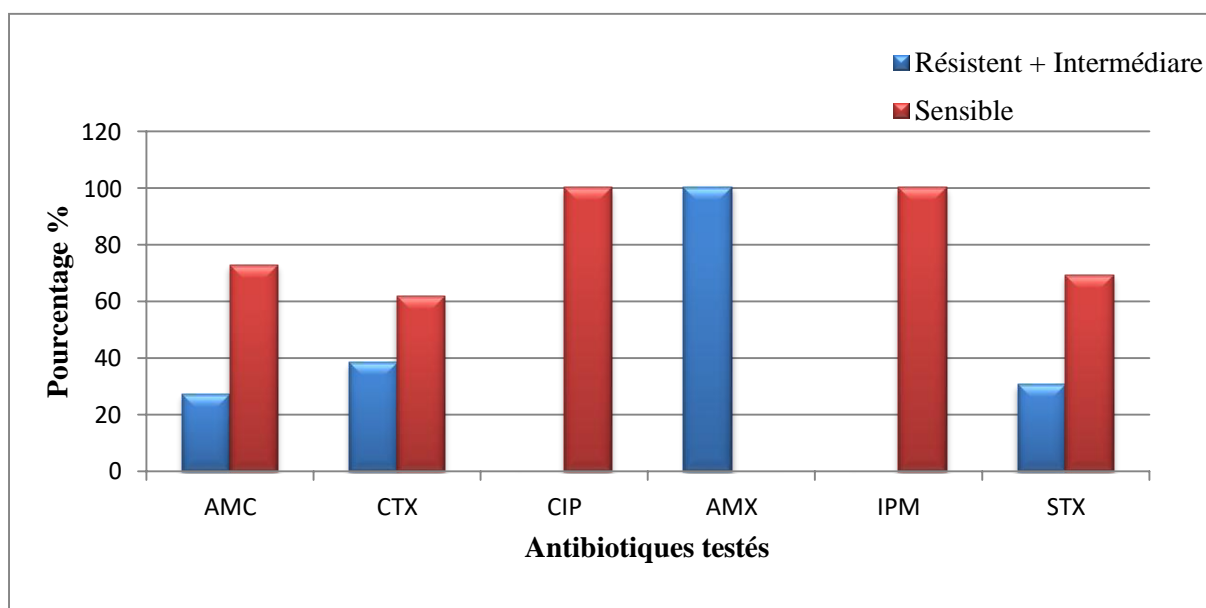
Pour le liquide d'ascite on s'est intéressé également qu'aux entérobactéries car ils étaient les plus incriminées.

La figure 21 et le tableau XIV montrent le taux de résistance des souches d'entérobactéries isolées vis-à-vis aux antibiotiques testés, 3 souches (27,2%) ont été productrices de BLSE.

100 % des souches testées ont révélé une résistance à l'amoxiciline, alors que 38,4% des souches ont été résistantes à la céfotaxime et 30,7% à triméthoprim –sulfaméthoxazole. Aucune résistance n'a été enregistrées vis-à-vis de la ciprofloxacine et à l'imipénème.

**Tableau XIV.** Antibiotiques testés et interprétation de leur résultat

<b>Antibiotiques</b>	<b>Résultat</b>	<b>Explication</b>
Amoxicilline + acide clavulanique (pour les BLSE)	3/11 Résistantes 27,2%	11 souches ont été testées, 3 résistantes ou intermédiaires et 8 sensibles
Céfotaxime	5/13 Résistantes (38,4%)	13 souches ont été testées, 5 résistantes ou intermédiaires et 8 sensibles
Ciprofloxacine	0/12 Résistante 00%	12 souches ont été testées, toutes sensibles.
Amoxicilline	13/13 Résistantes 100%	13 souches ont été testées, toutes résistantes.
Imipénème	0/13 Résistante 00%	13 souches ont été testées, toutes sensibles.
Triméthoprimé – sulfaméthoxazole	4/13 Résistantes 30,7%	13 souches ont été testées, 4 résistantes ou intermédiaires et 8 sensibles.



**Figure 21.** Profil de résistance des entérobactéries isolées à partir des liquides d’ascites.

### **Discussion :**

D'après les résultats rétrospectives étudiées dans notre travail, la majorité des souches bactériennes isolées à partir des patients hospitalisés, 71% pour les liquides pleuraux et 77% pour les liquides d'ascites la majorité de ces souches font partie des entérobactéries car ils sont les plus incriminées dans les infections nosocomiales. D'après Belmonte et ses collaborateurs, des résultats d'une enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales réalisées en 2006 montrent également une haute fréquence d'implication des entérobactéries (**Belmonte et al., 2010**).

Selon nos résultats, la majorité des bactéries isolées préviennent des services hospitaliers, Cela peut être expliqué par l'acquisition des bactéries suite à une hospitalisation prolongée et après exposition à des dispositifs invasifs (cathéters veineux, sondes urinaires ou tubes endotrachéaux, ...). La malnutrition, l'hémodialyse, la nutrition parentérale totale, l'admission en réanimation ou l'hospitalisation préalable peuvent aussi expliquer la facilité d'acquisition de ces bactéries dans les hôpitaux (**Pena et al., 1997 ; Lautenbach et al., 2001**).

#### Au niveau des liquides pleuraux

A partir de différents groupes bactériens isolés, nous avons remarqué la prédominance des BGN notamment les entérobactéries (BGN fermentaire) suivi par les BGN non fermentaire *P.aeruginosa* et *Pseudomonas spp*, en effet, selon **Zogheib et Dupont (2005)**, les entérobactéries représentent la majorité des infections à BGN.

Dans nos résultats les BK étaient l'étiologie la plus incriminée avec un pourcentage de 33.33 %, ce qui concorde avec ceux trouvés par **Hassan (2005)** dont il a montré dans sa série que le taux de pleurésies tuberculeuses égal à 37%. Le taux élevé de la tuberculose pleurale peut s'expliquer par les plèvres qui sont situés près des poumons, cette zone riche en oxygène favorise le développement des bacilles.

Concernant les autres espèces bactériennes isolées du liquide pleural, Nos résultats à propos de *P. aeruginosa* présenté par 13% se rapproche de ceux trouvés par **Batmubkh nyamba et al. (1995-2005)** en Corée qui ont trouvés un taux équivalent à 11%, de même **Amonkou et ses collaborateurs. (1997)** avaient trouvé un pourcentage de 26,50% correspondant à l'espèce *P. aeruginosa*, **Fofona (2007)** a trouvé 9 souches soit un pourcentage de 34,7%.

Les *S. aureus* ont été isolés avec un pourcentage de 6.06 % dans notre série, alors que les résultats trouvés par **Keita (2010)** et **Amonkou et al. (1997)** ont révélés un pourcentage égal à 20% des *S. aureus*.

Concernant *S. pneumoniae*, nous avons trouvé un pourcentage de 3.03%, ce résultat est proche de celui trouvé en Corée par **Batmubkh nyamba et al. (1995-2005)** dont ils ont trouvés 8% de *S. pneumoniae*. **Keita (2010)** à trouvé un pourcentage de 13,3% de *Streptococcus pneumoniae* parmi tous les isolats bactériens positifs.

### Au niveau des liquides d'ascites

Pour le liquide d'ascite, la fréquence des entérobactéries qui représente environ 48.13 % dans notre étude corroborent avec les résultats de **(Laurain et al., 2004)** dont ils ont trouvé 48% des entérobactéries dans leur échantillons, ces résultats concordent avec le fait que les entérobactéries soient parmi les bactéries les plus retrouvées en pathologie humaine par rapport aux autres souches bactériennes **(Weber et al., 2004)**.

*E. coli* et *K. pneumoniae* étaient les espèces les plus isolés avec des pourcentages de 19.51% et 14.81% respectivement, Ces résultats concordent avec ceux trouvés par **Diarra (2009)** dont *E. coli* est l'espèce la plus dominante avec un pourcentage de 26.1% suivi par *K. pneumoniae*(8.7%).

Les pourcentages de *P.aeruginosa* et les BK viennent en troisième position de notre étude rétrospective (11.11%), alors que **Monralegre (2016)** a trouvé 0.2% de *P. aeruginosa* dans leur prélèvements, concernant les BK nos résultats sont proches de ceux trouvés par **Thoreau et al. (2008)** dont la tuberculose péritonéale représente 8,9% dans leur série.

Selon **Nousbaum et al. (2005)** *Pseudomonas sp* représente un taux de 1%, ce qui concorde avec nos résultats 3.70%, par contre **Laurain et al. (2004)** ont trouvé 18.5% de *Pseudomonas sp*.

D'après **Ouedraogo (2008)** *P. mirabilis* et SCN ont été isolés une seule fois avec une fréquence de 6% pour chaque espèce, ce qui est similaire dans notre étude rétrospective 3.70% (isolés une seule fois).

### L'antibiorésistance

Les différents taux de sensibilité des espèces bactériennes isolées à partir des liquides pleuraux testés et d'ascites vis-à-vis des différentes molécules d'antibiotiques testées, dépend de la pression de sélection liée à l'antibiothérapie administrée dans chaque structure hospitalière, et de l'existence même dans l'environnement d'un support génétique permettant la sélection des souches résistantes (**El-Khiyat, 2017**).

Nos résultats montrent que 60% souches d'entérobactéries isolées des liquides pleuraux été productrices de  $\beta$  - lactamases à spectre étendu (BLSE). Cette valeur est proche de celle trouvée par **Ayad (2010)** à Tlemcen (67%), les résultats de l'antibiorésistance des entérobactéries isolées des liquides d'ascites testés (27,2%) se rapprochent de celle obtenue en Tunisie (30.8 %) par **Messai et al. (2007)**.

**Ebongue et al. (2015)** ont montré que 93.3% des entérobactéries isolées des liquides de ponction sont résistantes à l'amoxicilline. Ce résultat corrobore avec nos résultats dont nous avons trouvé un taux de 90 % pour celles isolées des liquides pleuraux et 100% des liquides d'ascites.

Pour le triméthoprime –sulfamétozole (cotrimoxazole) nous avons montré que la résistance des entérobactéries (30% et 30.7% pour le liquide pleural et d'ascite respectivement) sont proches de ceux rapportés par **Touati et al. (2006)** 57%, **Ebongue et al. (2015)** ont trouvé 81.3% de résistance des entérobactéries isolés des liquides de ponction.

D'après **Ebongue et al. (2015)** plus de 68.8% de la résistance des entérobactéries isolés des liquides de ponction aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime) a été observé, ce pourcentage rapproche de nos résultats concernant le liquide pleural (80%), alors que **Benjemaa et al. (2004)** ont trouvé 27.7% ce qui collabore avec les entérobactéries isolés de liquide d'ascite (38.4%).

Nous n'avons noté aucune résistance à l'imipénème, pour l'ensemble des entérobactéries isolées des deux liquides, ce résultat concorde avec ceux trouvés par **Ebongue et al. (2015)** 0% de résistance.

Dans notre étude, le pourcentage de résistance des enterobacteries vis-à-vis de la Gentamycine est de 16.66%, ce taux se rapproche à celui obtenu par **Ebongue et al. (2015)** 62.5%.

Les souches d'entérobactéries isolées sont peu résistantes au ciprofloxacine (entre 00% et 12.5%), ces résultats sont similaires à ceux trouvés par **Benjemaa et al. (2003)** 17 %.

14.28% des souches de *P. aeruginosa* isolées sont productrices de BLSE, ces résultats concordent avec ceux trouvés par **Benslimani (2009)** à l'hôpital de Constantine.

Le taux de résistance de *P. aeruginosa* vis-à-vis de la tobramycine est de 55.55%. En revanche **Benslimani (2005)** a trouvé 2%. Cette différence peut être due au nombre de souches manipulées (09 souches dans notre étude et une seule souche dans son étude).

Nous avons constaté un taux de résistance des souches de *P. aeruginosa* à la ticarcilline estimé de 44.44%. Ces résultats collaborent avec ceux trouvés par **Benjemaa et al. (2003)** en Tunisie avec 40% de taux de résistance.

**Benjemaa et al. (2004)** en Tunisie, ont trouvés des taux de résistance de *P. aeruginosa* à l'imipénème équivalent à 23% Ces taux sont nos résultats (33.33%), alors que % **Benslimani (2009)** a trouvé un taux de 11.79%.

*P. aeruginosa* au ciprofloxacine avec un taux de 100% se qui est similaire avec nos résultats (100% sensible (**Mahrane, 2016**) a trouvé un taux de 4.49% de résistances. Concernant la résistance des souches de *P. aeruginosa* testées dans notre étude au ceftazidime, nos résultats décrivent un taux de 11.11%, ce qui rapproche de taux du réseau national de la surveillance des bactéries résistantes aux antibiotiques en 2016 avec 7.44% (**Mahrane et al., 2016**).

Selon **Ekrami et Kalantar. (2007)**, *P. aeruginosa* s'est avéré résistante à 100% à la gentamicine ce qui dis-concorde avec nos résultats dont on a trouvé une résistance de 57,14 %. Cette résistance peut être due à la capacité de *Pseudomonas* à s'adapter à l'environnement hospitalier ou à un traitement inadéquat.

Les différences observées entre les études sont dues à la variation des périodes d'étude (durée des études) et de la population étudiée.



## Conclusion :

L'infection de liquide pleural et d'ascite sont des situations pathologiques qui imposent un examen cytologique permet la numérotation des globules blancs et des globules rouges, aussi de déterminer la prédominance lymphocytaire ou des PNN, un examen bactériologique permet de déterminer les bactéries mise en cause, ces données orientent le clinicien dans le choix d'une antibiothérapie de premier choix pour l'infection.

Les résultats obtenus durant notre étude rétrospective montre la présence de 66 bactéries au niveau des liquides pleuraux analysés et 27 bactéries pour les liquides d'ascites isolés principalement de service interne.

Le profil bactériologique de liquide pleural été dominé par *M.tuberculosis*. qui représentent 33.33% de total des isolas suivi par *P. aeruginosa* (13,6%), *S.aureus* et *Streptococcus sp* (6,06%) *E. faecalis*, SCN, *S. marcescens* et *K. pneumoniae* (4 ,5%), d'autres espèces ont été moins isolées avec des fréquences allant de 3.03% à 1.51%, d'après ces résultats nous constatons que la famille des *Mycobactériaceae* qui demeure le plus suivi des *Entérobactériaceae* et les *Streptococaceae* (15.13%) et les *Pseudomonaceae* (13.63%).

Pour le liquide d'ascite *E. coli* occupe la première place avec 18.51% suivie par *K. pneumoniae* (14.81%), *E cloacae*, *P.aeruginosa* et les bacilles de koch (11.11%) et *E. faecium* (8.33%), d'autres espèces été faiblement isolés ayant un pourcentage de ( 3.70%) se qui montre que la famille des *Entérobacteriaceae* été majoritairement prédominées (48.13%) suivi par les *Enterococcaceae* (15.73%) et les *Pseudomonaceae* (14.81%).

Les résultats de l'antibiogramme des entérobactéries isolées des liquides pleuraux et d'ascites ont présenté un taux de résistance élevé pour l'amoxicilline (90 % et 100% respectivement) et pour la céfotaxime (80%) pour ceux qui sont isolées des liquides pleuraux, par contre ceux qui sont isolées des liquides d'ascites présentent une faible résistance (38.4%), de faibles taux de résistance ont été enregistré pour le ciprofloxacine (12.5% et 0% respectivement) et pour le triméthoprime–sulfaméthoxazole (30% et 30.7% respectivement), toutes les souches sont sensibles à l'imipénème, 60% des entérobactéries isolés des liquides pleuraux ont été productrice de BLSE et 14.28% pour ceux qui ont été isolés des liquides d'ascites.

Pour *P. aeruginosa* une résistance modérée a été signalé vis-à-vis à la gentamycine et à

la tobramycine et la ticarcilline (57.14%, 55.55% et 44.44% respectivement), une faible résistance au ceftazidime (11.11%) et une sensibilité totale à l'aztréonam et au ciprofloxacine, 14.28% de souche de *P. aeruginosa* sont productrice de BLSE.

Ces résultats montrent que l'infection de liquide pleural et d'ascite doit être prise en charge car elle traduit le plus souvent une affection potentiellement grave.

# **Références bibliographiques**

## A

- **Achgueur, A. (2013).** Etude de la colonisation des nouveaux nés par la flore à Gram positifs dans le service de néonatalogie de l'EHS de Tlemcen, 46p.
- **Adnaoui, M., Benfenatki, N., Hamzaoui, A., (2009).** Epidémiologie de la tuberculose dans les pays du Maghreb. *La revue de médecine interne*, Vol 30, p. 265-267
- **Aguilar-Galvez, A., Dubois-Dauphin, R., Destain, J., Campos, D., Thonart, P. (2011).** Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique, p.68-76
- **Allo, J-C. (2011).** Ponction pleurale au SAU. Urgences-online Campus numérique de médecine d'urgence. <https://urgences-serveur.fr/ponction-pleurale-au-sau,1688.html#BIBLIOGRAPHIE> consulté le : 27 :08 :2020.
- **Ameur, K. et Bouchekhchoukh, A. (2018).** Prévalence des *Streptococcus* sp et *Staphylococcus aureus* dans les infections des amygdales chez les enfants, 29p.
- **Amonkou, A., Faye, H., Kette-Asse, K., Koname, J., Aye, D., Coffi, S. (1997).** Intérêt du prélèvement bronchique protégé systématique en réanimation lourde. Service d'anesthésie réanimation. *Méd. d'Afrique noire*, p.1-6.
- **Andrade, DR-jr-de., Galvão, F-H-F., Santos, SA-dos., Andrade, DR-de. (2009).** Ascite état de l'art basé sur des preuves. *Revista Da Associação Médica Brasileira*, Vol 55(4), p.489-496.
- **Aryal, S. (2018).** Biochemical Test of Enterobacter cloacae. Online Microbiology and Biology Notes. <https://microbenotes.com/biochemical-test-of-enterobacter-cloacae/>.
- **Aouati, H. (2009).** Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques, thèse de Magister en Microbiologie appliquée et Biotechnologies microbiennes. Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Mentouri, 123p.
- **Ayad, A. (2010).** Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Tlemcen. Thèse de magister.

## B

- **Bank, S., Nielsen, H-M., Mathiasenn B-H., Leth, D-C., Kristensen, H-L., Prag, J. (2010).** *Fusobacterium necrophorum* – detection and identification on a selective agar, (118), p. 994-999.
- **Batmunkh, N., Kilgore, P., Dong, E-Y., Anh, D-D., Chiu, C-H. Xuzhuang, S. (2008).**

Survey of childhood empyema in Asia: Implications for detecting the unmeasured burden of culture-negative bacterial disease. *BMC Infect Dis*, p .1-9.

- **Belmonte, O ., Drouet, D., Alba, J. Moiton ,M.-P., Kuli B., Lugagne-Delpon ,N., Mourlan ,C., Jaffar-Bandjee, M-C. (2010).** Evolution de la résistance des -  
βentérobactéries aux antibiotiques sur l’île de la Réunion : émergence des lactamases à spectre élargi. *Pathologie Biologie*, 58 p, 18–24.
- **Benslimani, A. (2005).** Identification et sensibilité aux antibiotiques de *P. aeruginosa*.  
*Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques .7<sup>ème</sup>* Rapport d’évaluation.
- **Benslimani, A. (2009).** Etat de la résistance aux antibiotiques d’autres espèces bactériennes et surveillance des bactéries multirésistantes (BMR) : MRSA, entérobactéries BLSE, *Acinetobacter spp.* Et *P.aeruginosa* résistants à l’imipénème, à la ceftazidime et à la ciprofloxacine. *Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques .11ème* Rapport d’évaluation ,197p.73.
- **Ben Aneur, S., Smaoui, S., Kamoun, F., Chabchoub, I., Kamoun, T., Messaadi, F., Hachicha, M. (2016).** Pleurésie à bascule : est-ce une tuberculose ? *Archives de Pédiatrie*, 23(4), *Elsevier Inc*, p.385-388.
- **Ben jema, Z., Mahjoubi, F., Ben Haj H’mida, Y., Hammami, N., Ben Ayed, M., Hammami, A. (2004).** Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux antibiotiques des bactéries en cause dans la région de Sfax (1993–1998). *Pathologie Biologie*, Vol 52(2), p. 82–88.
- **Berrahal, M.et Tiouit, D. (2015).**Diagnostic bactériologique.3<sup>ème</sup> année médecine, p .9-35.
- **Biomérieux.(2010).** Système d’identification des Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux.
- **Bouchet, J., et Cuiller, S. (2001).** Anatomie topographique et descriptive. 2<sup>ème</sup> édition, Tome 2, p. 1089-1098.
- **Buffet, C. (2012).** Conduite à tenir devant une ascite. EMC – Hépatologie, Elsevier Masson, Vol 7(3), p.1–8.

## C

- **Carrier, P., Jacques, J., Debette-Gratien, M., Legros, R., Sarabi, M., Vidal, E., Loustaud-Ratti, V. (2014).** L’ascite non liée à la cirrhose : physiopathologie, diagnostic et étiologies. *La Revue de Médecine Interne*, Vol 35(6), p. 365–371.
- **Cattoir, V. (2017).** Enterococcus spp. : entre pathogènes opportunistes et probiotiques, thèse de

doctorat en biologie, 299p.

- **Chevalier, E. (2016).** Place de la signalisation Hippo dans l'histoire naturelle du Mésothéliome Pleural Malin (MPM) : dissection de ses rôles dans les lignées mésothéliales pleurales humaines et application à la caractérisation moléculaire des 448 patients atteints de MPM inclus dans l'essai clinique de phase 3 "MAPS", thèse de doctorat en biologie, 377p.
- **Chouguiat, M. et Zaarour, H. (2016).** L'effet du repiquage de *Klebsiella pneumoniae* sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilités aux antibiotiques, Mémoire de Master en microbiologie, Université des Frères Mentouri Constantine, 47p .

## D

- **Djerboua, T. (2018).** La pratique au laboratoire de microbiologie.  
<https://fr.slideshare.net/https://fr.slideshare.net/TaoufikDjerboua/la-partique-au-laboratoire-de-microbiologie>.consulté le 27/08/2020
- **Dembélé, Y. (2009).** Les étiologies de l'ascite dans le service de médecine interne au CHU ponit G à propos de 67 cas, thèse de doctorat en médecine. Mali, 95p
- **Demiai, A. (2013).** Diagnostic bactériologique des otites. Mémoire de master, p.40-100
- **Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C., Cattoir, V. (2016).** Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. Elsevier Masson, Edition 3, 543p.
- **Diallo, K-K. (2007).** Fréquence d'isolement des *Klebsiella* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel toure de 2002 à 2007, thèse de doctorat en Pharmacie, 96p.
- **Diouldé, M-S. (2017).** Apport de la ponction-biopsie pleurale dans le diagnostic étiologique des pleurésies en milieu hospitalier spécialisé à Bamako, thèse de doctorat en médecine, Mali , 95p.1-4.
- **Droneau, S. (2017).** Intérêt de la prise en charge systématique des épanchements pleuraux par l'échographier: Evaluation à un mois, Thèse de doctorat en médecine, 80p.

## E

- **Ebongue, C. O., Tsiyok, M. D., Nda, J. P., Ngaba, G. P., Beyiha, G., & Adiogo, D. (2015).** Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *Pan African Medical Journal*, Vol 20.
- **Egido, M., Ruiz, S., Revuelta, S-I., García, G., Muñoz-Bellido, L-J. (2016).** Enterococcus faecium small colony variant endocarditis in an immunocompetent patient, *New Microbes and New Infections*, Vol 9, p.47-49.
- **El-Khiyat, M. (2017).** Bactériémies Néonatales : Profil Bactériologique et Antibio-

Résistance. Thèse de diplôme médicale en Biologie médicale, Université Sidi mohammed Ben Abdellah, Faculté de médecine et de pharmacie de Fes. Maroc, 57p.

- **Ekrami, A-R., et Lalantar, E. (2007).** Analisis of the bacteriel infections in brun patients at Talaghani hospital in ahvaz, *Khuzestan province.Iranian jornal of clinical infections diseases*, Vol 2(1), p .9 – 12.
- **Elliott, T., Casey, A., Lambert, P., Sandoe, J. (2011).**Medical Microbiology and Infections: Lectures Notes.,*wiley-Blackwell*, 5èmè édition ,231p.

## F

- **Fantin, B., et Touati, E. (1988).** Pleurésies purulentes EMC « Paris France » Poumon, 6041p.1-5
- **Flandrois, J-P. (1997).** Mycobacterium tuberculosis : Bactériologie médicale collection AZAY, presse universitaire de Lyon, p. 152-157.
- **Fofana, D. (2007).** Aspects cyto bactériologiques et étude de la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés dans les liquides pleuraux prélevés dans le service de pneumo-phtisiologie du CHU du Pt G, Thèse de pharmaacie ,104p.18-73.
- **Fraperie, P., et Maye-Lasserre, M. (2013).** Bactériologie médicale : Les prélèvement ORL, les sécrétions bronchopulmonaires, les mycobactéries (Français) Broché.

## G

- **Garnier F. et Denis F. (2007).**Bactériologie médical : Techniques usuelles : Cocci à Grampositif., Masson édition, Chapitre 29, p.251, 254.
- **Grangé, J.-D. (2005).** Conduite à tenir devant une ascite. *EMC - Hépatogastroenterologie*, Vol 2(4), p.297–306.
- **Grosjean, J., Clavé, M., Archambaud, M., Pasquier, C., (2017).** Bactériologie et virologie pratique.Bibliothèque national(Paris).*Bactériologie et virologie pratique*. Edition 3, 23p

## H

- **Hamani, G. et Kheniche, S. (2018).** Recherche de souches d'entérocoques, 100p.
- **Hassan, M-O. (2005).** Aspects épidémiologiques étiologiques et évolutifs des pleurésies dans le service de pneumologie de l'hôpital du PG de 1988 à 2002. Thèse de médecine, Bamako, 86 p.
- **Hmdad, F. (2007).** Manuel de laboratoire.Institut Pasteur d'Alger.

- **Heart, T. et Shears, P. (2003).** Atlas de poche de microbiologie. *Médecine. Sciences. Flammarion*, Vol 94, p.104-117

## K

- **Keita, F-L. (2010).** Aspects cliniques et évolutifs des pleurésies d'origine bactérienne non tuberculeuse au service de pneumophtisiologie du Centre Hospitalo-Universitaire du Point G. thèse de doctorat en médecine, Mali, 99p.
- **Kernbaum, S. (2008).** Dictionnaire en médecine flammarion. 8ème édition Flammarion médecine-sciences, 1133p
- **Koc, S., Beydilli, G., Tulunay, G., Ocalan, R., Boran, N., Ozgul, N., Kose, M-F., Erdogan, Z. (2006).** Peritoneal tuberculosis mimicking advanced ovarian cancer: A retrospective review of 22 cases. *Gynecologic Oncology*, Vol 103(2), p.565–569.
- **Kohanski, M.-A., Dwyer, D.-J., Collins, J.-J. (2010).** how antibiotics kill bacteria: From targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, Vol 8(6), p.423-435.

## L

- **Lagha, N. (2007).** Contribution à l'étude de la résistance aux antibiotiques et à l'huile essentielle de bactéries d'origine hospitalière, Thèse de magister, Université de Tlemcen, 124p.
- **Lanotte, P., Mereguetti, L., Roland, Q. (2010).** Démarche de l'examen bactériologique 7-32. *La Revue de Médecine Interne*, Vol 35 (6), p .365-371.
- **Larousse médical. (2006).** 3ème édition, Paris : Larousse, 1219 p.
- **Lautenbach, E., Patel, J-B., Bilker, W-B., Edelstein, P-H., Fishman, N-O. (2001).** Extended-Spectrum -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: Risk Factors for Infection and Impact of Resistance on Outcomes. *Clinical Infectious Diseases*, Vol 32(8), p.1162–1171.
- **Laurain, C., Durand, P. Y., Albert, M., Weber, M., Kessler, M., Chanliou, J., & Dailloux, M. (2004).** Péritonites infectieuses chez les patients traités par dialyse péritonéale : bilan microbiologique sur quatre ans. *Pathologie Biologie*, Vo 152(10), p.575–578.
- **Le loir, Y. et Gautier, M. (2010).** *Staphylococcus aureus*. Tec & Doc, EMinter, Lavoisier, France.
- **Le petit Larousse de la médecine. (2010),** p757.



- **Louis, R. (2009).** Contribution à l'étude de la pathologie pleurale maligne, thèse de doctorat en science clinique ,248p. 31-32.

## M

- **Mahrane, S. et Tali Maamar, H. (2016).** Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Profils de sensibilité et de résistance des bactéries isolées d'hémocultures. 17<sup>ème</sup> Rapport d'évaluation, 137p.43
- **Magro, M., Ferrandiere, M., Hazouard, E., Lemarir, E., Rabbat, A. (2004).** Diagnostique des pleurésies (hors cancers). *Mal Respir*, Vol 21, p. 1191-6.
- **Malle, O. (2008).** Tuberculose abdominale dans les services de médecine interne des CHU de Gabriel toure du point G, thèse de doctorat en médecine, Mali, 72p.
- **Marchal, A-N. (1992).** Initiation à la Microbiologie. Ed Dunod ,p. 95.
- **Messai, L., Achour, W., Ben Hassen, A. (2007).** Profil épidémiologique des entérobactéries isolées chez des patients neutropéniques. *Pathologie Biologie*; Vol 55, p.230-234.
- **Montalegre, R. (2016).** Evaluation du risqué d'émergence de resistances, thèse de doctorat en médecine, 94p.
- **Moore, K-P., et Aithal, G-P. (2006).** Guidelines on the management of ascites in cirrhosis, Vol 55 (6), p.1
- **Ndiaye, A- R. et Klotz, F. (2012).** Tuberculose abdominale. *EMC - Gastro-Entérologie*, Vol7(1), p.1-9.
- **Nkembe, N.-M., Kamga, H.-G., Baiye, W.-A., Chafa, A.-B., Njotang, P.-N. (2018).** Streptococcus agalactiae prevalence and antimicrobial susceptibility pattern in vaginal and anorectal swabs of pregnant women at a tertiary hospital in Cameroon. *BMC Research Notes*, Vol 11(1).
- **Nousbaum, J-B. (2015).** Infection spontanée du liquide d'ascite au cours de la cirrhose. *Presse Med.* p ,8-2

## O

- **Ouedraogo, D- I-D , (2008).** Résultat de l'examen cyto bactériologique des liquides péritonéaux au Centre Hospitalier Universitaire du Point G, Thèse de pharmacie, Mali, 115p.

## P

- **Pellaton, C., Monti, M., Fitting, J-M. (2008).** ponction pleural, *Rev Med Suisse*, Vol 4, p.2319-2323.
- **Peltola, H-F., Karanko, V-F., Makela, P-H. (1977).** The protect level of serum antibodies to the capsular polysaccharide of Haemophilus influenzae type b, Vol 60(5), 730 p. 7-141.
- **Pena, C., Pujol, M., Ricart, A., Ardanuy, C., Ayats, .J, Linares, J., Garrigosa, F., Ariza, J., and Gudiol, F. (1997).** Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL-KP) in the intensive care unit. *Journal of Hospital Infection*, Vol 35, p. 9–16.
- **Pinson, G. (2015).** Les infections à streptocoque. <https://slideplayer.fr/slide/3491344/>. Consulté le 08 :09 :2020.

## Q

- **Quispe,R-E-G.(2020).** <https://drchristianlarosa.com/estudio-de-liquido-ascitico/?fbclid=IwAR2thPyD6bz3r7lgh1OnKd0zazG3-n5yT6I9SQhKn7QSvVauXBUZwYcbk2A>

## R

- **Rahal. K., Benslimani. A., Talimaamar. H., Missom. M.- F.-K., Kechihbounar. S., Ammari. H., Belouni. R., Amhis. W., Benamrouche. N., Ouar Korichi. M.-N., Laliham Zenati. R., Merad. A.-S., Naim. M., Smail. F., Aboun. A., Bait. S., Belguendouz. N., Benbernou. S., Benelkadi. S, Andrianasolo, RL., Rakotomizao, R.-J. (2011).**Etiologies des pleurésies exsudatives : à propos de 424 cas à Madagascar, Vol 9, p.35.
- **Ramdani-Bouguessa, N. et Rahal, k. (2005).** Diagnostic Bactériologique des Infections Broncho-Pulmonaire, 73 p .33-36
- **Reinaud, F. (2018).**Syndrome cave supérieur : du à un obstacle au retour veineux.
- **Richard, L., Wayne, V.-l., Adam, W., Mitchell, M. (2006).** Gray's anatomie pour les étudiants, Elsevier Masson
- **Romano, C-R., Moral, G.-C., Alvarez, C.-V, Morós, C.-V., Lapeña, P.-G., Arrevola, N.-R., (2012).** Endocardite, Vol 30 (3).

## S

- **Sauvageot, V. et Piton, F. (2005).** De la physiologie pleurale à la rééducation dans les épanchements pleuraux liquidiens –kinésithérapies scientifique, 454p.51-52.
- **Savado, M. et Boubkeir, Y. (2016).** Isolement et Etude de quelques Entérobactéries pathogènes dans les eaux usées d'Oued Boumerzoug à Constantine, 50p.

- **Silvain, C. et Chagneau-Derrode, C. (2005).** Infections bactériennes et cirrhose alcoolique. EMC - Hépatogastro-entérologie, Vol 2(4), p.307–318.
- **Singleton, P. (2005).** Bactériologie pour la médecine, *la biologie et les biotechnologies*, Dunod, ISBN, p. 2-10
- **Suzanne, C., Smeltzer, G., Brenda, G. (2011).** Fonctions respiratoires, cardiovasculaire et hématologique. Partie 5 : fonction respiratoire. *Soins infirmiers en médecine et chirurgie*. 5<sup>ème</sup> édition, Vol 2 ,1500 p.758.

## T

- **Thys, F., Pretalli, J.-B., Leiva, U., Granier, M., Doumenic, B., Ray, P. (2016).** Les enjeux de la plèvre Partie 2 Épanchements pleuraux liquidiens. *Urgences Respiratoires*. Lavoisier Paris, p.85 – 100.
- **Thoreau, N., Fain, O., Babinet, P., Lortholary, O., Robineau, M., Valeyre, D.-P. Boudon, P., Desrues, J., Glowinski, J., Mechali, D., Poirier, C., Joudiou, P., Rautureau, J., Stirnemann, J., Kettaneh, A., Cruaud, P., Thomas , M. (2002).** Tuberculose péritonéale : 27 cas dans la banlieue nord-est de Paris, Vol 6(3),p.253–258 .
- **Timoyas, Y. 2017.** Etude moléculaire de la résistance à la rifampicine des bacilles du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, thèse de doctorat en médecine, Maroc ,199p.

## V

- **Vautrin, P.-O. (2009).** Pleurésies d'origine sous diaphragmatique : A propos d'un cas, Thèse de doctorat en médecine1 ,129 p .4-38.

## W

- **Weber, P., Dib, C., Durand, C., Moniot-Ville, N. (2004).** Evaluation de la sensibilité à la lévofloxacine des souches isolées d'infection basses communautaires. *Pathologie Biologie*, Vol 53,p.125-128
- **Willey, J.-M., Sherwood, L., Prescott, L.-M., Woolverton, C.-J. (2008).** Prescott, Harley, and Klein's Microbiology. McGraw-Hill Higher Education, Edition 7, 1088p.
- **Williams, E. (2016).** Case 1 *Proteus mirabilis* Image A Gram stain slide A 70-year-old man presents with lower back and groin pain with dysuria for a week. He also complains, 7p.

## Z

- **Zogheib, E. et Dupont, H. (2005).** Entérobactéries multirésistantes, édition Elsevier.

# **Annexe**

## Annexe I. Matériel non biologique

**Tableau XV.** Matériel non biologique.

Appareillages	Outils de laboratoire	Milieux de culture	Autres produits
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ordinateur de laboratoire munis d'API WEB.</li> <li>• Etuve pour sécher les géloses.</li> <li>• Autoclave.</li> <li>• Microscope optique.</li> <li>• Four Pasteur.</li> <li>• Réfrigérateur du laboratoire.</li> <li>• Etuve d'incubation 37°C.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Jarre à bougie.</li> <li>• Micropipette.</li> <li>• Pied à coulisse.</li> <li>• Cellule de Nageotte.</li> <li>• Pipette Pasteur.</li> <li>• Tubes à essais stérile.</li> <li>• Portoir</li> <li>• Lame et lamelle.</li> <li>• Tubes secs.</li> <li>• Pince métallique.</li> <li>• Ecouvillons.</li> <li>• Coton/ gase.</li> <li>• Seringues Stériles.</li> <li>• Poire.</li> <li>• Bec Benzen.</li> <li>• Bocal et eau de javel.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gélose au sang cuit.</li> <li>• Gélose Haektoen.</li> <li>• Bouillon cœur cervelle BHIB.</li> <li>• Bouillon bouillon glucosé tamponné BGT.</li> <li>• Gélose Muller-Hinton (MH).</li> <li>• Milieu Lowenstein-Jensen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alcool à 70%.</li> <li>• Huile de vaseline.</li> <li>• Huile à immersion.</li> <li>• Eau oxygénée.</li> <li>• Eau physiologique.</li> <li>• Solution aqueuse à 1 % de chlorhydrate de dimethylparaphenyl ene diamine, disque vierge.</li> </ul> <p>Plasma humain. Disques d'antibiotiques (6 mm de diamètre) contenant l'ATB à des concentrations déterminées.</p> <p style="text-align: center;"><b>Réactifs</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Réactif de Voges Proskauer (VPI, VPII).</li> <li>• Réactif de Kovacs.</li> <li>• Réactif de James.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Colorants</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Violet de Gentian.</li> <li>• Lugol.</li> <li>• Fuchine.</li> <li>• Bleu de méthylène</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Les kits</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kit d'agglutination de <i>S. aureus</i>.</li> <li>• Kit d'agglutination de <i>Streptococcus pneumoniae</i>.</li> <li>• Kit de Sérotypage de <i>Streptococcus</i>.</li> </ul>



La cellule de Nageotte (**photo originales**)



La hotte (**photo originales**)



Ecouvillon (**photo originale**)



Réactif de test d'agglutination  
de *S. aureus* (**photo originale**)



Les disques d'antibiotiques (**photo originale**)

## Annexe II. Fiche de renseignement

MINISTERE DE LA SANTE, DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE  
CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BLIDA  
UNITE DE FRANTZ-FANON  
LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE  
UNITE DE MICROBIOLOGIE

---

### EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE ET BIOCHIMIQUE DES LIQUIDES DE PONCTION

---

Nom : Service :  
Prénom : Date de réception :  
Age : N°d'ordre :  
Prélèvement :

---

#### **ASPECT MACROSCOPIQUE :**

#### **EXAMEN MICROSCOPIQUE :**

Leucocytes : /mm<sup>3</sup>

#### **MGG / BLEU :**

PNN [ ]  
Lymphocytes [ ]

Hématies :

Bactéries :

Levures :

Autres :

#### **BIOCHIMIE :**

Taux de protides :g/l

**CULTURE :** Positive [ ] Négative [ ]

Identification :

#### **CULTURE DU BK :**

1<sup>ère</sup> Lecture :

2<sup>ème</sup> Lecture :

#### **INTERPRETATION ET COMMENTAIRES :**

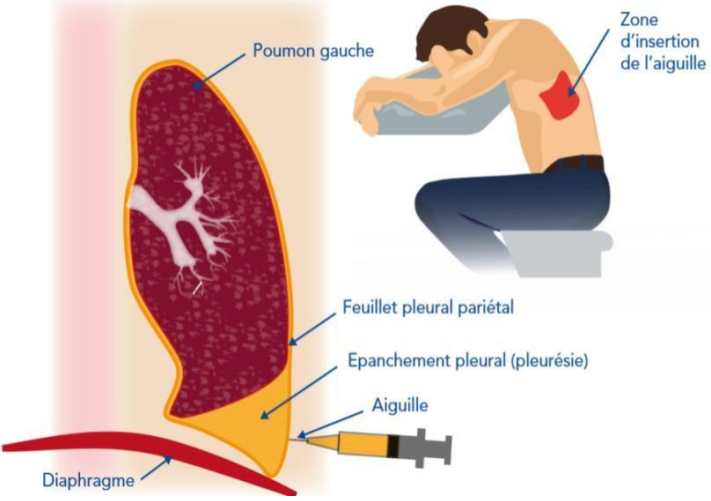
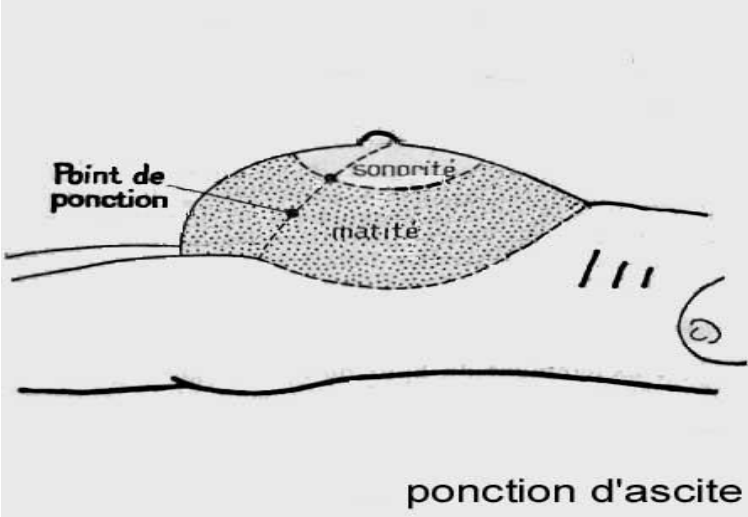
Le microbiologiste.....

BLIDA, le :.....

Figure 22. Fiche de renseignement.

### Annexe III. Méthodes de prélèvements

Tableau XVI. Méthodes de prélèvement de liquide pleural et d'ascite.

<p><b>Ponction pleurale :</b></p> <p>La ponction pleurale ou thoracentèse : c'est l'insertion d'une aiguille dans l'espace pleural afin de soustraire et d'analyser du liquide pleural (Pellaton, et al., 2008).</p>	
<p><b>Ponction d'ascite :</b></p> <p>Elle doit être effectuée chez tous les malades présentant un premier épisode d'ascite, La ponction est généralement réalisée, en pleine matité, dans la partie externe du quadrant inférieur et gauche de l'abdomen (Grangé, 2005).</p>	



## Annexe IV. Constitution des milieux de cultures et d'enrichissement utilisés

**Tableau XVII.** Constitution des milieux de cultures et d'enrichissement utilisés

<p style="text-align: center;"><b>Gélose Hektoène</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Peptone pepsique de viande ..... 15g</li> <li>• Extrait de viande .....3g</li> <li>• Extrait de levure ..... 3g</li> <li>• Lactose... .....12g</li> <li>• Salicine..... 2g</li> <li>• Saccharose..... 12g</li> <li>• Chlorure de sodium... ..... 5g</li> <li>• Sels biliaire..... 4g</li> <li>• Bleu de Bromothymol ..... 0.064g</li> <li>• Fuchsine acide..... 0.1g</li> </ul>	<p style="text-align: center;"><b>Gélose au sang cuit</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Peptone de viande..... 10g</li> <li>• Peptone de caséine..... 5g</li> <li>• Extrait de levure .....3g</li> <li>• Chlorure de sodium. ....5g</li> <li>• Agar... ..... 18g</li> <li>• pH = 6,9</li> </ul>
<p style="text-align: center;"><b>BHIB</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Infusion de cervelle de veau ...200g</li> <li>• Infusion de coeu de beuf .....50g</li> <li>• Peptone de gelatine..... 10g</li> <li>• Chlorure de sodium... .....5g</li> <li>• Phosphate disodique ..... 2,5g</li> <li>• Glucose..... 2g</li> <li>• Ph=7,4</li> </ul>	<p style="text-align: center;"><b>BGT</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Peptone .....20 g/l</li> <li>• Chlorure de sodium.....2.5g/l</li> <li>• Dihydrogénophosphate de potassium .....0.7g/l</li> <li>• Hydrogénophosphate de sodium .....8.3g /l</li> <li>• Glucose ..... 8.3g/l</li> <li>• pH= 7.4</li> </ul>
<p style="text-align: center;"><b>Lowenstein-Jensen</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Phosphate monopotassique 2,4</li> <li>• Sulfate de magnesium 0,24</li> <li>• Citrate de magnésium 0,6</li> <li>• Asparagine anhydre 3,6</li> <li>• Fécule de pomme de terre 30</li> <li>• Vert de malachite 0,4</li> </ul>	<p style="text-align: center;"><b>Muller Hinton</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Infusion du bœuf.....300 g/L</li> <li>• Hydrolysate de caséine..... 17.5g/L</li> <li>• Amidon ..... 1.5 g/L</li> <li>• Gélose ..... 17 g/L</li> </ul> <p style="text-align: center;">pH= 7.3±0.1</p>

## Annexe V. Identification biochimique par galerie miniaturisée API

**Tableau XVIII.** Tableau de lecture de la galerie API 20<sup>E</sup>.

Tests	Composants actifs	Réactions/Enzymes	Résultats	
			négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge-orangé
LDC	L-lysine	lysine décarboxylase	Jaune	Rouge- orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine Décarboxylase	Jaune	Rouge –orangé
CIT	Trisodium citrate	Utilisation du citrate	Vert pale- jaune	Bleu-vert-bleu
H <sub>2</sub> S	Sodium thiosulfate	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore- Grisâtre	Dépôt noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane Désaminase	Jaune	Marron- Rougeâtre
IND	L-tryptophane	Production d'indole	Incolore-vert pale-jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétoine	Incolore-rose pale	Rose-rouge
GEL	Gélatine	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation-oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune-jaune gris
MAN	D-manitol	Fermentation pxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	L-ramnose	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune

**Tableau XIX.** Tableau de lecture de la galerie API Staph.

Test	Corposants actifs	Reactions / Enzymes	Résultat	
			Négatif	Positif
0	Aucun	Témoin négatif	Rouge	—
GLU FRU MNE MAL LAC TRE MAN XLT MEL	D-glucose D-fructose D-mannose D-maltose D-lactose (origine bovine) D-tréhalose D-mannitol xylitol D-mélibiose	(Témoin positif) (D-GLUcose) acidification (D-FRUctose) acidification (D-ManNosE) acidification (MALtose) acidification (LACTose) acidification (D-TREhalose) acidification (D-MANnitol) acidification (XyLiTol) acidification (D-MELibiose)	rouge *	jaune
NIT	nitrate de potassium	Réduction des NITrates en nitrites	<u>NIT 1 + NIT 2 / 10 min</u> incolore-rose pâle	rouge
PAL	$\beta$ -naphtyl phosphate	Phosphatase ALcaline	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u> incolore, beige-rosé, violet très pâle	Violet
VP	sodium pyruvate	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> incolore-rose pâle	violet-rose
RAF XYL SAC MDG NAG	D-raffinose D-xylose D-saccharose méthyl- $\square$ D glucopyranoside N-acétyl-glucosamine	acidification (RAFFinose) acidification (XYLose) acidification (SACcharose) acidification (Méthyl- D- $\square$ Glucopyranoside) acidification (N-Acétyl-Glucosamine)	rouge	jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
<u>URE</u>	urée	UREase	jaune	rouge-violet

**Tableau XX.**Table de lecture de la galerie API 20 Strep

Tests	Composants actifs	Réactions / enzymes	Résultats	
			Positifs	Négatifs
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1 + VP2 (10 minutes)	
			Rose/rouge	incolore
<b>HIP</b>	Acide hippurique	Hydrolyse (acide HYPpurique)	NIN (10 minutes)	
			Bleu foncé / Violet	Incolore/bleu pâle
<b>ESC</b>	Esculine Citrate de fer	Hydrolyse beta-glucosidase	Noir	Incolore / jaune pâle
<b>PYRA</b>	Acide pyroglutamique-beta-naphtylamide	Pyrrolidonyl arymidase	ZYM A + ZYM B / 10 minutes (PYRA à LAP)	
			Orange	Incolore /orange très pâle
	6-bromo-2-naphtyl-alpha-galactopyranoside	Alpha-Galactosidase	Violet	Incolore
<b>Beta-GUR</b>	Acide naphtol-ASBI-glucirionique	Beta-Glucuronidase	Bleu	Incolore
<b>Beta-GAL</b>	2-naphtyl-beta D-galactopyranoside	Beta – Galactosidase	Violet	Incolore/violet très pâle
<b>PAL</b>	2-naphtyl phosspate	Phosphatase Alcaline	Violet	Incolore/violet très pâle
<b>LAP</b>	L-leucine-beta-naphtylamide	Leucine aminopeptidase	Orange	Incolore
<b>ADH</b>	L-arginine	Arginine Dihydrolase	rouge	Jaune
<b>RIB</b>	D-ribose	Acidification (ribose)	Orange/jaune	rouge
<b>ARA</b>	L-arabinose	Acidification (arabinose)	Orange/jaune	rouge
<b>MAN</b>	D-mannitol	Acidification (mannitol)	Orange/jaune	rouge
<b>SOR</b>	D-sorbitol	Acidification (sorbitol)	Orange/jaune	rouge
<b>LAC</b>	D-lactose (origine bovine)	Acidification (lactose)	Orange/jaune	rouge
<b>TRE</b>	D-tréhalose	Acidification (tréhalose)	Orange/jaune	rouge
<b>INU</b>	Inuline	Acidification (inuline)	Orange/jaune	rouge
<b>RAF</b>	D –raffinose	Acidification (raffinose)	Orange/jaune	rouge
<b>AMD</b>	Amidon	Acidification (amidon)	Orange/jaune	rouge
<b>GLYG</b>	Glycogène	Acidification (Glycogène)	Jaune franc	Rouge ou orange

## Annexe VI. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition

**Tableau XXI.** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les Entérobactéries.

Antibiotiques testés	Charge des disques en (µg)	Diamètres critiques en (mm)		
		R	I	S
Ampicilline	10	≤13	14-16	≥17
Amoxicilline + acide clavulanique	20/10	≤13	14-17	≥18
Céfazoline	30	≤19	20-22	≥23
Céfalotine	30	≤14	15-17	≥18
Céfoxitine	30	≤14	15-17	≥18
Céfotaxime	30	≤22	23-25	≥26
Céftazidime	30	≤17	18-20	≥21
Aztréonam	30	≤17	18-20	≥21
Imipénème	10	≤19	20-22	≥23
Ertapénème	10	≤18	19-21	≥22
Amikacine	30	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	10	≤12	13-14	≥15
Acide nalidixique	30	≤13	14-18	≥19
Ciprofloxacine	5	≤15	16-20	≥21
Chloramphénicol	30	≤12	13-17	≥18
Fosfomycine	200	≤12	13-15	≥16
Triméthoprim + sulfaméthoxazole	1.25/23.75	≤10	11-15	≥16

**Tableau XXII.** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *P. aeruginosa*

Antibiotiques testés	Charge des disques en (µg)	Diamètres critiques en (mm)		
		R	I	S
Ticarcilline	75	≤15	16-23	≥24
Ticarcilline+ acide clavulanique	75 /10	≤15	16-23	≥24
Pipéracilline	100	≤14	16-20	≥21
Ceftazidime	30	≤14	15-17	≥18
Aztreonam	30	≤15	16-21	≥22
Imipénème	10	≤15	16-18	≥19
Amikacine	30	≤14	15-16	≥17
Gentamicine	10	≤12	13-14	≥15
Néilmicine	30	≤12	13-14	≥15
Tobramycine	10	≤12	13-14	≥15
Ciprofloxacine	5	≤15	16-20	≥21
Lévofloxacine	5	≤13	14-16	≥17
Fosfomycine	50+50 G6P	<14	.....	≥14
Rifampicine	30	<14	14-18	≥19
Colistine	10	<10	.....	11

**Tableau XXIII.** Familles et abréviation des antibiotiques utilisées.

Familles	Antibiotiques	Abbreviations
<b>β-LACTAMINES</b>	Amoxicilline + Ac.clavulanique Ticarcilline Céfotaxime Céftazidime Aztréonam Imipénème	AMC TIC CTX CAZ ATM IPM
<b>AMINOSODES</b>	Gentamycine Tobramycine	GM TM
<b>SULFAMIDES ET ASSOCIES</b>	Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	SXT