

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Saad Dahleb Blida -1-**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie et Physiologie Cellulaire**  
**LABORATOIRE DE RECHERCHE : BIOTECHNOLOGIE,**  
**ENVIRONNEMENT ET SANTE**

**Mémoire de fin d'étude en vue d'obtention du diplôme Master**  
**Option : Microbiologie**

*Sous le thème :*

**Isolement, identification et profil d'antibiorésistance des**  
***Enterobacteriaceae* et de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de**  
**l'hôpital Brahim Tirichine de Blida.**

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

**Réalisé et présenté par :**

**M<sup>lle</sup> CHENAF Sarah Aicha**

**M<sup>lle</sup> HENNI Fatima Zohra**

**Devant le jury :**

**M<sup>me</sup> CHELGHOUM H. MCB Université Blida -1- Présidente**

**M<sup>me</sup> BOKRETA S. MAA Université Blida -1- Examinatrice**

**M<sup>me</sup> HAMAIDI F. Professeur Université Blida -1- Promotrice**

**M<sup>me</sup> BOULESNAM S.L. Doctorante Université Blida -1- Co-Promotrice**

**Promotion : 2019-2020**

## **Remerciements**

*Dans un premier temps on remercie le bon Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de master et de pouvoir réaliser ce mémoire. Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble du membre de jury :*

*Nous tenons à gratifier **Mme. Chelghoum** d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à **Mme. Bokreta** pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de le juger.*

*Nous remercions également notre promotrice **Mme. Hamaïdi** et notre Co-promotrice **Mme. Boulesnam** pour leur encadrement, orientation et pour la confiance qu'elles nous ont témoignée tout au long de ce travail.*

*Nos remerciements vont aussi à l'encontre de **Mr. Bensefrar**  
Le chef de laboratoire pour son bon accueil.*

*Nous remercions beaucoup **Mr. Tefahi** pour son aide et son soutien.*

*Enfin, nous adressons nos sincères sentiments de gratitude et de reconnaissances à nos familles et à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail qui est le fruit de plusieurs années d'études :*

*A ma très chère mère*

*Quoi que je fasse ou que je dise je ne saurai point te remercier comme se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

*A mon cher père*

*Tu as été toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduise ma gratitude et mon affection.*

*A mes sœurs et mon frère*

*Meriem, Amel et Abderrahmane. Puisse Dieu vous donner santé, bonheur et réussite.*

*A mes cousines*

*Meriem à qui je suis très reconnaissante pour son soutien et son aide et Soumia pour son aimable présence.*

*A mes cousins Billaal et Soufiane.*

*A mes meilleurs amis Rania et Djalal.*

*A mon binôme Fatima.*

*A mes collègues et toute la promotion de microbiologie.*

*Sarah Aïcha*



## *Dédicaces*

*Avec un énorme plaisir je dédie ce modeste travail*

### *A mes chers parents*

*Source de tendresse, de noblesse et d'amour qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et qui m'ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux. J'espère qu'un jour je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que Dieu leur prête bonheur et longue vie.*

### *A mes chères sœurs*

*Faiza, Abir et Feriel pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

### *A ma famille*

*Qui ma doté d'une éducation digne. Son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Particulièrement à mon oncle Benaceur, ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir.*

### *A mon meilleur ami Imad.*

### *A mes amis et mon binôme Sarah.*

*A toute la promotion de la microbiologie 2019/2020.*

*Fatima Zohra*



## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b> Classification des locaux hospitaliers selon le risque infectieux .....	3
<b>Tableau II.</b> Facteurs favorisant l'acquisition d'une infection nosocomiale.....	5
<b>Tableau III.</b> Sites et nombre de prélèvements selon le service.....	18
<b>Tableau IV.</b> Résultats de l'identification d' <i>Escherichia coli</i> .....	32
<b>Tableau V.</b> Lecture de la galerie biochimique API 20E d' <i>E.coli</i> .....	33
<b>Tableau VI.</b> Résultats de l'identification de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	33
<b>Tableau VII.</b> Lecture de la galerie biochimique API 20E de <i>K.pneumoniae</i> .....	34
<b>Tableau VIII.</b> Résultats d'identification d' <i>Enterobacter cloacae</i> .....	34
<b>Tableau IX.</b> Lecture de la galerie biochimique API 20E d' <i>E.cloacae</i> .....	35
<b>Tableau X.</b> Résultats d'identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	36
<b>Tableau XI.</b> Répartition d' <i>E.coli</i> dans les deux services.....	38
<b>Tableau XII.</b> Répartition de <i>K.pneumoniae</i> dans les deux services.....	39
<b>Tableau XIII.</b> Répartition d' <i>E.cloacae</i> dans les deux services.....	39
<b>Tableau XIV.</b> Répartition de <i>P.aeruginosa</i> dans les deux services.....	39

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Organigramme des différentes étapes d'identification des <i>Enterobacteriaceae</i> et de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	20
<b>Figure 2</b> : Schéma du test Hodge modifié .....	29
<b>Figure 3</b> : Répartition des résultats selon les prélèvements effectués.....	30
<b>Figure 4</b> : Répartition des résultats selon les sites de prélèvement.....	31
<b>Figure 5</b> : Répartition des bactéries isolées selon les services.....	31
<b>Figure 6</b> : Résultats de l'identification biochimique d' <i>E.coli</i> .....	33
<b>Figure 7</b> : Résultats de l'identification biochimique de <i>K.pneumoniae</i> .....	34
<b>Figure 8</b> : Résultats de l'identification biochimique d' <i>E.cloacae</i> .....	35
<b>Figure 9</b> : Fréquence des bactéries isolées dans les deux services.....	38
<b>Figure 10</b> : Profil de l'antibiorésistance d' <i>E.coli</i> .....	40
<b>Figure 11</b> : Profil de l'antibiorésistance de <i>K.pneumoniae</i> .....	41
<b>Figure 12</b> : Profil d'antibiorésistance d' <i>E.cloacae</i> .....	42
<b>Figure 13</b> : Profil de l'antibiorésistance chez <i>P.aeruginosa</i> .....	44

## Liste des photos

<b>Photo 1 :</b> Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez <i>E.coli</i> .....	40
<b>Photo 2 :</b> Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez <i>K.pneumoniae</i> .....	41
<b>Photo 3 :</b> Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez <i>E.cloacae</i> .....	42
<b>Photo 4 :</b> Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez <i>P.aeruginosa</i> .....	43
<b>Photo 5 :</b> Image de synergie (BLSE) observée chez <i>E.coli</i> .....	45
<b>Photo 6 :</b> Aspect d'une hyperproduction de céphalosporinases de 3ème génération par <i>E.coli</i> et <i>E.cloacae</i> .....	46
<b>Photo 7 :</b> Aspect d'une production de céphalosporinases de 3ème génération de bas niveau par <i>E.coli</i> et <i>P.aeruginosa</i> .....	46
<b>Photo 8 :</b> Aspect d'une hyperproduction de céphalosporinases de 3ème génération par <i>P.aeruginosa</i> .....	47

## Liste des abréviations

**ADH** : Arginine déshydrogénase

**ALA** : Alanine

**AMC** : Amoxicilline + acide clavulanique

**API** : Analytical profil index

**BGN** : Bacilles à Gram négatif

**BMR** : Bactéries multi- résistantes

**BN** : Bouillon nutritif

**C3G** : Céphalosporines de troisième génération

**CAZ** : Céfotazidime

**CIT** : Citrate

**CLSI** : Clinical and laboratory standards institute

**CTX** : Céfotaxime

**DO** : Densité optique

**EBLSE** : Entérobactéries productrices de  $\beta$ - lactamases à spectre élargi

**ECA** : Enterobacterial common antigen

**GEL** : Gélatinase

**GN** : Gélose nutritif

**H<sub>2</sub>S** : Thiosulfate de sodium

**IMP** : Imipénème

**IN** : Infection nosocomiale

**IND** : Indole

**LDC** : Lysine décarboxylase

**LPS** : Lipopolysaccharides

**McF** : Mac Farland

**ODC** : Ornithine décarboxylase

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**ONPG** : L'orthonitrophényl- $\beta$ -galactoside (ou 2-nitrophényl- $\beta$ -D-galactopyrannoside)

**PLP** : Protéine liant la pénicilline

**TCC** : Ticarcilline + acide clavulanique

**TDA** : Tryptophane désaminase

**URE** : Urée

**USI** : Unité de soins intensifs

**VP** : Voges-Proskauer

## Résumé

Les surfaces de l'environnement hospitalier peuvent être colonisées par des bactéries multi-résistantes. De ce fait, la surveillance microbiologique de ces surfaces doit faire partie intégrante dans la prévention des infections nosocomiales.

Quatre-vingt (80) prélèvements de surface, de matériel médical, des locaux et du mobilier ont été effectués à l'aide d'écouvillons stériles dans les services de médecine interne (unité de diabétologie) et de pneumologie au niveau de l'hôpital Brahim Tirichine de Blida.

Les résultats étaient positifs dans 55% des cas répartis comme suit : 59% (n=26) au niveau du service de pneumologie et 41% (n=18) au niveau du service de médecine interne unité de diabétologie.

72 souches bactériennes ont été isolées à partir de l'environnement hospitalier dont 13 souches appartenant à *Escherichia coli* (18%), 2 souches à *Klebsiella pneumoniae* (2,7%), 1 souche à *Enterobacter cloacae* (1,4%) et 7 souches appartenant à *Pseudomonas aeruginosa* (9,7%).

L'étude de l'antibiorésistance a démontré que 100% des souches d'*Enterobacteriaceae* étaient sensibles vis-à-vis de l'IMP et toutes les souches de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae* ont exprimé une résistance au CTX et à l'AMC. Pour les souches d'*Escherichia coli*, 100% étaient résistantes à l'AMC alors qu'elles présentaient une résistance moyenne vis-à-vis du CTX. De plus, 28,6% des souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient résistantes à la CAZ, 57,1% étaient résistantes au TCC et 28,6% des souches se sont révélées résistantes à l'IMP.

Les tests complémentaires ont permis de détecter deux souches d'entérobactéries productrices de BLSE, six souches hyperproductrices de céphalosporinases et deux *Pseudomonas aeruginosa* productrices de carbapénémases.

**Mots clés :** Hôpital Brahim Tirichine, environnement hospitalier, bactéries multi-résistantes, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiorésistance.

## Abstract

Surfaces in the hospital environment can be colonized by multi-resistant bacteria. Therefore, microbiological monitoring of these surfaces must be an integral part of the prevention of nosocomial infections.

Eighty (80) samples of surfaces, medical equipment, premises and furniture were taken using sterile swabs in the internal medicine (diabetes unit) and pneumology departments at the Brahim Tirichine Hospital in Blida.

The results were positive in 55% of the cases distributed as follows : 59% (n=26) in the pneumology department and 41% (n=18) in the internal medicine department (diabetes unit).

72 bacterial strains were isolated from the hospital environment including 13 strains belonging to *Escherichia coli* (18%), 2 strains of *Klebsiella pneumoniae* (2.7%), 1 strain of *Enterobacter cloacae* (1.4%) and 7 strains belonging to *Pseudomonas aeruginosa* (9.7%).

The antimicrobial resistance study showed that 100% of the *Enterobacteriaceae* strains were susceptible to IMP and all strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* expressed resistance to CTX and AMC. For *Escherichia coli* strains, 100% were resistant to AMC while they showed moderate resistance to CTX. In addition, 28.6% of *Pseudomonas aeruginosa* strains were resistant to CAZ, 57.1% were resistant to TCC and 28.6% of strains were resistant to IMP.

Further testing detected two strains of ESBL-producing *Enterobacteriaceae*, six hyperproducing cephalosporinase producing strains and two carbapenemase producing *Pseudomonas aeruginosa* strains.

**Keywords :** Brahim Tirichine Hospital, hospital environment, multi-resistant bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, antimicrobial resistance.

## ملخص

يمكن استعمار أسطح بيئة المستشفى من قبل بكتيريا متعددة المقاومة ونتيجة لذلك، يجب أن يكون الرصد الميكروبيولوجي لهذه الأسطح جزءاً لا يتجزأ للوقاية من العدوى التي تحدث في المستشفى.

تم إجراء ثمانين (80) عينة سطحية ومعدات طبية وأماكن وأثاث باستخدام مسحات معقمة في أقسام الطب الباطني (وحدة السكري) وأمراض الرئة في مستشفى إبراهيم تيريشين بالبليدة.

كانت النتائج إيجابية في 55% من الحالات مقسمة على النحو التالي: 59% (ع=26) على مستوى قسم أمراض الرئة و 41% (ع=18) في قسم الطب الباطن على مستوى وحدة السكري .

تم عزل 72 سلالة بكتيرية عن بيئة المستشفى بما في ذلك 13 سلالة تنتمي إلى الإشريكية القولونية *Escherichia coli* (18%)، وسلالتين إلى *Klebsiella pneumoniae* (2,7%)، وسلالة إلى *Enterobacter cloacae* (1,4%)، و 7 سلالات تنتمي إلى *Pseudomonas aeruginosa* (9,7%).

أظهرت دراسة مقاومة المضادات الحيوية أن 100% من سلالات *Enterobacteriaceae* كانت حساسة ضد IMP وأن جميع سلالات *Klebsiella Pneumoniae* و *Enterobacter cloacae* مقاومة لـ CTX والـ AMC. بالنسبة لسلالات الإشريشيا القولونية *Escherichia coli*، كانت بنسبة 100% مقاومة لـ AMC في حين بعض السلالات كانت لديهم مقاومة معتدلة لـ CTX. بالإضافة إلى ذلك، 28,6% من سلالات *Pseudomonas aeruginosa* كانت مقاومة لـ CAZ، 57,1% كانت مقاومة لـ TCC، و 28,6% من السلالات وُجدت مقاومة ضد IMP.

الاختبارات المكملة ساهمت في اكتشاف اثنين من سلالات *Enteroobacteriaceae* المنتجة للبيتاكتاماز ذات الطيف الموسع BLSE، وستة سلالات مفرطة الإنتاج لالسيفالوسبوريناس واثنين *Pseudomonas aeruginosa* المنتجة للكاربابينيماز.

**الكلمات المفتاحية:** مستشفى إبراهيم تيريشين، بيئة المستشفى، بكتيريا متعددة المقاومة، *Enterobacteriaceae*، *Pseudomonas aeruginosa*، مقاومة المضادات الحيوية.

# SOMMAIRE

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des photos**

**Liste des abréviations**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

**Introduction.....1**

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE I. GENERALITES SUR L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER ET INFECTIONS NOSOCOMIALES

#### **I.1 Environnement hospitalier et bactéries multirésistantes**

**I.1.1** Définition d'un environnement hospitalier.....3

**I.1.2** Etablissements hospitaliers à risque infectieux.....3

**I.1.3** Bactéries multirésistantes, réservoirs et voies de transmission.....4

**I.1.4** Survie des microorganismes sur les surfaces.....4

#### **I.2 Infections nosocomiales**

**I.2.1** Facteurs de risque d'acquisition d'une IN.....5

**I.2.2** Types d'infections nosocomiales.....6

### CHAPITRE II. PRINCIPAUX GERMES IMPLIQUES

#### **II.1 *Enterobacteriaceae***

**II.1.1** Taxonomie.....7

**II.1.2** Habitat et pouvoir pathogène.....7

<b>II.1.3</b> Caractères bactériologiques.....	8
<b>II.1.4</b> Principaux genres impliqués.....	9
<b>II.1.4.1</b> <i>Escherichia coli</i> .....	9
<b>II.1.4.2</b> <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	10
<b>II.1.4.3</b> <i>Enterobacter cloacae</i> .....	10
<b>II.2</b> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<b>II.2.1</b> Classification.....	11
<b>II.2.2</b> Habitat et pouvoir pathogène.....	11
<b>II.2.3</b> Caractères bactériologiques.....	12
<b>CHAPITRE III. ANTIBIORESISTANCE</b>	
<b>III.1</b> Antibiorésistance et mécanismes.....	14
<b>III.2</b> Antibiorésistance chez les entérobactéries.....	16
<b>III.3</b> Antibiorésistance chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	17

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **I. MATERIEL ET METHODES**

#### **I.1 Matériel**

- Matériel biologique.....18
- Matériel non biologique.....18

#### **I.2 Méthodes**

- I.2.1** Types de prélèvement.....18
- I.2.2** Méthode de prélèvement.....19
- I.2.3** Examen macroscopique.....21
- I.2.4** Etat frais.....21
- I.2.5** Isolement et purification .....21
- I.2.6** Coloration de Gram.....22
- I.2.7** Identification biochimique.....22
  - A.** Identification biochimique des bactéries lactose positif.....22
  - B.** Identification biochimique des bactéries lactose négatif.....23

<b>I.2.8</b> Antibiogramme.....	25
<b>I.2.8.1</b> Antibiogramme standard.....	25
<b>I.2.8.2</b> Les tests complémentaires.....	27
<b>A.</b> Test de synergie ou test de détection de BLSE.....	27
<b>B.</b> Test à la cloxacilline.....	28
<b>C.</b> Test de Hodge .....	28

## **II. RESULTATS ET DISCUSSIONS**

<b>II.1</b> Répartition des résultats selon les prélèvements effectués .....	30
<b>II.2</b> Répartition des résultats selon les sites de prélèvement.....	30
<b>II.3</b> Répartition des bactéries isolées selon les services .....	31
<b>II.4</b> Résultats de l'identification bactérienne.....	32
<b>II.4.1</b> Résultats de l'identification des <i>Enterobacteriaceae</i> .....	32
<b>II.4.2</b> Résultats de l'identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	36
<b>II.5</b> Fréquence de bactéries isolées dans les différents services.....	37
<b>II.6</b> Antibiorésistance.....	39
<b>II.6.1</b> Antibiorésistance chez <i>Escherichia coli</i> .....	40
<b>II.6.2</b> Antibiorésistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	41
<b>II.6.3</b> Antibiorésistance chez <i>Enterobacter cloacae</i> .....	41
<b>II.6.4</b> Antibiorésistance chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	43
<b>II.6.5</b> Les tests complémentaires.....	45
➤ Test de synergie (BLSE).....	45
➤ Test à la cloxacilline.....	45
➤ Test de Hodge.....	48
<b>Conclusion</b> .....	49

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

# *Introduction*

Les hôpitaux sont des milieux où sévissent différentes maladies et constituent un milieu propice pour la propagation des infections nosocomiales, lorsque les conditions d'hygiène et environnementales ne sont pas favorables. La promiscuité des malades dans les salles et dans les chambres d'hospitalisation favorise les infections transmissibles. De même, le non-respect des pratiques d'asepsie constitue un risque susceptible d'entraîner l'augmentation de ces infections (**Lukuke et al., 2017**).

Les infections nosocomiales sont une réalité préoccupante à laquelle sont confrontés tous les établissements de soins. Par leur surcoût ainsi que la morbidité et la mortalité qui pourraient leur être attribuables, elles constituent un problème majeur de santé publique (**Jaffel et al., 2017**). Elles présentent un facteur de risque de surmortalité hospitalière dont les germes responsables sont souvent multirésistants (**Meftah et al., 2020**).

L'émergence de la résistance aux antibiotiques engendre de graves conséquences sanitaires et économiques. Elle est responsable d'une augmentation de la mortalité, de la durée d'hospitalisation et conduit à utiliser des médicaments plus onéreux et souvent plus toxiques. La conséquence sur le plan économique est une augmentation des coûts des soins de santé (**Kollef, 2005**).

Les bacilles à Gram négatif occupent une place très importante parmi les microorganismes responsables d'infections nosocomiales. Ces pathogènes appartiennent à différentes familles bactériennes représentées majoritairement par les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*...etc.), et les bacilles à Gram négatif non fermentaires (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*...) (**Liassine, 2000**).

L'augmentation de la résistance des entérobactéries aux  $\beta$ -lactamines et aux fluoroquinolones constitue l'une des préoccupations majeures des établissements de santé. La diffusion des EBLSE expose à un risque élevé d'échec clinique lors des traitements probabilistes. Les carbapénèmes restent souvent les molécules de premier choix pour traiter ces infections avec pour conséquence l'émergence de résistances à cette classe (**Geier et Moriconi 2018**).

Au cours des dernières décennies, *Pseudomonas aeruginosa* s'est imposé comme un pathogène hospitalier majeur (**Bertrand et al., 2011**). Il est responsable de 10 à 15% des infections nosocomiales dans le monde. Souvent, ces infections sont difficiles à traiter en raison de la résistance naturelle de l'espèce, ainsi que de sa remarquable capacité à acquérir d'autres mécanismes de résistance à de multiples groupes d'agents antimicrobiens. Elle est souvent

rencontrée et est responsable d'infections sévères, difficiles à gérer, telles que pneumonie respiratoire, bactériémie ou infections cutanées, principalement chez les patients immunodéprimés avec déjà un mauvais pronostic de base (**Hoang et al., 2018**).

De plus, la dissémination des BGN aérobies stricts (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*) ne touche que le système hospitalier et préférentiellement les secteurs de soins intensifs. Les problèmes posés sont surtout individuels, amenant à des difficultés ou même des impasses thérapeutiques chez des patients infectés (**Lucet et Birgand, 2011**).

L'objectif principal de cette étude était de rechercher les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* qui peuvent être probablement associés à des infections nosocomiales dans le service de médecine interne (unité de diabétologie) et de pneumologie à l'hôpital Brahim Tirichine de Blida en vue d'améliorer la prise en charge, prévenir un échec thérapeutique et de diminuer le risque de mortalité tout en respectant les étapes suivantes :

- Isolement, purification et identification biochimique des bactéries en cause.
- Etablir un profil de résistance des germes isolés vis-à-vis quelques antibiotiques.

# *Synthèse bibliographique*

## I. GENERALITES SUR L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER ET LES INFECTIONS NOSOCOMIALES

### I.1 Environnement hospitalier et bactéries multirésistantes

#### I.1.1 Définition d'un environnement hospitalier

Le terme environnement hospitalier regroupe habituellement les surfaces, l'eau, l'air, le linge, les aliments, les dispositifs médicaux et les déchets (**Saouide el ayne et al., 2014**).

À l'hôpital, les surfaces susceptibles d'entrer en contact avec le patient directement, et /ou indirectement par l'intermédiaire de dispositifs médicaux ou les mains des personnes peuvent constituer des réservoirs des microorganismes (**Rouillon et al., 2006**).

L'environnement hospitalier est largement contaminé par des microorganismes d'origine humaine ou environnementale. Cette contamination varie qualitativement et quantitativement, dans le temps et d'un établissement à un autre. Au sein du même établissement, elle varie en fonction des services, des patients, des soins et des techniques pratiquées (**Barbut et Neyme, 2006**).

#### I.1.2 Etablissements hospitaliers a risque infectieux

Selon le risque infectieux les locaux hospitaliers sont classés en 4 zones :

**Tableau I.** Classification des locaux hospitaliers selon le risque infectieux.

<b>Zone 1</b> <b>Risque minime</b>	<b>Zone 2</b> <b>Risque moyen</b>	<b>Zone 3</b> <b>Risque sévère</b>	<b>Zone 4</b> <b>Très haut risque</b>
Halls Bureaux Services administratifs Services techniques Service de soins Salle de réunion Sanitaire Etc...	Psychiatrie Escaliers Ascenseurs Sanitaires communs Salle d'attente Salle à manger Consultation Etc...	Soins continus Réanimation Urgences Chirurgie Médecine Pédiatrie Néonatalogie Maternité Oncologie Hématologie Etc...	Bloc opératoire Bloc obstétrical Bloc d'imagerie interventionnelle Unité de greffe d'organe Service des grands brûlés Etc...

(**Galy et Verdeil, 2017**)

### **I.1.3 Bactéries multirésistantes, réservoirs et voies de transmission**

Aussi longtemps que de nouvelles familles d'antibiotiques sont apparues, le concept de multi-résistance était dynamique, la résistance nouvellement acquise étant compensée par de nouveaux antibiotiques (Spelberg, 2011). Les BMR sont définies comme des bactéries ne conservant une sensibilité qu'à quelques antibiotiques d'utilisation courante, en raison de résistances acquises (Spelberg, 2011).

Le tarissement de nouvelles molécules thérapeutiques et l'émergence de bactéries pan-ou toto-résistantes constituent une réalité préoccupante. Evidemment, en cas d'infection, des traitements antibiotiques seront difficiles, de moindre efficacité, plus toxiques, voir des impasses thérapeutiques avec un retour à la 1<sup>ère</sup> pré-antibiotique (Bratu et al., 2005).

Les principales BMR responsables d'infection en 2012 sont au nombre de six. Il s'agit de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, EBLSE ou hyper productrices de céphalosporinases, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et Entérocoques résistants aux glycopeptides (Birgand et lucet, 2013).

Les patients sont exposés à de nombreux réservoirs potentiels à l'origine des bactéries responsables d'infections associées aux soins. Le réservoir le plus important reste celui des patients eux-mêmes (c'est-à-dire flore digestive, cutanée, oropharyngée, etc.). Cependant, d'autres réservoirs exogènes peuvent jouer un rôle important dans l'acquisition de micro-organismes, tels que la flore des professionnels de santé, celle des patients voisins (Bloemendaal et al., 2009), ou de l'environnement hospitalier (surfaces, eau, matériels) (Venier et al., 2014).

L'exposition aux agents microbiens se déroule selon une séquence bien connue. Les germes sont émis à partir d'un réservoir puis vont se transmettre par voie directe ou indirecte à l'hôte récepteur. La peau, les muqueuses, les voies digestives ou respiratoires constituent différentes portes d'entrée. Les modalités de transmission sont elles aussi bien identifiées : il s'agit soit d'aérosols dont la taille, la vitesse d'émission et la charge infectieuse peuvent varier selon la source ou l'agent infectieux, soit d'un contact direct avec le réservoir notamment par les mains (Chefson, 2016).

### **I.1.4 Survie des microorganismes sur les surfaces**

La colonisation de la surface sera fonction de l'aptitude des micro-organismes à se développer ou à survivre, ce qui va dépendre de conditions écologiques locales (humidité,

température, nature de la surface, présence de substances protectrices, nutritives ou inhibitrices cumulée à des facteurs biologiques, etc.). Va également intervenir à ce stade la forme de la surface (fissure, craquelure, etc.) qui jouera un rôle dans la possibilité de « nidification » des germes à l’abri d’une action mécanique voire des détergents ou des désinfectants (**Harteman, 2019**).

La survie des micro-organismes d’origine humaine sur les surfaces varie de quelques heures à plusieurs mois, en fonction des caractéristiques propres de ceux-ci et des conditions environnementales (**Kramer et al., 2006**) . Une humidité de plus de 70 %, une température peu élevée, un fort inoculum de départ, et la présence de matières organiques sont associés à la persistance de la plupart des micro-organismes sur les surfaces. Le type de matériau (plastique, inox, cuivre, etc.) constituant la surface peut avoir une influence sur la survie (**Oxford et al., 2014 ; Grass et al., 2011**).

L’adhésion des bactéries aux surfaces au sein d’un biofilm constitué est également un facteur important de leur pérennité, cette matrice de polymères extracellulaires formant une protection des microorganismes contre les agressions de tous types, dont les stress environnementaux et l’action des désinfectants (**Espinal et al., 2012**).

## **I.2 Infections nosocomiales**

### **I.2.1 Facteurs de risque d’acquisition d’une IN**

Le tableau suivant montre les principaux facteurs favorisant l’acquisition d’une infection nosocomiale :

**Tableau II.** Facteurs favorisant l’acquisition d’une infection nosocomiale.

<b>Facteurs liés aux patients</b>	<b>Facteurs liés aux soins et aux interventions</b>	<b>Facteurs liés à l’agent Infectieux</b>
âge avancé	sondage urinaire, gastrique	virulence
très jeune âge	ou trachéale (ventilation assistée)	résistance aux antibiotiques
immunodépression		
séropositivité au VIH	cathéter veineux	
chimiothérapie	intervention chirurgicale	
diabète	endoscopie	
obésité, dénutrition		

(CHCP, 2018)

## **I.2.2 Types d'infections nosocomiales**

La fréquence et l'étiologie des IN est très variable, selon la région étudiée aussi bien que selon le type de service hospitalier et de patients concernés. Quelques catégories d'infections se distinguent néanmoins des autres (**Ducel, 2002**).

Les Principaux types d'infections nosocomiales sont :

- **Les infections urinaires** : celles contractées lors d'un sondage urinaire à demeure sont les plus fréquentes.
- **Les infections du site opératoire** : on distingue pour cette catégorie les infections de la plaie opératoire (plutôt superficielle à l'origine) et les infections profondes touchant les organes. Les chirurgies visant à la mise en place d'une prothèse ou bien pour une transplantation peuvent causer des IN d'apparitions très tardives, jusqu'à un an après l'opération.
- **Les pneumopathies** : celles-ci sont en majorité associées à la mise en place d'une ventilation mécanique, ce qui constitue un réel fléau au sein des USI.
- **Les septicémies** : ici encore, l'utilisation de dispositif médical est associée à la plupart des cas de septicémies nosocomiales, que ce soient les dispositifs intra-vasculaires (comme les chambres de perfusion veineuse) ou les cathéters centraux ou périphériques.

Parmi les autres IN moins fréquentes et/ou de moindre gravité, on retrouve les infections de la peau et des tissus mous, les gastro-entérites (qui touchent surtout les enfants), les infections de la sphère oto-rhino-laryngée (ORL) comme les sinusites ou les conjonctivites, ou encore les infections post-partum de la sphère génitale (**Ducel, 2002**).

## II. PRINCIPAUX GERMES IMPLIQUES

### II.1 *Enterobacteriaceae*

Les Entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobie facultatifs, retrouvés partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier (Jan, 2020).

#### II.1.1 Taxonomie

La génétique moléculaire (hybridation ADN-ADN, gènes des ARN ribosomiaux, séquençage complet) est la base actuelle de la classification des entérobactéries. De nouveaux genres tels *Hafnia* et *Pantoea* sont apparus (issues du genre *Enterobacter*). A l'opposé, des genres et des espèces ont été réduits à l'état de sous-espèces ou de sérovars (Denis et al., 2007).

La taxonomie des Entérobactéries est la suivante :

- **Règne** : *Bacteria*.
- **Phylum** : *Proteobacteria*.
- **Classe** : *Gammaproteobacteria*.
- **Ordre** : *Enterobacteriales*.
- **Famille** : *Enterobacteriaceae*.
- **Genre** : Les genres de cette famille sont regroupés en cinq tribus, d'après leurs propriétés fermentatives : *Escherichiae*, *Klebsielleae*, *Salmonelleae*, *Proteae*, *Yersinia*, *Erwiniae*.
- **Espèce** : 130 espèces sont actuellement répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia* (Khayar, 2011).

#### II.1.2 Habitat et pouvoir pathogène

Les entérobactéries sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux où ils sont retrouvés soit à l'état de pathogène, soit à l'état de commensaux. Mais cette localisation digestive n'est pas exclusive. On les retrouve également dans l'environnement (sols, eau) où ils

participent à la dégradation des matières organiques, à l'altération des plantes suite à des nécroses, à une dégénérescence ou à un ramollissement (**Delarras, 2007**).

Elles sont responsables de nombreuses infections :

- ✓ **Les infections communautaires** : il s'agit principalement des infections urinaires majoritairement provoquées par *E.coli*, les intoxications alimentaires provoquées par les Salmonelles, les infections pulmonaires provoquées par *Klebsiella pneumoniae*.
- ✓ **Les infections nosocomiales** : sont fréquentes à type d'infections urinaires, des plaies opératoires, d'infections pulmonaires, de septicémies, ainsi que d'autres localisations. En plus des bactéries déjà citées dans les infections communautaires avec un profil de multi résistance on cite : *Enterobacter sp*, *Serratia sp* (**Avril et al., 2000**).

### II.1.3 Caractères bactériologiques

#### **Caractères morphologiques**

Au niveau phénotypique, ce sont des BGN droits, mobiles par flagelles péritriches, ou immobiles; non sporulés ; aérobies facultatifs, produisant de l'acide à partir du glucose ; pas de besoin en sodium, ni de stimulation ; catalase positive ; oxydase négative ; réduisent habituellement les nitrates en nitrite (pas en N<sub>2</sub>) ; ARNr 16S de gamma-protéobactéries (**Cristian, 2008**).

#### **Caractères cultureux**

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobie et en anaérobie. Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène «type S : smooth ». Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse « type R : rough ». Les Klebsielles forment des colonies souvent très muqueuses « type M », larges et luisantes (**Achkour, 2012**).

#### **Caractères biochimiques**

Les différences entre les nombreux genres et espèces viennent de critères plus précis, comme la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, la production d'indole, la production d'uréase, la présence ou l'absence d'enzymes du métabolisme (désaminases, décarboxylases)...etc (**Meziani, 2012**).

Les principaux caractères biochimiques des Entérobactéries sont :

-Aéro-anaérobie et de type fermentatif du glucose (respiration aérobie le plus souvent et fermentation en anaérobiose).

- Réduisant en général les nitrates en nitrites (des souches réduisent les nitrates en diazote *Klebsiella* et d'autre ne réduisent pas *Yersinia*, *Shigella*).

- Habituellement catalase (+), dépourvus d'oxydase (**Kassama et al., 2013**) (**Tableau voir annexes**).

#### **Caractères antigéniques**

La plupart des espèces d'entérobactéries possèdent un antigène commun appelé antigène de Kunitz ou ECA. Il existe trois catégories d'antigènes :

- ✓ **Les antigènes O** : ce sont des antigènes de paroi constitués de LPS qui sont thermostables et résistants à l'alcool ou l'acide.
- ✓ **Les antigènes H** : ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont donc présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine, la flagelline, ils sont thermolabiles et inactives par l'alcool.
- ✓ **Les antigènes K** : ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharidique. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B d'*E.coli* et l'antigène Vi de certains Salmonelles ou Citrobacter (**Khayar, 2011**).

### **II.1.4 Principaux genres impliqués**

#### **II.1.4.1 *Escherichia coli***

Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces : *E.coli*, *E.albertii*, *E.fergusonii*, *E.hermanii*, *E.vulneris*, *E.blattae*. Cependant, au sein de ce genre, l'espèce *E. coli* représente la quasi-totalité des isolats humains (**Denis et al., 2007**).

*Escherichia coli* ou colibacille est une bactérie mesurant 2 à 4 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large. C'est une bactérie fine et allongée à extrémité arrondie, mobile grâce à une ciliature péritriche. Ce germe, non exigeant sur gélose ordinaire, il donne des colonies lisses, brillantes et homogènes. Sa température de croissance optimale est de 37 °C (**Abraham, 2018**).

C'est une des espèces bactériennes les plus souvent rencontrées en pathologie humaine. La plupart sont commensales, mais certaines souches possèdent des facteurs de virulence qui leur permettent de déclencher des diarrhées. C'est une cause majeure de diarrhée aiguë dans le monde (**Berche, 2003**). A côté des infections intestinales, elle est responsable d'infections

extra-intestinales diverses : urinaires, abdominale, méningées et les bactériémies (**Fauchère et Loup, 2002**).

#### **II.1.4.2 *Klebsiella pneumoniae***

Les *Klebsiella* sont des bactéries immobiles et capsulées. On distingue 5 espèces dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques. Elles expriment des antigènes K capsulaires utilisables comme marqueurs épidémiologiques (**Khayar, 2011**). L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*, germe très répandu dans la nature (sol et eau), saprophyte des voies respiratoires supérieures et il est l'agent des surinfections respiratoires (**Lamnaouer, 2002**).

*K.pneumoniae* est un pathogène opportuniste fréquemment impliqué dans des infections sévères notamment des infections urinaires, des pneumonies et des bactériémies (**Berrazeg et al., 2013**). Il est responsable de plus de 10% des infections nosocomiales (**Hennequin et Forestier, 2007**).

De nombreuses épidémies nosocomiales causées par cette bactérie ont été décrites, notamment chez les personnes ayant un système immunitaire affaibli, comme les diabétiques et les alcooliques. Elle peut se propager rapidement entre les patients hospitalisés surtout dans des unités de soins intensifs adultes ou pédiatriques (**Mltezo et al., 2013**).

#### **II. 1.4.3 *Enterobacter cloacae***

Les *Enterobacter cloacae* sont des BGN, anaérobies facultatifs mesurant 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur, ils se déplacent grâce à un flagelle péritriche et sont dotés de pilus de classe 1 (**Hart, 2006 ; Paterson et al., 2005**).

Les *E.cloacae* sont des germes qui colonisent souvent les patients hospitalisés et plus particulièrement ceux traités par antibiotiques. Ils ont été associés à des épidémies nosocomiales et sont considérés comme des pathogènes opportunistes (**Hart, 2006 ; Pagotto et al., 2003**).

Les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter aerogenes* sont des pathogènes responsables d'infections nosocomiales diverses, y compris la bactériémie, Les infections des voies respiratoires et urinaires, l'endocardite, les infections intraabdominales et ophtalmiques, l'arthrite septique et les ostéomyélites (**Fraser et al., 2010**).

## **II.2 *Pseudomonas aeruginosa***

*P.aeruginosa* a été isolé pour la première fois en 1882 par Gessard (**Chaker, 2012**). Etymologiquement, le mot issu du grec *pseudo* (=simili ou imitation) et *monas* (unité) désignait les germes du début de la microbiologie. Le mot *aeruginosa*, qui signifie en latin vert gris, fait référence au pigment produit par les bactéries et qui donne à la colonie sa couleur caractéristique (**Lister et al., 2009**).

### **Classification**

Selon **Delarras, 2014** la classification phylogénique est la suivante :

**Règne :** *Bacteria*.

**Embranchement :** *Proteobacteria*.

**Classe :** *Gammaproteobacteria*.

**Ordre :** *Pseudomonadales*.

**Famille :** *Pseudomonadaceae*.

**Genre :** *Pseudomonas*.

Ce genre comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires. *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce type généralement appelée bacille pyocyanique (**Delarras, 2014**).

### **II.2.1 Habitat et pouvoir pathogène**

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont largement répandues dans l'environnement notamment dans le sol, l'eau, les plantes. On les rencontre aussi au niveau de la peau, de l'appareil respiratoire supérieur, de l'oreille externe et du tube digestif chez l'individu sain. Ce genre est trop souvent fréquent dans les hôpitaux du fait de sa grande résistance aux antibiotiques. Il préfère les milieux humides tels que les robinets, les siphons, les lavabos, les nébuliseurs et les humidificateurs causant des dysfonctionnements pulmonaires, des septicémies, des infections urinaires et d'autres infections superficielles telles qu'une conjonctivite, folliculite et l'otite (**Delarras, 2014**).

Dans les infections nosocomiales, elle est impliquée dans les pneumopathies chez les malades sous respirateurs, les infections urinaires chez les malades sondés, les infections cutanées secondaires à des brûlures, les infections ostéo-articulaires sur matériels (**Fuentefria et al., 2011**).

## II.2.2 Caractères bactériologiques

### Caractères morphologiques

*P.aeruginosa* dénommé aussi « pyocyannique » est un bacille pigmenté de 1 à 3µm de long et 0,5 à 1µm de large, mobile grâce à un flagelle polaire, Gram négatif, aérobie strict, ubiquitaire. Il possède un des plus grands et des plus complexes génomes bactériens connus ; la fréquence de ses mutations, sa capacité d'accepter les transferts de matériel génétique via des plasmides ou transposons, expliquent son caractère évolutif et ses capacités d'acquisition de résistance à une grande variété d'antibiotiques (**Morand et Morand, 2017**).

### Caractères cultureux

Le bacille pyocyannique est une bactérie à besoins très limités, et en croissance sur des milieux synthétiques simples. Elle pousse facilement à 37 °C pendant 24 heures, Elle peut croître entre 5 et 42°C avec un optimum de 30 °C. Par contre, elle supporte de moindres variations de PH (6,5 à 7,5) avec un PH optimal de 7,2 (**Barir et Ghilani, 2011**).

C'est une bactérie aérobie stricte mais capable d'utiliser les nitrates en conditions anaérobies (**Souley et Moustafa, 2002**).

En bactériologie médicale, un milieu sélectif à base de cétrimide (ammonium quaternaire) permet la recherche et l'isolement de *P.aeruginosa* à partir de produits biologiques (selles, urines, pus, liquide céphalo-rachidien...) (**Delarras, 2007**).

Trois types de colonies peuvent être observées simultanément ou de manière isolée sur milieux solides (**Denis, 2007**).

- Colonies larges « L » de 2 à 3 mm de diamètre, à bord irrégulier, rugueuses, une partie centrale bombée présentant des reflets métalliques.
- Colonie plus petites lisses « S » bombées à bord régulier.
- Colonies muqueuses « M » bombées, coalescentes, filantes rencontrées chez les souches produisant un slime composé d'un polymère d'alginate.

### Caractères biochimiques

*Pseudomonas aeruginosa* est caractérisé par un métabolisme oxydatif. Ces bactéries ont la capacité de dégrader des composés complexes, tels que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon, les celluloses, elle possède aussi une nitrate réductase (réduction des nitrates pouvant aller jusqu' au stade de N gazeux), une arginine –dihydrolase, une lécithinase (qui ne peut être révélée qu'en milieu liquide) (**Barir et Ghilani, 2011**).

C'est une bactérie dépourvue d'enzymes dégradant le lactose et dégageant une odeur de raisin ou seringa (**Pouneh, 2009**).

*P.aeruginosa* produit deux types de pigments (fluorescent ou non) qui servent à son identification, ils peuvent être mis en évidence dans les milieux de King B et King A :

- ✓ **Pyoverdine** : pigment jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme.
- ✓ **Pyocyanine** (phénazinique) : pigment bleu-vert non fluorescent soluble dans l'eau et le chloroforme, *Pseudomonas aeruginosa* est la seule espèce à le produire (**Delarras, 2007**).

#### **Caractères antigéniques**

Il existe, chez *P.aeruginosa*, un antigène somatique **O** thermostable, la spécificité de cet antigène **O** est supportée par plusieurs polysaccharides correspondant aux chaînes latérales du LPS, dont la longueur et la composition sont variantes (**Cady, 2006**).

Les antigènes **O:1** à **O:11** sont les plus fréquents ; le sérotype **O:12** présente la particularité d'être le plus résistant aux antibiotiques et est le plus souvent incriminé dans les infections nosocomiales (**Oulymata, 2007**).

Il existe également un antigène flagellaire **H**, thermolabile permettant un typage qui en combinaison avec le typage **O**, permet de reconnaître aux moins 25 sérovares (**Cady, 2006**).

### III. ANTIBIORESISTANCE

#### III.1 Antibiorésistance et mécanismes

La résistance bactérienne aux antibiotiques aurait deux origines essentielles, naturelle et acquise. La première est programmée au niveau du pool génomique alors que la seconde est développée en fonction des conditions métaboliques (**Julian et Dorothy, 2010**).

##### A. Résistance naturelle

C'est une résistance intrinsèque, commune à une population, due essentiellement à la présence de gènes spécifiques (**Allen et al., 2010**). Elle se caractérise par des modifications structurales, dans le cas de la membrane externe des bactéries à Gram- . Les gènes de résistance sont exprimés soit d'une manière constitutive ou bien induite en répondant à un signal enzymatique établi par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis-à-vis de l'antibiotique (**Doyle, 2006**).

##### B. Résistance acquise

Elle est due à des modifications dans le profil d'expression génique via des mutations ponctuelles ou acquises. Grâce à ce processus, les bactéries partagent entre elles des informations génétiques, ce qui leur confère un très grand pouvoir d'adaptation aux milieux environnementaux qu'elles habitent (**Springman et al., 2009**).

En milieu hospitalier où l'on utilise de nombreux antibiotiques, ces phénomènes sont bien connus. Des bactéries devenues résistantes peuvent créer chez le personnel hospitaliers des infections dites hospitalières (nosocomiales) celles-ci sont très graves car :

- Elles touchent des individus affaiblis qui résistent mal à l'infection.
- Il est difficile de les traiter car les bactéries résistent généralement à des nombreux antibiotiques (**Figarella et al., 2001**).

D'après **Nauciel (2000)**, on peut classer les mécanismes de résistances en 4 groupes :

#### B .1 L'inactivation de l'antibiotique

C'est l'un des mécanismes le plus souvent en cause :

- ✓  **$\beta$ -lactamases** : Ce sont des enzymes inactivent les  $\beta$ -lactamines par ouverture du noyau  $\beta$ -lactame. Il existe une grande variété et leur classification pose des problèmes. On peut les classer suivant les  $\beta$ -lactamines qu'elles hydrolysent de manière

préférentielle par exemple pénicillines, céphalosporines suivant leur sensibilité à divers inhibiteurs (**Bouyahya et al., 2017**).

- ✓ **Enzymes inactivants les aminosides** : On connaît 3 classes d'enzymes pouvant inactiver les aminosides : les acétyl-transférases, les nucléotidyle - transférases et les phospho-transférases. Chaque enzyme possède donc son profil de substrat et va par conséquent donner naissance à un profil de résistance aux aminosides. Les gènes codant pour ces enzymes sont le plus souvent plasmidiques (**Bouyahya et al., 2017**).

### **B.2 Modification de la cible :**

- ✓ **Modification des PLP** : La résistance à la méticilline (et à l'ensemble des  $\beta$ -lactamines) chez *Staphylococcus aureus* est due à la présence d'une PLP ayant une très faible affinité pour les  $\beta$ -lactamines ; cette nouvelle PLP est due à une acquisition d'un gène chromosomique appelé «mec A » l'expression phénotypique de la résistance est variable (résistance hétérogène) et dépend des conditions de culture (**Bouyahya et al., 2017**).
- ✓ **Modification du précurseur du peptidoglycane** : Le remplacement de la D-Ala terminal par un groupement lactose sur le précurseur du peptidoglycane entraîne une résistance aux glycopeptides chez les Entérocoques. L'affinité des glycopeptides pour la séquence D-ALa-D-lactate est en effet plus faible que pour la séquence habituelle D-Ala- D-Ala (**Bouyahya et al., 2017**).
- ✓ **Modification des ribosomes** : La méthylation d'une adénine au niveau de l'ARN ribosomal entraîne la résistance aux Macrolides, aux Lincosamides et à la Streptogramine B en empêchant leur fixation sur le ribosome. La méthylase impliquée dans ce phénomène est codée par un gène appelé (Erythromycine résistance méthylase) dont il existe différentes variétés (**Bouyahya et al., 2017**).

### **B.3 Diminution de la perméabilité :**

Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries à Gram (-) et permettent le passage de certaines molécules hydrophiles. Des mutations peuvent entraîner la perte de certaines porines et de ce fait entraver la pénétration de certains antibiotiques. Ces mutations peuvent entraîner la résistance à plusieurs familles d'antibiotique simultanément. La fosfomycine pénètre dans le cytoplasme des bactéries par l'intermédiaire du système de transport des glycérophosphates. Des mutations au niveau de ce système de transport entraînent la résistance à la fosfomycine (**Bouyahya et al., 2017**).

#### **B.4 Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux :**

Il existe chez les bactéries des systèmes permettant d'excréter certains antibiotiques ; ces systèmes jouent un rôle dans la résistance naturelle sous l'effet de mutations, leur niveau d'expression peut augmenter et faire apparaître une résistance acquise pouvant toucher simultanément plusieurs familles d'antibiotiques (par exemple fluoroquinolones et  $\beta$ -lactamines) le phénomène a été décrit surtout chez les bactéries à Gram (-) (**Nauciel, 2000**).

### **III.2. Antibiorésistance chez les Entérobactéries**

#### ***E.coli***

La proportion d'*E.coli* résistants aux antibiotiques a considérablement augmenté au cours de la dernière décennie, et l'émergence de souches combinant des résistances à plusieurs classes d'antibiotiques est de plus en plus fréquente. La résistance aux aminopénicillines est la plus répandue. Elle est soit l'unique résistance de la souche (33,3% des souches), soit associée avec une ou plusieurs autres résistances. Elle est fréquemment combinée à la résistance aux fluoroquinolones (84,8% des souches multirésistantes), qui est la deuxième résistance la plus fréquente. La résistance aux C3G, si elle est la moins fréquente. Avec l'émergence de souches produisant des carbapénémases, la prise en charge des patients atteints d'IN va devenir de plus en plus compliquée dans les prochaines années, au vu de la prévalence d'*E.coli* dans ces infections (**Monnet, 2011**).

#### ***Klebsiella***

Les *Klebsiella* posent souvent des problèmes d'antibiothérapie. Elles ont une résistance naturelle à l'ampicilline et à la carbapénicillines dues à la production d'une pénicillinase chromosomique à laquelle les céphalosporines sont insensibles. La résistance acquise à de nombreux antibiotiques, particulièrement aux aminosides, est très fréquente. La multi résistance habituelle des souches rendent indispensable le rôle du laboratoire dans le choix du traitement (**Faucher et Loup, 2002**).

#### ***Enterobacter***

Les *Enterobacter* sont très souvent résistants aux antibiotiques. Ils possèdent une résistance naturelle à l'ampicilline et à la céfalotine (**Beraud, 2001**). Cette espèce peut devenir résistante au cours du traitement soit par diminution de la perméabilité de la paroi bactérienne, soit par hyper production d'une céphalosporinase (**Faucher et Loup, 2002**).

### **III.3. Antibiorésistance chez *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* possède une résistance naturelle à un grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une bêta-lactamase qui n'est pas inhibé par le clavulanate, et une mauvaise perméabilité membranaire. Elle est donc naturellement résistante aux pénicillines et à la plupart des céphalosporines de troisième génération .Elle est aussi résistante à la kanamycine (**Poole, 2004**).

Les choses sont différentes pour les résistances apparaissant par sélection de mutants résistants : la résistance de *P.aeruginosa* peut être liée à la production de BLSE ou de carbapénémase, mais plus souvent à l'hyperproduction de céphalosporinase pour la résistance à la CAZ ou la perte de porines pour la résistance à l'IMP, qui sont des phénomènes réversibles au niveau d'une population bactérienne. Ces mécanismes de résistance par mutation s'accompagnent en effet généralement d'une réduction du fitness qui donne à ces souches un désavantage compétitif par rapport aux souches non mutées (**Lucet et birgand, 2011**).

# *Partie expérimentale*

# *Matériel et méthodes*

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de l'hôpital Brahim Tirichine de Blida sur une période d'un mois allant du 16 février au 17 mars. Les échantillons ont été prélevés à partir de deux services : le service de médecine interne (unité de diabétologie) et le service de pneumologie.

### **I.1 Matériel**

- **Matériel biologique**

Représenté par les prélèvements et les souches de références *d'E.coli* ATCC 25922 et de *klebsiella pneumoniae*.

- **Matériel non biologique**

Représenté principalement par les milieux de culture, la verrerie, l'appareillage et les réactifs (voir annexes).

### **I.2 Méthodes**

#### **I.2.1 Types de prélèvement**

Les prélèvements ont été effectués par la technique d'écouvillonnage. Nous avons prélevé des échantillons au niveau des deux services sur différents sites, notamment des : lits, tables, potences, poignées de portes, fenêtres, murs, point d'eaux, chariots, aspirateurs et literies (Tableau III).

**Tableau III.** Sites et nombre de prélèvements selon le service.

Service	Sites de prélèvement		Total
	Site	Nombre	
Diabétologie	Lit	10	40
	table	05	
	Potence	04	
	Poignée de porte	04	
	Fenêtre	02	
	Mur	03	
	Point d'eau	06	
	Chariot	02	
	Aspirateur/respirateur	01	
	Literie	03	

	Sites de prélèvement	Nombre	
Pneumologie	Lit	08	40
	Table	05	
	Potence	03	
	Poignée de porte	04	
	Fenêtre	02	
	Mur	03	
	Point d'eau	05	
	Chariot	02	
	Aspirateur / Réspirateur	04	
	Literie	04	
	Total		

### **I.2.2 Méthode de prélèvement**

Nous avons utilisé la méthode par écouvillonnage pour la recherche des germes spécifiques sur des surfaces planes (tables, chariots, lits), dans des zones difficilement accessibles et non planes (dispositifs médicaux, poignées ... etc.).

Des écouvillons stériles sont tout d'abord humidifiés dans un Bouillon Nutritif. Pour une surface plane, ces écouvillons étaient passés sur les surfaces en stries parallèles rapprochées en faisant tourner légèrement, puis sur les mêmes zones en stries perpendiculaires. Ensuite, ils sont remis dans les tubes de BN et transmis au laboratoire dans un délai d'un quart d'heure, en dernier on les incube à 37°C pendant 24h.

Les différentes étapes d'identification bactérienne sont présentées dans la (**Figure 1**).

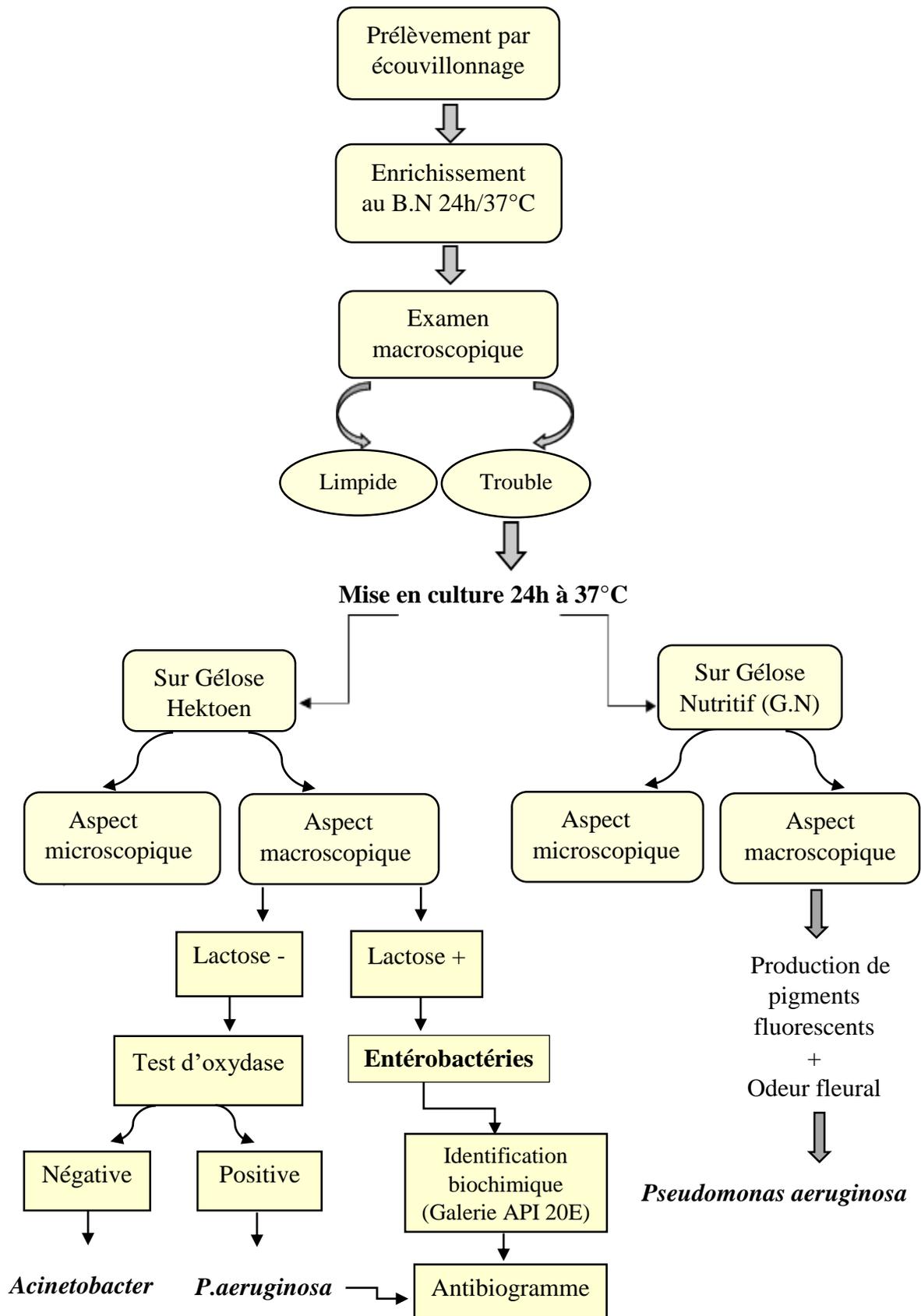


Figure 1 : Organigramme des différentes étapes d'identification des *Enterobacteriaceae* et de *Pseudomonas aeruginosa*.

### **I.2.3 Examen macroscopique**

Après incubation, on passe à l'examen macroscopique (à l'œil nu). Les prélèvements qui apparaissent troubles (présence de la croissance bactérienne) vont subir les autres étapes d'identification.

### **I.2.4 Etat frais**

Les prélèvements sélectionnés précédemment (les prélèvements troubles) seront observés entre lame et lamelle sous un microscope optique Gr : 10x 40.

Le but de cette étape est de mettre en évidence :

- La mobilité
- La morphologie
- Le mode de regroupement

### **I.2.5 Isolement et purification**

#### **Isolement**

L'isolement est effectué sur deux milieux de cultures : la gélose nutritive (GN) et la gélose Hektoen (HK). L'ensemencement se fait en deux étapes :

- La première partie de la boîte a étéensemencée par l'écouvillon imbibé dans le B.N en frottant à la surface de la gélose.
- La deuxième partie a étéensemencée à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, à partir du premier ensemencement en faisant des stries éloignées.

Les boîtes seront ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48h.

#### **Examen macroscopique**

Après incubation, toute colonie pigmentée en orange, vert ou noir sur les milieux Hektoen est suspectée d'être un Entérobactérie ou une *Pseudomonas aeruginosa*.

#### **Purification**

La purification se fait sur le même type de milieux jusqu'à l'obtention d'un isolat pur présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement.

### **I.2.6 Coloration de Gram**

C'est la coloration de référence en bactériologie. Elle permet de distinguer entre les Gram (+) et les Gram (-) en se basant sur les propriétés de la paroi bactérienne :

- les bactéries à Gram positif qui sont riches en peptidoglycane et pauvres en lipide.
- les bactéries à Gram négatif qui sont pauvres en peptidoglycane et riches en lipide.

#### **Technique**

Sur un frottis fixé à la chaleur :

- ✓ Recouvrir la lame de violet de gentiane : 1 minute.
- ✓ Rejeter le violet de gentiane (rinçage).
- ✓ Recouvrir de lugol : 1 minute.
- ✓ Rejeter le lugol (rinçage).
- ✓ Décolorer à l'alcool, la lame étant tenue inclinée. La durée de décoloration à l'alcool est variable selon l'épaisseur du frottis. En pratique, la durée de décoloration est suffisante lorsque ce qui s'écoule en bas de la lame inclinée est devenu clair ;
- ✓ Stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau.
- ✓ Recouvrir la lame de fuchsine diluée, 30 secondes à 1 minute ;
- ✓ Laver à l'eau.
- ✓ Sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur ;
- ✓ Examiner à l'immersion G X 100.

#### **Lecture**

- Les bactéries à Gram positif doivent apparaître colorées en violet.
- Les bactéries à Gram négatif doivent apparaître colorées en rose.

### **I.2.7 Identification biochimique**

#### **A. Identification biochimique des bactéries lactose positif**

Après 24h d'incubation sur gélose Hektoen, les colonies pigmentées en jaune ou en orange (Résultat de l'acidification du milieu par fermentation du sucre) représentent les bactéries lactose (+).

#### **Galerie API 20E (Galerie miniaturisée)**

L'API 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites

pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés suite à l'addition des réactifs.

La lecture des résultats se fait à l'aide d'un tableau de lecture, l'identification est obtenue à partir du catalogue analytique ou un logiciel d'identification (**Bio Mérieux**) (**Tableau voir annexes**).

#### **Technique**

##### ✓ **Préparation de la galerie**

Remplir le fond de la boîte d'incubation (partie alvéolée) avec de l'eau distillée pour maintenir l'humidité de la galerie.

##### ✓ **Préparation de l'inoculum**

À partir d'une culture pure de 18 à 24h, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies isolées et parfaitement identiques, puis les mettre dans 5 ml d'eau distillée stérile afin d'obtenir une suspension bactérienne de 0,5 McF.

##### ✓ **Inoculation de la galerie**

À l'aide d'une micropipette ou une seringue stérile, on prend une quantité de la suspension préalablement préparée et on remplit les microtubes.

- Pour les tests **CIT**, **VP**, **GEL** remplir tube et cupule.
- Pour les autres tests, Remplir uniquement les tubes.
- Pour les tests **LDC**, **ODC**, **ADH**, **H<sub>2</sub>S** et **Urée** créer une anaérobiose en remplissant leurs cupules par l'huile de vaseline.
- Marquez le plateau avec le numéro d'identification (ID patient ou ID organisme), la date et vos initiales.
- Refermer la boîte et incuber à 37°C pendant 24h (**Bio Mérieux**).

#### **Lecture : (Tableau voir annexes).**

##### **B. Identification biochimique des bactéries lactose négatif**

Après 24h d'incubation sur gélose Hektoen, les colonies vertes ou bleues (pas d'acidification du milieu : aucun des sucres présents dans le milieu n'est utilisé) représentent les bactéries lactose (-).

## **B.1 Bactéries lactose négatif et H<sub>2</sub>S négatif**

### **✚ Test d'oxydase**

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries.

#### **✓ Technique**

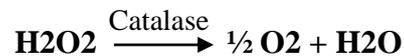
- Sur une lame, déposer le disque d'oxydase.
- humidifier avec l'eau physiologique.
- avec une pipette pasteur boutonnée, prendre une colonie isolée et la gratter sur le disque.

#### **✓ Lecture : immédiate**

- Oxydase positif : le disque prend une teinte bleu ou violette.
- Oxydase négatif : le disque reste incolore.

### **✚ Test de catalase**

Au cours de la respiration aérobie, les bactéries produisent le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui est très toxique, certaines bactéries ont la capacité de le dégrader grâce à des enzymes qu'elles produisent suivant la réaction ci-dessous :



#### **✓ Technique**

Sur une lame propre déposer une à deux gouttes d'eau oxygénée, ensuite prendre une colonie isolée avec une pipette pasteur boutonnée et stérile et la déposer sur la lame.

#### **✓ Lecture : immédiate**

- Catalase positif : effervescence.
- Catalase négatif : absence d'effervescence.

### **✚ Triple Sugar Iron (TSI)**

Ce milieu permet de mettre en évidence la fermentation du glucose, lactose et du saccharose avec ou sans dégagement de gaz et production d'Hydrogène sulfuré.

#### **✓ Technique**

- Préparer la suspension bactérienne à partir de la colonie suspecte.
- Inoculer le culot par pique central et la pente par stries.
- Incuber à 37°C pendant 24h.

#### **✓ Lecture : (Tableau voir annexes)**

### **Citrate de Simmons**

Ce milieu permet de révéler la capacité des bactéries à utiliser le citrate comme une seule source de carbone.

#### ✓ **Technique**

- Préparer une suspension bactérienne de la colonie isolée.
- Ensemencer par des stries longitudinales la pente du milieu.
- Incuber à 37°C pendant 24h.

#### ✓ **Lecture**

- Citrate de Simmons positif : virage de couleur en bleu.
- Citrate de Simmons négatif : pas de virage de couleur.

## **I.2.8 Antibiogramme**

### **I.2.8.1 Antibiogramme standard**

L'antibiogramme standard est un test in vitro de sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques. La méthode utilisée dans notre étude est la technique de diffusion sur milieu gélosé.

Nous avons appliqué les techniques de standardisation de l'antibiogramme préconisées par le CLSI recommandées par l'OMS et agréées par de nombreux pays.

Les disques de papier imprégnés avec une concentration déterminée d'agent antimicrobien sont déposés à la surface d'un milieu de culture standardisé préalablement ensemencé avec un inoculum calibré d'une culture pure de la bactérie à tester. Après incubation, les boîtes de Pétri sont examinées et les diamètres des zones d'inhibition entourant les disques sont mesurés et comparés aux valeurs critiques des différents agents antimicrobiens testés, afin de déterminer la catégorisation clinique (résistant, intermédiaire, sensible). Le diamètre de la zone d'inhibition est proportionnel à la sensibilité de la bactérie testée.

### **Paramètres à respecter**

La fiabilité des résultats d'un antibiogramme est influencée par de nombreux paramètres qui doivent être rigoureusement contrôlés.

#### **a) Le milieu de culture**

Le milieu de culture doit permettre la croissance de nombreuses bactéries et il ne doit pas contenir d'inhibiteurs des antibiotiques. La teneur en calcium et en magnésium doit être contrôlée, car excès de cations bivalents ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) inhibent l'action des polymyxines. Un

PH trop acide augmente l'activité des  $\beta$ -lactamines, un milieu alcalin favorise les aminosides et les macrolides, il doit être compris entre 7,2 et 7,4, valeur qui permet une bonne croissance bactérienne et qui réalise un compromis pour l'activité des antibiotiques.

Le milieu retenu pour la majorité des espèces bactériennes est celui de Mueller-Hinton (plus 5% de sang pour les germes exigeants). Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm et les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

### **b) Le choix des disques d'antibiotiques**

On utilise les antibiotiques dont les germes sont habituellement sensibles. Les disques sont présentés en cartouche de 50 disques conditionnés en containers étanches contenant un dessicant. La date de péremption et le numéro de lot figurent sur chaque conditionnement (cartouche et container).

Les cartouches de disques doivent être conservées dans leur container entre +2 et +8°C au sec. Avant utilisation, les disques doivent être amenés à température ambiante. Toute cartouche ouverte doit être utilisée dans les cinq jours.

### **c) L'inoculum**

En Algérie, l'antibiogramme par diffusion est réalisé avec une suspension calibrée à 0,5 McF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm contenant environ 10<sup>8</sup> bactéries par ml.

## **Technique**

### **▪ Préparation de l'inoculum**

La suspension cellulaire doit être préparée dans de l'eau physiologique stérile à partir d'une culture jeune et pure sur milieu d'isolement approprié.

### **▪ Technique d'ensemencement**

L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum. Il est réalisé par écouvillonnage :

- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- ✓ L'essorer en le pressant et on le tournant contre la paroi interne du tube.
- ✓ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose en faisant des stries serrées.
- ✓ Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60 ° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- ✓ Passer l'écouvillon sur les périphéries de la boîte.

▪ **Application des disques**

L'application des disques se fait à l'aide d'une pince stérile en appuyant légèrement. Les disques doivent être placés à plat sans glissement sans déplacement. La distance entre deux disques est de 30 mm.

▪ **Incubation**

L'incubation des boîtes se fait à 37°C pendant 18 à 24h, couvercle bas.

▪ **Lecture des résultats**

Après incubation à la température et sous atmosphère recommandées, les diamètres des zones d'inhibition seront mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse. Les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée. Les diamètres des zones d'inhibition mesurés seront comparés aux diamètres critiques donnés par les instances en vigueur afin de classer la bactérie dans l'une des catégories Résistant, Intermédiaire, Sensible. Ces critères de catégorisation clinique selon les diamètres critiques sont remis à jour périodiquement par le CLSI.

### **I.2.8.2 Les tests complémentaires**

#### **A. Test de synergie ou test de détection de BLSE**

Après l'antibiogramme, en cas de réduction de la sensibilité aux céphalosporines de troisième génération, les BLSE ont été mis en évidence par la recherche de synergie entre l'acide clavulanique et la C3G.

#### **Principe**

Il consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase (acide clavulanique) et les disques de céphalosporines de troisième génération. Cette image est dite « bouchon de champagne ».

#### **Technique**

- Préparation de l'inoculum à partir d'une culture pure et jeune.
- Ensemencement par écouvillonnage.
- Placer le disque d'AMC au centre de la boîte, distant de 3 cm du disque CTX.

#### **Lecture**

La production de BLSE peut se traduire par la production de synergie « image de bouchon de champagne » (**Rahal et al., 2005**).

## **B. Test à la cloxacilline**

Chez les souches naturellement productrices de céphalosporinases et chez les souches productrices de céphalosporinases plasmidiques, la présence d'une BLSE peut être masquée du fait de l'induction de la céphalosporinase par l'acide clavulanique (**Drioux et al., 2008**).

La cloxacilline est un antibiotique qui permet d'inhiber les  $\beta$ -lactamase de type AmpC, la restauration de l'activité des céphalosporines de 3ème génération en présence d'une concentration définie de cloxacilline, permettant ainsi de confirmer le phénotype céphalosporinase (**De Champs et al., 2002**).

### **Technique**

Les souches ont été testées vis-à-vis du céfotaxime et l'AMC en utilisant la gélose MH additionnée d'un inhibiteur : la cloxacilline à une concentration finale définie (250 $\mu$ g/ml). Incubation à 37°C pendant 24h.

### **Lecture**

La lecture se fait en comparant les boîtes de l'antibiogramme réalisé sur Mueller-Hinton additionné de la cloxacilline à celui réalisé sur Mueller-Hinton sans cloxacilline. Le phénotype céphalosporinase se traduit par l'augmentation des diamètres d'inhibition d'au moins 8mm autour des disques des antibiotiques céphalosporines de 3ème génération (**De Champs et al., 2002**).

## **C. Test de Hodge modifié (Lee et al., 2003)**

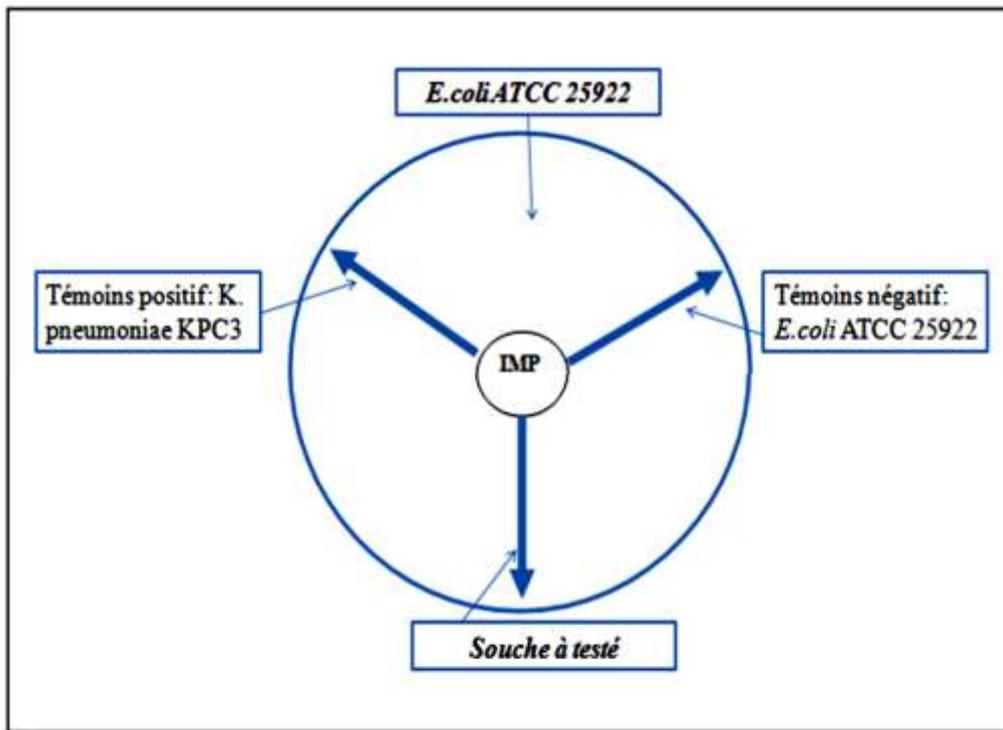
Ce test permet la mise en évidence d'une synergie d'activité enzymatique (enzyme hydrolysant l'imipénème) entre souches productrices de carbapénèmases (souche à tester) et souches sauvages de référence sensibles.

### **Technique**

Sur une boîte de la gélose Mueller Hinton (MH) préalablement ensemencée par une souche de référence d'*E.coli* ATCC 25922, déposer un disque d'imipénème (10 $\mu$ g) au centre de la boîte. Ensuite, la souche à tester est ensemencée sur la gélose sous forme de stries déposées à partir du disque d'imipénème jusqu'au bord de la boîte en présence d'un témoin positif : *K.pneumoniae* productrice de carbapénémase (KPC) et d'un témoin négatif *E.coli* ATCC 25922 (**Figure 2**).

**Lecture**

Après 24h d'incubation à 37°C, la production d'une carbapénémase se traduit par une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème.



**Figure 2** : Schéma du test Hodge modifié.

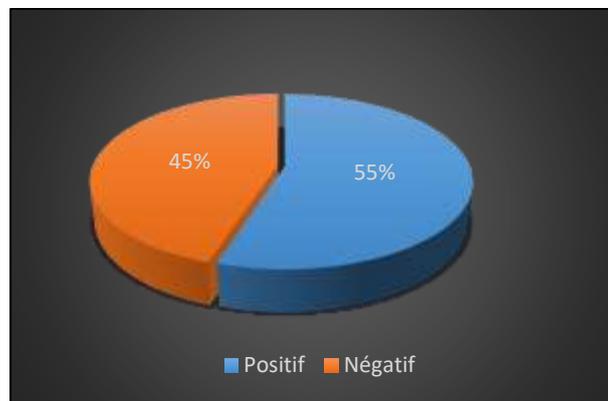
## *Résultats et discussions*

## II RESULTATS ET DISCUSSIONS

Durant la période d'étude, 80 échantillons ont été prélevés à partir de surfaces, du linge et de dispositifs médicaux dans le service de médecine interne (unité de diabétologie) et le service de pneumologie à l'hôpital Brahim Tirichine de Blida. Les résultats obtenus après culture, isolement et identification sont mentionnés dans ce chapitre.

### II.1 Répartition des résultats selon les prélèvements effectués

Sur un total de 80 prélèvements provenant des deux services, service de médecine interne et de pneumologie, 44 prélèvements étaient positifs avec un pourcentage de 55%. Tandis que 36 prélèvements étaient négatifs avec un pourcentage de 45% (**Figure 3**).



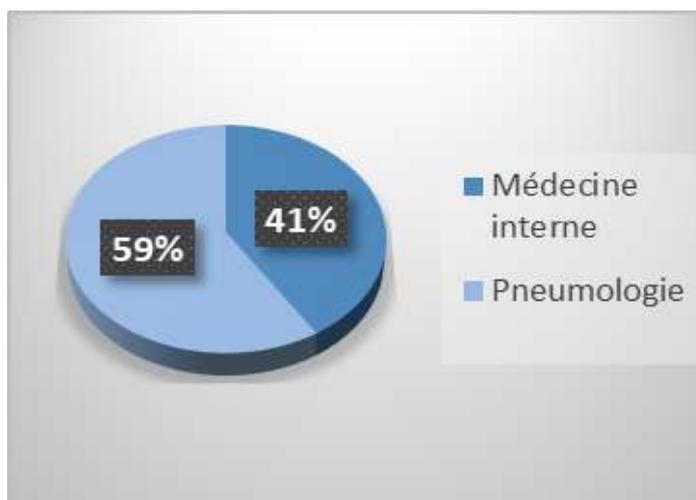
**Figure 3** : Répartition des résultats selon les prélèvements effectués.

Ce taux positif s'est révélé important surtout lorsqu'il s'agit des services à haut risque (Médecine interne et pneumologie) prenant en charge des patients affaiblis.

Jusqu'à présent les infections nosocomiales représentent un problème majeur de santé publique qui touche aussi bien les pays développés que les pays pauvres en ressources. D'après l'Enquête Nationale sur la Prévalence des IN menée par le ministère en 2005, en Algérie : 14% des patients hospitalisés sont infectés.

### II.2 Répartition des résultats selon les sites de prélèvement

Le nombre des prélèvements effectués dans chaque service est identique. En effet sur un total de 44 prélèvements positifs, nous avons obtenu un taux de 41% au niveau du service médecine interne avec un nombre de 18, alors que dans le service de pneumologie le taux était 59% avec un nombre de 26 (**Figure 4**).

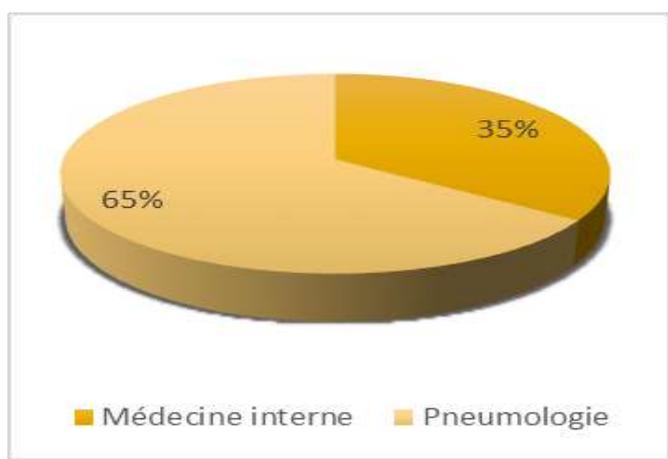


**Figure 4 :** Répartition des résultats selon les sites de prélèvement.

Les résultats obtenus dans cette étude confirment ceux de **Cavalo et al., (2002)**, la contamination de l'environnement hospitalier varie qualitativement et quantitativement dans le temps, d'un établissement à un autre et au sein d'un même établissement, en fonction des services, des patients, des soins et des techniques pratiquées.

### II.3 Répartition des bactéries isolées selon les services

Parmi les 44 prélèvements positifs, nous avons enregistré 72 souches bactériennes. 25 souches ont été isolées à partir du service médecine interne unité de diabétologie avec un pourcentage de 34,7 % et 47 souches à partir du service de pneumologie dont le taux exprimé était 65,3% (**Figure 5**).



**Figure 5 :** Répartition des bactéries isolées selon les services.

De nombreuses études ont été effectuées pour réaliser un état des lieux des infections liées aux soins dans de nombreux pays. Globalement, la prévalence des infections nosocomiales varie en fonction du tableau clinique et de la prise en charge. Ainsi dans les services, les

plus touchés sont les patients les plus fragilisés et qui subissent le plus de soins (Keita et al., 2016).

Une enquête de type transversal , descriptif et analytique a été réalisée dans plusieurs services du CHU de BAB EL OUED . Les résultats montrent un taux de positivité de 18,2% au niveau du service de diabétologie (Makhlouf et al., 2017).

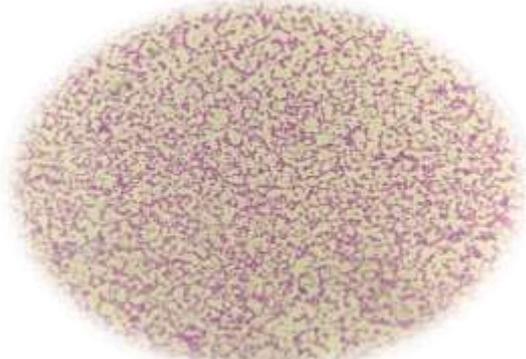
Une étude similaire a été réalisée dans le centre hospitalier de Dakar (Sénégal) pour la mesure de prévalence des IN . L'incidence globale était de 5,5 % dont les densités les plus élevés étaient observées dans les services des maladies infectieuses et de pneumologie (Déguénonvo et al ., 2015).

## II.4 Résultats de l'identification bactérienne

### II.4.1 Résultats de l'identification des *Enterobacteriaceae*

Les résultats obtenus après culture, isolement et identification biochimique par galerie API 20E sont représentés par les tableaux (IV-X) et les figures (6-8)

**Tableau IV.** Résultats de l'identification de *Escherichia coli*.

<i>Escherichia coli</i>	
<b>Culture sur Hektoen</b>	
	Colonies de couleur Jaunes orangées, larges, lisses, brillantes avec un aspect Œuf sur plat.
<b>Coloration de Gram (GX 100)</b>	
	<b>Bacilles à Gram négatif</b>

La lecture de la galerie API 20E a permis d'obtenir la **figure 6** et le **tableau V** :



**Figure 6** : Résultats de l'identification biochimique d'*E.coli* (Photo originale).

**Tableau V.** Lecture de la galerie biochimique API 20E d'*E.coli*.

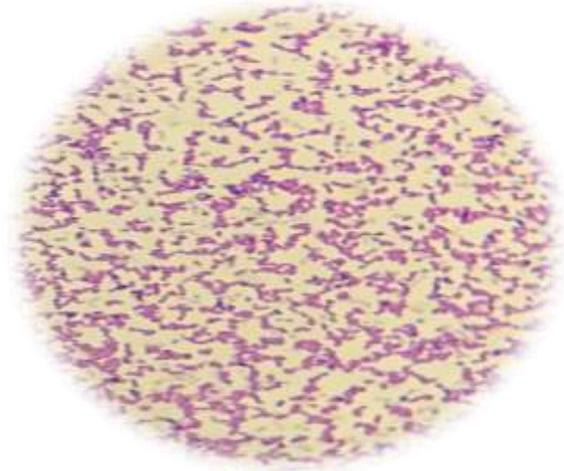
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

**Tableau VI.** Résultats de l'identification de *Klebsiella pneumoniae*.

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<b>Culture su Hektoen</b>	<p style="text-align: center;">Colonies de couleur jaunes orangées <b>Aspect</b> : Muqueuses, larges, bombées et luisantes.</p>

**Coloration de Gram**

(GX 100)



**Bacilles à Gram négatif**

La lecture de la galerie API 20E a permis d'obtenir la **figure 7** et le **tableau VII** :



**Figure 7** : Résultats de l'identification biochimique de *K.pneumoniae* (Photo originale).

**Tableau VII.** Lecture de la galerie biochimique API 20E de *K.pneumoniae*.

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

**Tableau VIII.** Résultats d'identification d'*Enterobacter cloacae*.

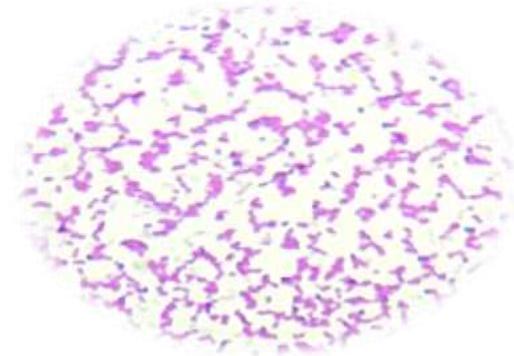
<i>Enterobacter cloacae</i>
-----------------------------

**Culture sur Hektoen**

Colonies de couleur jaunes orangées ressemblant aux autres entérobactéries, seule l'identification biochimique qui permet de le différencier



**Coloration de Gram  
(GX 100)**



**Bacilles à Gram négatif**

La lecture de la galerie API 20E a permis d'obtenir la **figure 8** et le **tableau IX** :



**Figure 8** : Résultats de l'identification biochimique d'*E.cloacae* (Photo originale).

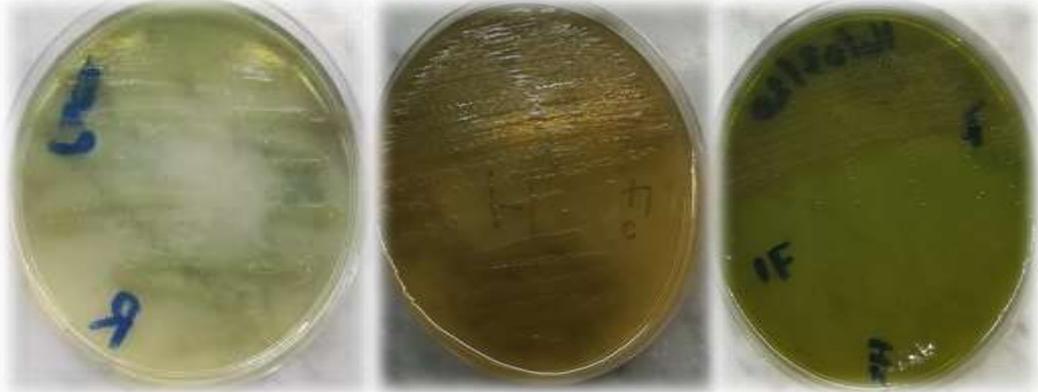
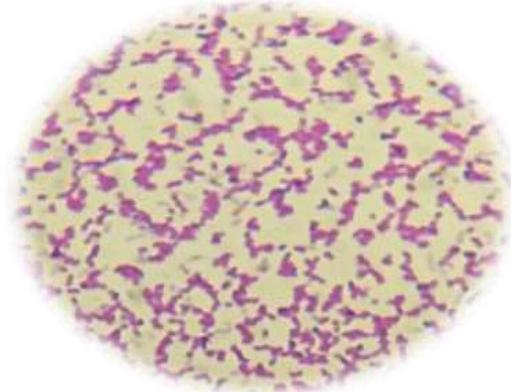
**Tableau IX.** Lecture de la galerie biochimique API 20E d'*E.cloacae*.

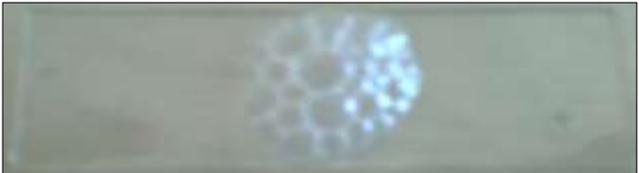
ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+

#### II.4. 2 Résultats de l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*

Les résultats de l'identification de *Pseudomonas aeruginosa* sont exprimés dans le tableau suivant :

**Tableau X.** Résultats d'identification de *Pseudomonas aeruginosa*.

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<b>Culture</b>	
<b>Culture sur le milieu GN :</b> Production des pigments (la pyoverdine, pycocyanine et la pyorubrine qui donnent à la bactérie une couleur caractéristique verte ou brune).	<b>Culture sur Hektoen</b>
<b>Odeur :</b> Caractéristique dite la sergina (senteur d'une fleur, le jasmin).	
<b>Colonies à aspect métallique.</b>	
<b>Coloration de Gram</b> (GX 100)	
	<b>Bacilles à Gram négatif</b>
<b>Test d'oxydase</b>	
<b>Résultat : Oxydase (+)</b>	

<p><b>Test de Catalase</b></p> <p><b>Résultat : Catalase (+)</b></p>	
<p><b>TSI</b></p> <p>Saccharose (-) Lactose (-) Glucose (-) H<sub>2</sub>S (-) Production de gaz (-)</p> <p><b>Résultat : TSI (-)</b></p>	
<p><b>Citrate de Simmons</b></p> <p>Acidification du milieu ce qui provoque un virage de la couleur Vert au bleu.</p> <p><b>Résultat : Citrate (+)</b></p>	

## II.5 Fréquence de bactéries isolées dans les différents services

Parmi les 72 souches bactériennes isolées, nous avons obtenu comme suit :

- Un taux de 18% d'*E.coli* (n=13).
- Un taux de 2.7% de *K.pneumoniae* (n=2).
- Un taux de 1.4% d'*E.cloacae* (n=1).
- Un taux de 9.7 % *P.aeruginosa* (n=7).
- Un taux de 68 % pour les autres bactéries (n=49).

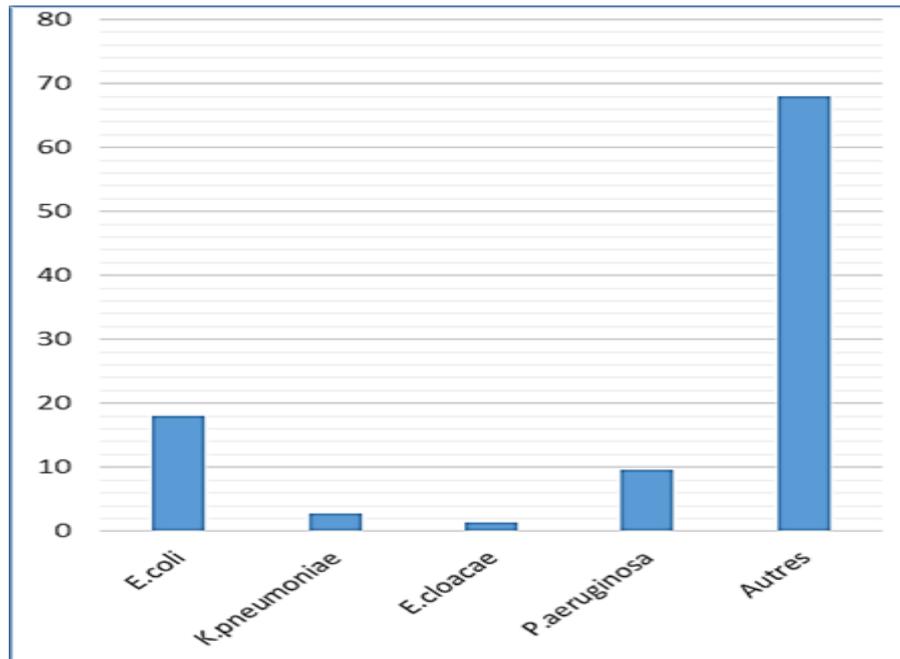


Figure 9 : Fréquence de bactéries isolées dans les deux services.

La recrudescence des BMR en milieu hospitalier est un phénomène mondial observé pour toutes les espèces bactériennes mais à des degrés variables selon les pays et les services, en fonction des habitudes de prescription et des pratiques d'hygiène (Saïdani, 2006).

Selon l'ENP (2013) des IN effectuée au niveau du CHU Bab El Oued, les résultats ont montré que sur un total de 13 germes identifiés, plus des trois quarts des germes isolés (76,9 %) sont représentés par les bacilles Gram négatif, parmi eux *E.coli* occupe la première place (46,2 % des BGN isolés), suivi de *Pseudomonas aeruginosa* (15,4%), *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* (7,6% pour chacun).

La répartition des bactéries par service est représentée par les tableaux suivants :

Tableau XI. Répartition d'*E.coli* dans les deux services.

<i>E.coli</i>	Diabétologie	Pneumologie
Nombre	6	7
Pourcentage (%)	8,3	9,7

**Tableau XII.** Répartition de *K.pneumoniae* dans les deux services.

<i>K.pneumoniae</i>	Diabétologie	Pneumologie
<b>Nombre</b>	0	2
<b>Pourcentage (%)</b>	0	2,7

**Tableau XIII.** Répartition d'*E.cloacae* dans les deux services.

<i>E.cloacae</i>	Diabétologie	Pneumologie
<b>Nombre</b>	0	1
<b>Pourcentage (%)</b>	0	1,4

**Tableau XIV.** Répartition de *P.aeruginosa* dans les deux services.

<i>P.aeruginosa</i>	Diabétologie	Pneumologie
<b>Nombre</b>	3	4
<b>Pourcentage (%)</b>	4,2	5,5

Les résultats de cette étude corroborent avec ceux de l'**ENP (2019)**, où les entérobactéries sont les germes les plus incriminés avec un taux de 43,73%, dont *E.coli* est la prédominante (23,59%) suivie par *P.aeruginosa* soit un pourcentage de 6,28%.

Une autre étude multicentrique menée dans 27 hôpitaux en Algérie, Tunisie, Maroc, Egypte et Italie montre que les germes les plus fréquemment isolés étaient *E.coli* : 17,2%, *P.aeruginosa* et *K.pneumoniae* : 9,2% pour chacun (**Amezian et al., 2010**).

Des études rétrospectives réalisées sur une période de sept ans dans le service de néonatalogie du centre hospitalier et universitaire de Yopougon à Abidjan indiquent que *K.pneumoniae* et *E.cloacae* sont deux germes très impliqués dans les infections nosocomiales (**Lasme-Guillao et al., 2011**).

D'autres études effectuées en Tunisie ont montré que les microorganismes les plus souvent isolés étaient des bacilles à Gram négatifs dans 80% des cas. *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae* et *E.coli* étaient retrouvés dans 66% des cas (**Merzougui et al., 2018**).

## **II.6 Antibiorésistance**

La résistance des bactéries aux antibiotiques reste aujourd'hui un problème majeur de santé publique. La situation apparait particulièrement préoccupante en milieu hospitalier où la

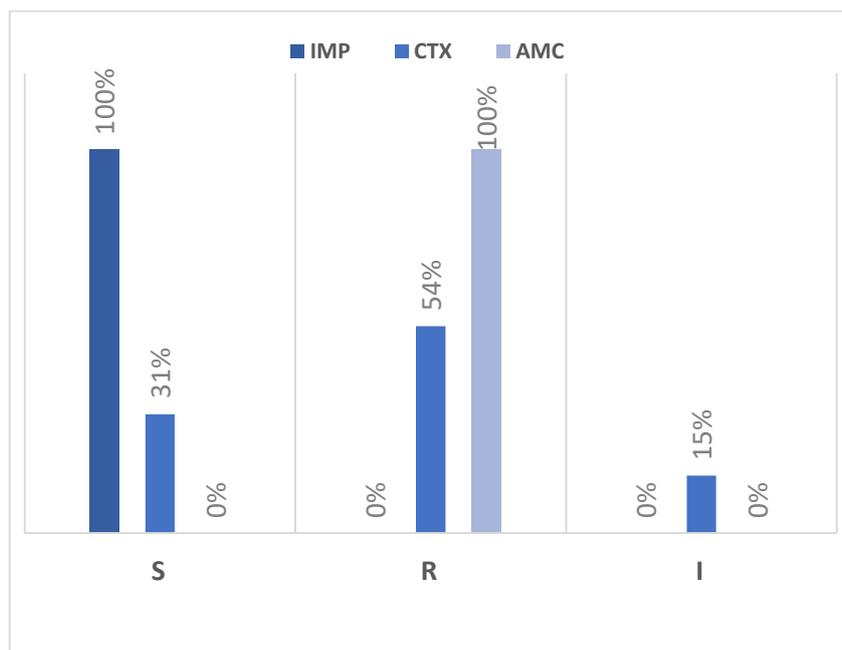
pression de sélection exercée par l'utilisation importante de l'antibiothérapie et la diffusion épidémique des souches résistantes sont les deux facteurs principaux conditionnant cette évolution. (SOUSSY, 2007).

### II.6.1 Antibiorésistance chez *Escherichia coli*

Selon les résultats de l'antibiogramme (Photo 1) et la (Figure 10), nous avons remarqué que 100% des souches d'*E.coli* étaient résistantes à l'AMC, sensibles à l'IMP. Concernant le CTX, 13% des souches se sont avérées sensibles, 54% résistantes et 15% intermédiaires.



**Photo 1 :** Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez *E.coli*.



**Figure 10 :** Profil de l'antibiorésistance d'*E.coli*.

### II.6.2 Antibiorésistance de *Klebsiella pneumoniae*

Après avoir testé la bactérie vis-à-vis des antibiotiques, nous avons constaté que les deux souches (100%) étaient sensibles à l'IMP alors qu'elles étaient résistantes vis-à-vis du CTX et de l'AMC (Photo 2) et (Figure 11).



Photo 2 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez *K.pneumoniae*.

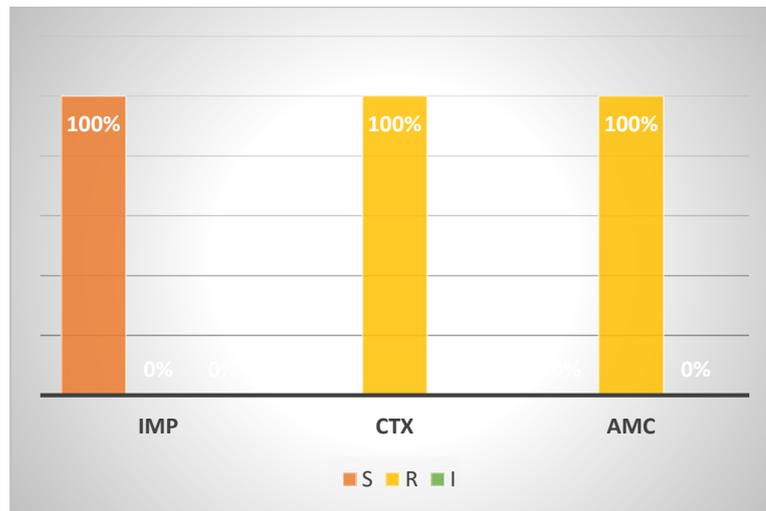


Figure 11 : Profil de l'antibiorésistance de *K.pneumoniae*.

### II.6.3 Antibiorésistance chez *Enterobacter cloacae*

La totalité des souches (100%) se sont révélées sensibles vis-à-vis de l'IMP, résistantes à l'AMC et au CTX d'après la (Photo 3) et la (Figure 12).

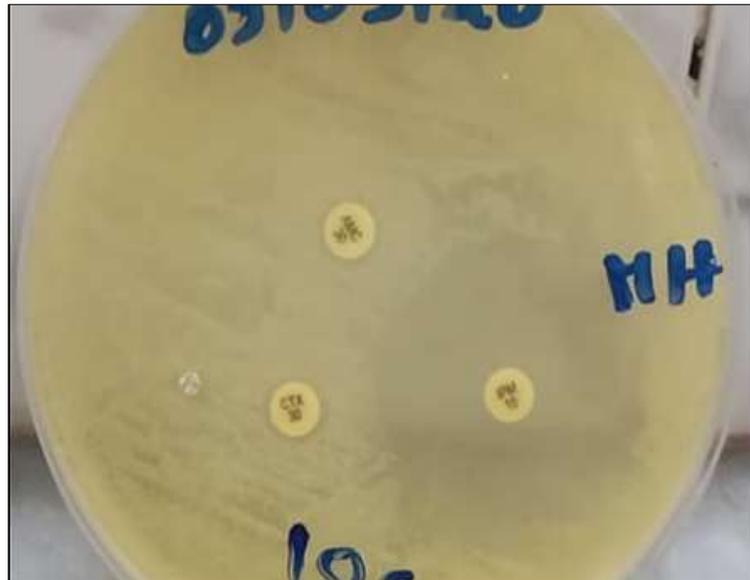


Photo 3 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez *E.cloacae*.

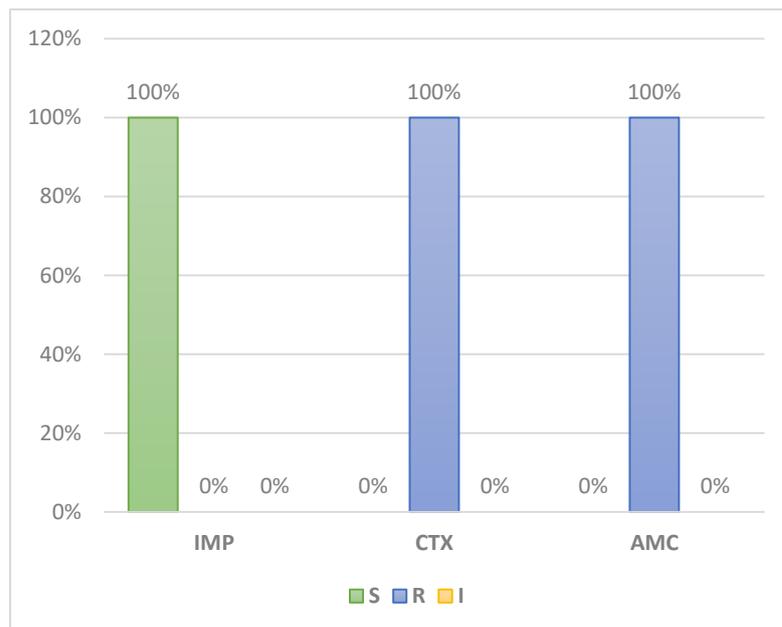


Figure 12 : Profil d'antibiorésistance d'*E.cloacae*.

Selon une étude qui vise à déterminer le profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala (Cameroun) et à analyser leur évolution dans le temps, les résultats ont démontré que 1394 (44%) souches avaient exprimé un phénotype de résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3GR), avec comme principales espèces sont *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* (Ebongue *et al.*, 2015).

Les résultats de cette étude rejoignent ceux de de **Kalambry et al., (2019)**, aucune souche n'était résistante aux carbapénèmes.

De manière générale, les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux  $\beta$ -lactamines : il peut s'agir de troubles de perméabilité pour les antibiotiques, ce qui empêche la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie, de systèmes d'efflux qui permettent d'évacuer les antibiotiques qui auraient pénétré dans la bactérie, ou de modification de la cible bactérienne de l'antibiotique (exemples : les sites de liaison des pénicillines, les penicillin binding proteins (PBP), ce qui empêche la fabrication de la paroi de la bactérie). Mais le plus fréquemment, il s'agit d'enzymes détruisant les  $\beta$ -lactamines, les  $\beta$ -lactamases (**Vora et Auckenthaler, 2009**).

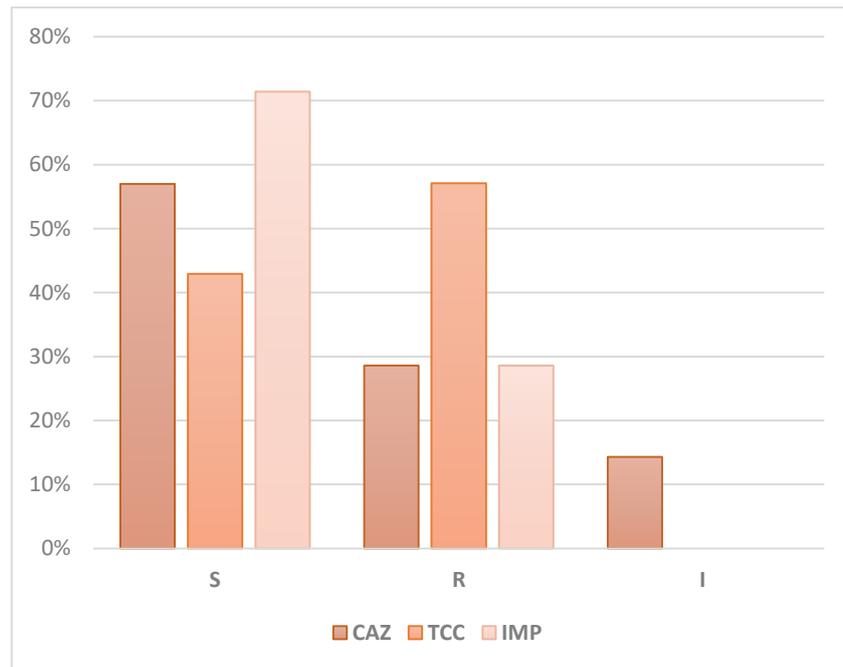
Chez les entérobactéries, la production de  $\beta$ -lactamases est le mécanisme prédominant de résistance aux  $\beta$ -lactamines (**Livermore, 2003**).

#### **II.6.4 Antibiorésistance chez *Pseudomonas aeruginosa***

Selon l'antibiogramme effectué (**Photo 4**) et la (**Figure 13**), il a été constaté que quatre souches étaient sensibles à la CAZ (57%), deux résistantes (28,7%) et une intermédiaire (14,3%). De plus, trois souches ont montré une sensibilité vis-à-vis de la TCC (42,9%) et quatre étaient résistantes (57%). Concernant l'IMP cinq souches (71,4%) étaient sensibles, tandis que deux souches (28,6%) se sont avérées résistantes à cet antibiotique.



**Photo 4** : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés chez *P.aeruginosa*.



**Figure 13 :** Profil de l’antibiorésistance chez *P.aeruginosa*.

Les résultats obtenus rejoignent ceux de L’ENP (2019) où ils ont retrouvé 19,12 % et 13,46 % des souches testées étaient respectivement résistantes à la CAZ et à l’IMP. Ces résultats sont également en concordance avec ceux de Memdouhi et Redafa (2018), dont le taux de résistance indiqué était 51,66 % pour la CAZ et 20,83% pour l’IMP.

En revanche, nous avons obtenu un taux de résistance vis-à-vis de la TCC supérieure à celui de Boutekfa et Rabhi (2019), où ils ont trouvé une faible résistance face à cet ATB. Cette différence pourrait être expliquée par le phénomène de mutation et l’acquisition de résistances

Le rôle de *P.aeruginosa* en tant que pathogène opportuniste, responsable d’épidémies nosocomiales a été largement décrit. En effet, ce germe largement répandu dans l’environnement hospitalier, son manuportage par les patients et le personnel soignant favorise sa dissémination. L’incidence de colonisation par *P.aeruginosa* peut atteindre 60 à 70 % des patients au cours d’un séjour en unité de soins intensifs. Ce germe est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques par 3 mécanismes principaux : la faible perméabilité pariétale, l’inactivation enzymatique et les systèmes de pompes à efflux actif. L’acquisition de nouvelles résistances est facile et rapide, favorisée en milieu hospitalier par une forte concentration bactérienne et une pression de sélection par les antibiotiques, notamment ceux à large spectre. Cette résistance acquise peut toucher toutes les molécules y compris l’imipénème (Boutiba-Ben Boubaker et al., 2003).

## II.6.5 Tests complémentaires

### ➤ Test de synergie (BLSE)

L'image de synergie « Bouchon de champagne » qui résulte d'une interaction positive entre les deux antibiotiques (CTX-AMC) a été observée chez deux souches d'*E.coli* et est illustrée par la (Photo 5).



**Photo 5 :** Image de synergie (BLSE) observée chez *E.coli*.

Nos résultats se corroborent avec ceux du **Rapport public annuel (2019)**, sur l'ensemble des souches d'entérobactéries testées, 15,33 % sont des souches productrices de  $\beta$ -lactamase à spectre étendu (BLSE).

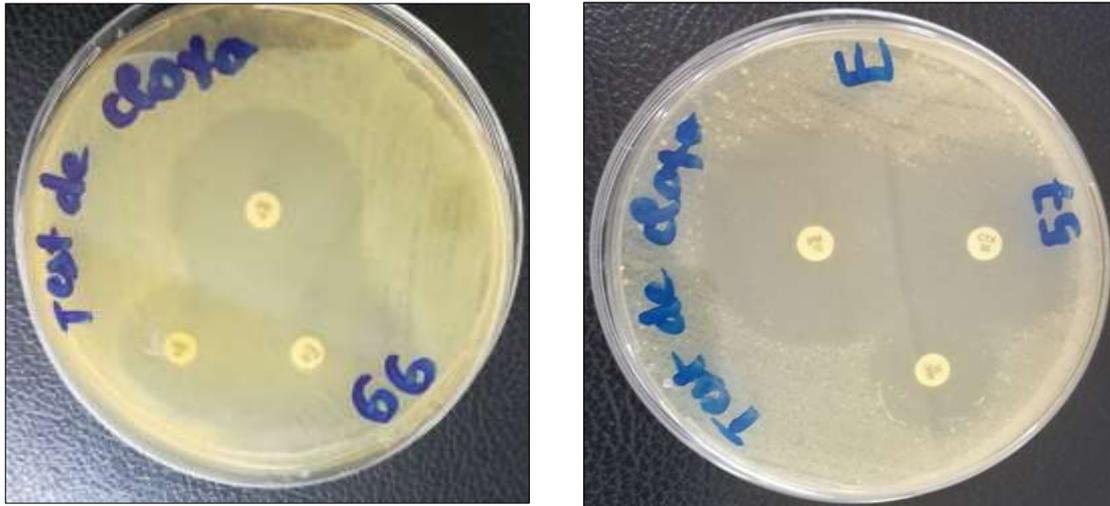
Les BLSE sont des enzymes produites par les bactéries et capables d'hydrolyser les antibiotiques, notamment les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (céfépime ou cefpirome) et l'aztréonam. Elles sont inhibées in vitro par les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, tazobactam et sulbactam). Il s'agit d'un mécanisme de résistance de type plasmidique, et donc transmissible à d'autres bactéries ; aussi sa présence au sein de souches pathogènes fait peser un risque majeur d'inadéquation thérapeutique et donc d'échec thérapeutique (**Schwaber et Carmeli, 2007**).

Au sein des entérobactéries, *K.pneumoniae* et *E.coli* sont les deux espèces les plus fréquemment porteuses de ce mécanisme de résistance (**Jacoby et Munoz-Price, 2005**).

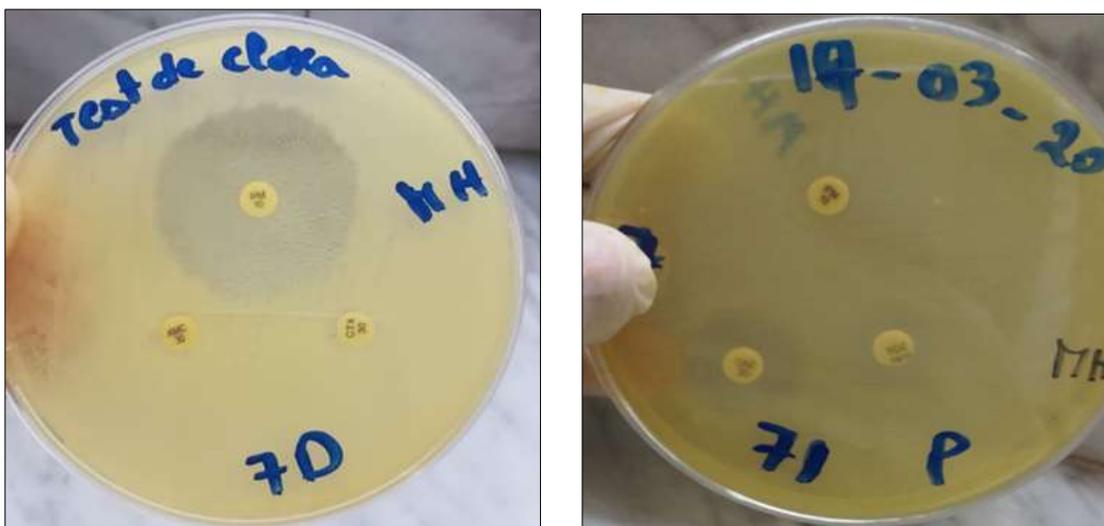
### ➤ Test à la cloxacilline

Ce test nous a permis de révéler les résultats suivants :

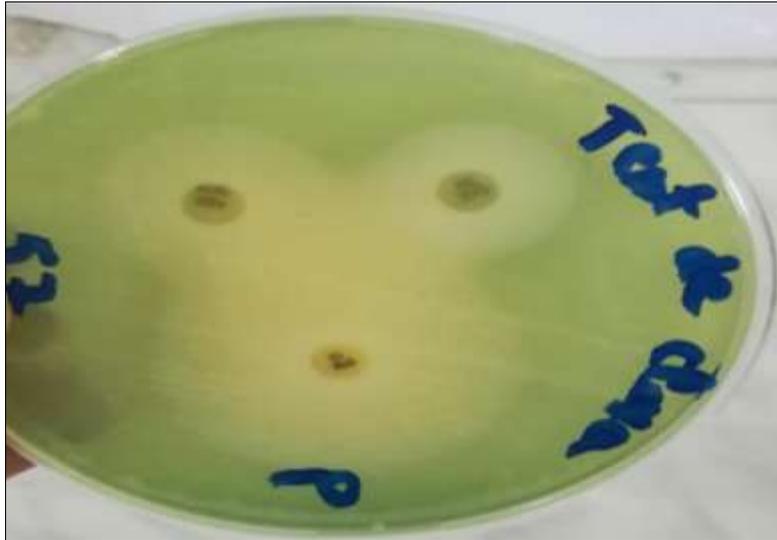
- Deux souches de *K.pneumoniae* productrices de céphalosporinases de bas niveau.
- Huit souches d'*E.coli* productrices de céphalosporinases de bas niveau (**Photo 7**).
- Trois souches d'*E.coli* productrices de céphalosporinases de haut niveau (**Photo 6**).
- Deux souches de *P.aeruginosa* productrices de céphalosporinases de bas niveau (**Photo7**) et deux productrices de céphalosporinases de haut niveau (**Photo 8**).
- Une souche d'*E.cloacae* productrice céphalosporinases de haut niveau (**Photo 6**).



**Photo 6** : Aspect d'une hyperproduction de céphalosporinases de 3ème génération par *E.coli* (57) et *E.cloacae* (66)



**Photo 7** : Aspect d'une production de céphalosporinases de 3ème génération de bas niveau par *E.coli* (70) et *P.aeruginosa* (71).



**Photo 8 :** Aspect d'une hyperproduction de céphalosporinases de 3<sup>ème</sup> génération par *P.aeruginosa*.

Les résultats du test à la cloxacilline sont relatifs à ceux de **Kalambry et al., (2019)**, où ils ont enregistré 11 souches résistantes au céphalosporine à haut niveau. En revanche, d'autres études réalisées en Espagne, la Chine, et la France, ont montré une diffusion des céphalosporinases plasmidiques associés avec les mécanismes de production de  $\beta$ -lactamases à spectre étendue BLSE chez les souches de *K.pneumoniae* (**Guo et al., 2012 ; Hennequin et al., 2012 ; Tobes et al., 2013**).

Dans la classe C des  $\beta$ -lactamases, on retrouve les céphalosporinases AmpC qui sont codées par des gènes qui étaient primitivement situés sur le chromosome de nombreuses bactéries à Gram négatif. Chez ces bactéries, l'expression d'AmpC est inductible. Les gènes codant pour ces enzymes sont aussi présents chez *E.coli*, où ils ne sont pas inductibles. Ces enzymes sont résistantes à l'acide clavulanique (**Philippon et al., 2002**).

Les céphalosporinases plasmidiques sont des  $\beta$ -lactamases de la classe C, avec un phénotype de résistance est identique à celui des céphalosporinases hyperproduites qui se traduit généralement par une résistance aux C3G, associé avec une résistance à l'acide clavulanique et souvent à la céfoxitine, à l'exception de l'imipénème (**Philippon et al., 2002**). Il s'agit d'un phénotype retrouvé principalement chez les bactéries possédant naturellement une céphalosporinase ampC qui peut être alors surexprimée (*E.cloacae*, *E.coli*, autres entérobactéries du même groupe). L'expression de cette céphalosporinase est médiée par Amp-C (**Hanson, 2003**) ; Cependant, La transmission plasmidique de promiscuité dans la famille des entérobactéries entraîne des taux très élevés de céphalosporinases chez *E.coli* qui porte un gène AmpC constitutif est faiblement exprimé (**Bush, 2001**).

Ces enzymes ont été plus récemment individualisées chez des entérobactéries comme *E. coli*, *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *P.mirabilis* ou *Salmonella spp.* Elles sont très proches génétiquement des céphalosporinases AmpC chromosomiques et le transfert des gènes codant les céphalosporinases sur les plasmides implique des éléments génétiques mobiles (**Bush et al., 1995 ; Philippon et al., 2002**).

Malheureusement, peu d'études en Algérie permettent de connaître la prévalence des céphalosporinases de type ampC (**Iabadene et al., 2009**).

#### ➤ **Test de Hodge**

Le test de Hodge nous a permis de confirmer le phénotype de production de carbapénémase chez deux souches de *P.aeruginosa* qui rejoint les travaux de **Boutekfa et Rabhi (2019)**.

*P.aeruginosa* est un germe très connu par son fort potentiel d'adaptation au milieu environnant et par sa rapidité d'acquisition de résistances aux antibiotiques. L'acquisition de résistances aux  $\beta$ -lactamines chez cette bactérie résulte de mutations entraînant une surproduction de la céphalosporinase constitutive AmpC, une surexpression des systèmes d'efflux actif, une diminution de perméabilité membranaire et l'acquisition de gènes exogènes. La dissémination de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu, de métallo-carbapénémases et d'oxacillinases à spectre élargi est un phénomène émergent que le biologiste doit pouvoir rapidement évoquer (**Mérens et al., 2011**).

En France, l'estimation de la mortalité liée à ce phénomène fluctue entre 2 172 et 12 500 décès par an. D'après le **Rapport Annuel (2019)**, deux études construites selon des méthodes différentes ont été réalisées en France. L'étude Burden (**Juin 2015 - InVS devenue Santé publique France**) estime à 158 000 le nombre de personnes ayant été infectées cette année-là par une bactérie multi-résistante en France, dont 12 500 décès.

Une autre étude menée par une équipe INSERM de l'**Institut Pasteur en 2015**, indique des intervalles différents avec une prévalence des infections à bactérie multi-résistante comprise entre 35 375 et 118 218 personnes infectées par an et une mortalité comprise entre 2 172 et 7 731 décès.

En outre, les résultats montrent que la fréquence de ces souches augmente de façon inquiétante et leur réémergence représente un sérieux problème thérapeutique et épidémiologique, d'où la nécessité de la mise en place d'un système de surveillance de l'environnement microbien de l'hôpital et l'application stricte des mesures d'hygiène.

*Conclusion*

Malgré les progrès thérapeutiques, la mortalité due aux infections liées aux Entérobactéries et à *P.aeruginosa* reste élevée d'une part à cause des difficultés thérapeutiques engendrées par ces bactéries et d'autre part, les pathologies associées. Ces infections, très souvent décrites dans un cadre nosocomiale témoignent d'une mauvaise hygiène dans les unités de soins.

Notre étude nous a permis de déterminer la prévalence de *P.aeruginosa* et des entérobactéries dont : *E.coli*, *K.pneumoniae* et *E.cloacae*, ainsi que leurs profils d'antibiorésistance, ces germes ont été isolés au niveau du laboratoire de l'hôpital Brahim Trichine de Blida.

Les résultats obtenus ont montré l'intérêt de ce type d'étude, objectivant une fréquence d'isolement élevée des germes recherchés dans les services enquêtés. Le taux de prévalence d'*E.coli*, *K.pneumoniae*, *E.cloacae* et *P.aeruginosa* était : 18%, 2,7%, 1,4% et 9,7% respectivement. À savoir que les souches d'*E.coli* et de *P.aeruginosa* ont été retrouvées dans les deux services, tandis que les souches de *K.pneumoniae* et d'*E.cloacae* ont été isolées uniquement à partir du service de pneumologie.

Les points de contact avec les patients constituaient les principaux sites de contamination, il s'agissait des lits, literies, tables, poignées de portes, ainsi que les endroits humides tels que les points d'eau notamment pour le germe *P.aeruginosa*.

La résistance aux antibiotiques des germes isolés s'est révélée plus importante, cela peut être liée à la prise en charge des patients impliquant des soins invasifs, à la pression d'antibiotique exercée et à un problème de maîtrise de l'environnement hospitalier. Les souches d'*E.coli* étaient résistantes à l'AMC dans 100% des cas, alors que 15% des souches étaient résistantes vis-à-vis du CTX. De plus, toutes les souches de *K.pneumoniae* et d'*E.cloacae* se sont révélées résistantes à l'AMC et au CTX. Pour le germe *P.aeruginosa*, 28,6 % des souches ont montré une résistance vis-à-vis de la CAZ et de l'IMP et une résistance de 57,1 % des souches à la TCC a été noté.

Concernant La sensibilité des bactéries aux antibiotiques, la totalité des souches d'*E.coli*, *K.pneumoniae* et d'*E.cloacae* étaient sensibles à l'IMP.

Pour les tests complémentaires, le phénotype BLSE a été observé chez deux souches d'*E.coli*, l'hyperproduction de céphalosporinases de troisième génération a été retrouvée chez quatre souches d'entérobactéries et deux *P.aeruginosa*, le test de Hodge s'est avéré positif pour deux souches de *P.aeruginosa*.

Ces résultats nous imposent à proposer d'établir un programme de surveillance au sein de l'hôpital en vue de prévenir et de lutter les infections nosocomiales tout en incluant les recommandations suivantes : Appliquer des mesures d'hygiène rigoureuses notamment l'hygiène des mains, utiliser du matériel médical stérile ou à usage unique, améliorer les méthodes de stérilisation et appliquer les bonnes pratiques de désinfection du matériel, ainsi que la mise en place des protocoles pour la prise en charge des situations de colonisation des patients ou des surfaces à des germes multi-résistants et des situations épidémiques.

Une collaboration étroite, entre cliniciens, microbiologistes et pharmaciens serait nécessaire pour la surveillance de l'écologie des services à risque et doit s'accompagner d'une formation/information de l'ensemble des personnels de santé.

Enfin, aucune étude n'est complètement parfaite. Durant toute la période de notre stage pratique nous avons rencontré des contraintes que ce soit sur le plan théorique ou pratique, en perspective, nous proposons :

- D'élargir la période de stage.
- De réaliser d'autres prélèvements dans d'autres services de l'hôpital, ainsi d'augmenter le nombre.
- D'optimiser les méthodes d'isolement en utilisant des milieux de culture plus sélectifs.
- D'effectuer des gammes de concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques.
- Une caractérisation génotypique des mécanismes de résistance aux antibiotiques.

# *Références bibliographiques*

**A**

- **Abraham, D. (2018).** Identification des souches d'*Escherichia coli* dans les selles en rapport avec la malnutrition à DIORO .Thèse de doctorat en Pharmacie .BAMAKO : université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako. 5P.
- **Achkour, Z. (2012).** Emergence de la résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif.
- **Allen, HK., Donato, J., Wang, HH., et al. (2010).** Call of the wild : antibiotic resistance genes in natural environments. Nat Rev Microbiol 8:251–9
- **Ameziane, K., Rosello, J., Castella, A., Sekkat, C., Terzaki, S., Dhidah, L., Abdelmoumen ,T., Fabry J. et les membres du réseau NosoMed. (2010).** Prevalence of nosocomial infection in 27 hospitals in Mediteranean region. East meditor health 16 : 1070-1078.and DHA-1  $\beta$ -lactamases and 16S rRNA methylase ArmA in clinical isolates of *Klebsiella* Antimicrob Chemother. 52: 2-4.
- **Avril, J-L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. (2000).** Bactériologie clinique : Ellipses Edition Marketing SA.nitaire.

**B**

- **Barbut, F., Neyme, D. (2006).**Les difficultés d'interprétation des contrôles microbiologiques environnementaux. Revue Francophone des Laboratoires. 382P.
- **Barir, O. et Ghilani, M.** « Le Profil de résistance aux B-lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* d'origine Hospitalière ». Mémoire de master : Biochimie et biologie moléculaire, Biskra : Université Mohamed khider-Biskra.2011
- **Berrazeg, M., Diene, S.M., Drissi, M., Kempf, M., Richet, H., Landraud, L., and Rolain, J.L. (2013).** Biotyping of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from France and Algeria using MALDI-TOF MS. PLoS.One. 8 :e61428.
- **Bertrand, X., Slekovec, C., Cholley, P., & Talon, D. (2011).** Épidémiologie des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Revue Francophone Des Laboratoires, 2011(435), 35–40. doi:10.1016/s1773-035x(11)71100-5
- **Birgand, G., Lucet, JC. (2013).** Revue Francophone des Laboratoires Juin 2013 Dépistage des BMR RFL mai 2013. Politique de dépistage des BMR : quand et qui faut-il dépister ? , n ° 4, volume XXII;
- **Bloemendaal, AL., Fluit, AC., Jansen, WM., et al. (2009)** .Acquisition and cross-transmission of *Staphylococcus aureus* in European intensive care units. Infect Control Hosp Epidemiol 30:117–24.

- **Boutekfa, Y., Rabhi, S. (2019).** Isolement, identification et profil d'antibiorésistance de *P.aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* au niveau de l'hôpital de Boufarik. Mémoire de master
- **Boutiba-Ben Boubaker, I., Boukadida, J., Triki, O., Hannachi, N., et Ben Redjeb, S. (2003).**Épidémie d'infections urinaires nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* multirésistante aux antibiotiques. *Pathologie Biologie*, 51 (3), 147-150. Doi : 10.1016 / s0369-8114 (03) 00040-3
- **Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... Dakka, N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*. Doi : 10.1007/s10298-017-1118-z
- **Bratu, S., Landman, D., Haag, R., Ricco, R., Eramao, A., Alam, M., et Qual, J., (2005)** . Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York city. *New treat to our antibiotic armamentarium* .*Arch intern* ; 165 (12) : 1430-5.
- **Bush, K. 2001.** New beta-lactamases in gram-negative bacteria : diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis*. 32: 1085-1089.
- **Bush, K., Jacoby, G.A., and Medeiros, A.A. (1995).** A functional classification scheme for  $\beta$ - lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother*. 39(6) :1211-1233.

### C

- **Cady, A. (2006).** Etude génétique de la résistance aux carbapénèmes chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Étude Université de santes faculté de pharmacie.2006.
- **Cavallo, j-d., antoniotti, g. et al., (2002).** Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé. Franc
- **Centre Hospitalier Comminges Pyrénées. (2018).** Maitrise du risque infectieux à l'hôpital. [En ligne]. <http://www.ch-saintgaudens.fr/chcp17/index.php/fr/maitrise-du-risque-infectieux-a-l-hopital/les-infections-nosocomiales>.
- **Chaker, H. (2012).** « Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane ». Thèse de doctorat : Grenoble : Université de Grenoble : Science agricole.2012.
- **Chefson-Girault, C. (2016).** Le risque biologique à l'hôpital et après : modes d'exposition aux agents biologiques à domicile, survie des pathogènes dans l'environnement et sur les

surfaces, bactéries multi-résistantes. Archives Des Maladies Professionnelles et de l'Environnement, 77(3), 405–406

- **Cristian, C. (2008).** Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Ed. TEC & DOC Lavoisier, Paris. p.76 -86, 257.

**D**

- **Déguénonvo<sup>1</sup>, L., Traoré, K., Dia Badiane<sup>1</sup>, N.M., Ka, R., Cissoko<sup>1</sup>, Y., Diouf<sup>1</sup>, A., Lakhe<sup>1</sup>, N.A., Ka<sup>1</sup>, D., Diop<sup>1</sup>, D.A., Cisse<sup>1</sup>, VMP., Manga<sup>1</sup>, M.N., Ndour<sup>1</sup>, C.T., Soumaré<sup>1</sup> M., Sow<sup>3</sup> A.I, Seydi<sup>1</sup> M. (2015).** Results of a survey incidence of the cases of nosocomial infections with multidrug resistant bacteria in a hospital center in Dakar (Senegal). Revue Malienne d'Infectiologie et de Microbiologie 2015, Tome 5
- **Delarras, C. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire. Lavoisier. paris : poiteaux Celine, 2014, pg 233-559-560-562-683-688-375. ISBN : 978-2-7430-1565-7.
- **Delarras, C.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Tec & Doc Lavoisier. 2007 ; 476.
- **Denis F., Ploy C. M., Martin C., Bingen E. et Quentin R. (2007).** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed. Elsevier Masson SAS. p.335-401.
- **Denis, F., Poly, M.C., Martin, C., Bingen, E. et Quentin, R.** Bactériologie médicale, technique usuelles. Masson, Cedex. 2007 ; 333-335.
- **Doyle, MP. (2006).** Antimicrobial resistance : implications for the food system. Compr Rev Food Sci Food Saf 5:71–137
- **Ducel, G., Fabry, J., Nicolle, L. (2002).** Prevention of Hospital-acquired infections : a practical guide (2nd ed). 2002, WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12

**E**

- **Ebongue, C. O., Tsiatok, 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, 20. doi:10.11604/pamj.2015.20.227.4770
- **Enquête national de prévalence. (2005).** en Algérie (rapport interne). Algérie, MSP DRH 2005.
- **Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales. (2017).** France, santé publique France
- **Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et traitement anti infectieux en établissement de santé. (2019).** France, santé publique France

- **Espinal, P., Marti, S., Vila, J. (2012).** Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Hosp Infect* 2012 ; 80:56–60.

*F*

- **FAUCHER, J-L., Avril, J-L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. pp :199,214-239,244-249-252-260-298-306-307.
- **Fauchère, J.L., et Avril, J.L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ellipses Edition Marketing. Paris. p 250-260.
- **Fraser, S. L., Arnett, M. et Sinave, C.P. (2010).** *Enterobacter* Infections. eMedicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Contributor Information and Disclosures.
- **Funtefria, DB., Ferreira, AE., Corcao, G. (2011).** Antibiotic –resistant *P.aeruginosa* from hospital waste water and superficial water. Are they genetically related ? *Environ mange* ; 92 : 250-5.

*G*

- **Galy, E., Verdeil, X. (2017).** Entretien des locaux dans les établissements de santé et établissements médico-sociaux. Recommandations de bonnes pratiques. CPIAS Occitanie/CPIAS Nouvelle Aquitaine. P 14
- **Geier, M., & Moriconi, M. (2018).** Infections à entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu dans la pratique courante : étude non-interventionnelle portant sur 74 patients. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 48(4), S47. doi:10.1016/j.medmal.2018.04.123
- **Grass, G., Rensing, C., Solioz, M. (2011).** Metallic copper as an antimicrobial surface. *Appl Environ Microbiol* 2011 ; 77:1541–7.
- **Guillaume, PY. (2004).** La microbiologie. Les tests enzymatiques, antibiotiques et immunologiques.
- **Guo, Q., Wang, P., Ma, Y., Yang, Y., Ye, X., Wang, M. (2012).** Co-production of SFO-1 and DHA-1  $\beta$ -lactamases and 16S rRNA methylase ArmA in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* 67(10): 2361-2366.

*H*

- **Hanson, N.D. 2003.** AmpC beta-lactamases : what do we need to know for the future? *J Antimicrob Chemother.* 52: 2-4.

- **Hart, C.A. (2006).** *Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter and Serratia* spp. Principles and practice of Clinical Bacteriology. England, UK : John Wiley and Sons Ltd. 2nd ed : 377-386.
- **Hartemann, P. (2019).** Le prélèvement bactériologique des surfaces : que mesure-t-on réellement ? Revue Francophone Des Laboratoires, 2019 (516), 49–54. Doi:10.1016/s1773-035x(19)30492-7
- **Hennequin, C., Robin, F., Cabrolier, N., Bonnet, R., and Forestier, C. (2012).** Characterization of a DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* strain involved in an outbreak and role of the AmpR regulator in virulence. Antimicrob. Agents Chemother. 56(1) : 288-294.
- **Hennequin, C., Forestier, C. (2007).** Influence of capsule and extended-spectrum bêta-lactamases encoding plasmids upon *Klebsiella pneumoniae* adhesion. Research in Microbiology 158(2007) 339-347.
- **Hirai, Y. (1991).** Survival of bacteria under dry conditions from a view-point of nosocomial infection. J Hosp Infect 1991 ; 19:191–200.
- **Hoang, S., Georget, A., Asselineau, J., Venier, A.-G., Leroyer, C., Rogues, A. M., & Thiébaud, R. (2018).** Risk factors for colonization and infection by *Pseudomonas aeruginosa* in patients hospitalized in intensive care units in France. PLOS ONE, 13(3), e0193300. doi:10.1371/journal.pone.0193300

*I*

- **Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Alouache, S., Verdet, C., Bakour, R., and Arlet, G. (2009).** Prevalence of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases among *Enterobacteriaceae* in Algiers hospitals. Int. J. Antimicrob. Agents. 34: 340-342.

*J*

- **Jacoby, G.A., and Munoz-Price, L.S. (2005).** The new  $\beta$ -lactamases. N Engl J Med. 352: 380- 391
- **Jacque, B. (2001)** .Le technicien d'analyse biologique. pp : 870,881-883-884-886,891-1150-1157,1161.
- **Jaffel, S., Mahdi, B., Thabet, L., & Boussofara, M. (2017).** Les infections nosocomiales chez les traumatisés en réanimation. Médecine et Maladies Infectieuses, 47(4), S77. doi:10.1016/j.medmal.2017.03.188
- **JAN, V.** Bactériologie(enligne).p54.disponiblesur <<https://www.kuleuven.be/vesaliusonline/UNIKEN%20KONGO.doc> > [consulté le 12/04/2020].

- **Julian, D., Dorothy, D. (2010).** Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 74:417–33

*Ƙ*

- **Kalambry, AC1., Gaudré, N., Dramé, BSI., Poudiougou, A., Kassogué, A1., Koné, H., Diarra, A1. (2019).** Antibiotic resistance profile of enterobacteria isolated from urinary samples at Hospital Mali. *Rev Mali Infect Microbiol* 2019, Tome 14
- **Kassama, M., Hamaidi, S. (2013).** Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à l'établissement hospitalier spécialisé de Constantine. Université constantine1. 62p.
- **Keita, A.K., Doumbouya, N., Saliou Sow, M., Konaté, B., Dabo, Y., Panzo, D.A. et Keita, M. (2016).** Prévalence des infections nosocomiales dans deux hôpitaux de Conakry (Guinée). *Afrique, santé publique & développement*. Vol 28 (2) DOI : 10.3917/spub.162.0251
- **Khayar, Y. (2011).** Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline acide clavulanique, l'imipénème et l'ertapénème [thèse]. Rabat : Université Mohammed V de Rabat, 2011.
- **Kollef, MH. (2005).** Gram-negative bacterial resistance : evolving patterns and treatment paradigms. *Clin Infect Dis* 2005 ; 40(Suppl 2) :S85-8
- **Kramer, A., Schwebke, I., Kampf, G. (2006).** How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces ? A systematic review. *BMC Infect Dis* 2006 ; 6:130.

*Ɨ*

- **Lamnaouer, D.(2002).**Détermination des propriétés biologiques (activités pharmacologiques et toxicologiques) des plantes médicinales et aromatiques du PNT. Programme de l'UICN en Afrique du Nord : Phase III. Etat d'avancement. p 3-7.
- **Lasme-Guillao, E., Amon-Tanoh-Dick, F., GBonon, V., Akaffou, E. A., Kabas, R., & Faye-Kette, H. (2011).** Infections à *Klebsiella pneumonia* et *Enterobacter cloacae* en néonatalogie à Abidjan. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 24(3), 118–124. doi:10.1016/j.jpp.2011.03.002
- **Liassine, N.** Problème des pathogènes Gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Schweiz Med Wochenschr*2000 ; 130(50) : 1930-1936.
- **Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009).** Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* : Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally

Encoded Resistance Mechanisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(4), 582–610.  
doi:10.1128/cmr.00040-09

- **Livermore, DM. 2003.** “Bacterial Resistance : Origins, Epidemiology, and Impact,” An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 36(1) : 11–23.
- **Lucet, J.-C., & Birgand, G. (2011).** Les bacilles à Gram négatif multi-résistants : où va-t-on ? *Journal Des Anti-Infectieux*, 13(2), 122–132. doi:10.1016/j.antinf.2011.03.006
- **Lukuke, H. M., Kasamba, E., Mahuridi, A., Nlandu, R. N., Narufumi, S., Mukengeshayi, A. N., ... Kaj, F. M. (2017).** L’incidence des infections nosocomiales

*M*

- **Makhlouf ,F., Farrah, A., Moussous, S., Bensersa, H., Bouanane, S., Ammar-khoudja, H., Bouras ,S., Boukhatem, F. , Nouraout ,K., Boukhamkhem, F., Lemdani,N., Djoudi,F., Dekkar,N. (2017).** Prévalence des infections nosocomiales au niveau du chu BAB EL OUED, ALGER. *Journal d’Épidémiologie et de Santé Publique*, JESP N°17. Oran, mars 2017
- **Maltezou, H. C., E. Papacharalambous, K. Tryfinopoulou, L. Ftika, A. Maragos, G. Kyriakeli, P. Katerelos, C. Trakateli, M. Polemis, E. Roilides, A. Vatopoulos, and N. Nikolaidis. (2013).** Outbreak of pan-susceptible *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit. *Scand.J.Infect.Dis.* 45:872-877.
- **Meftah, N., Triki, M., Hdidane, Y., Cherif, H., Yangui, F., Masmoudi, M., & Charfi, R. (2020).** Particularités de l’infection nosocomiale dans un service de pneumologie. *Revue Des Maladies Respiratoires Actualités*, 12(1), 243–244. doi:10.1016/j.rmra.2019.11.544
- **Memdouhi, S., Reddaf, N. (2018).** Les infections à *P.aeruginosa* au CHU Constantine. Mémoire de master.
- **Mérens, A., Delacour, H., Plésiat, P., Cavallo, J.-D., et Jeannot, K. (2011).** *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2011 (435), 49–62. Doi : 10.1016 / s1773-035x (11) 71102-9
- **Merzougui, L., Barhoumi, T., Guizani, T., Barhoumi, H., Hannachi, H., Turki, E., &Majdoub, W. (2018).** Les infections nosocomiales en milieu de réanimation : incidence annuelle et aspects cliniques au Service de Réanimation Polyvalente, Kairouan, Tunisie, 2014. *Pan African Medical Journal*, 30. doi:10.11604/pamj.2018.30.143.13824

- **Meziani, M. (2012).** Mémoire de Magistère, Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas, Université Mentouri Constantine. p.3.
- **Monnet, T. (2011)** .Les infection nosocomiales : L'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause. Thèse de doctorat en Pharmacie .Grenoble : Université Joseph Fourier. 21p.

*N*

- **Nauciel C-M. (2000).** Bactériologie médicale .pp : 83-86-65,68-125-203.

*O*

- **Oulymata, G. (2014).** Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles a Gram négatif. Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie.Université cheikh anta diop de dakar faculté de médecine et de pharmacie.
- **Oxford, J., Berezin, EN., Courvalin, P., Dwyer, DE., Exner, M., Jana, LA.,et al. (2014).**The survival of influenza A(H1N1) pdm09 virus on 4 household surfaces. Am J Infect Control 2014 ; 42:423–5.

*P*

- **Pagotto, FJ., Nazarowec-White, M., Bidawid, S., and Farber, J.M. (2003).** *Enterobacter sakazakii* : infectivity and enterotoxin production in vitro and in vivo. J Food Protect. 66 (3) : 370-375 P
- **Paterson, D., Bonomo, R. (2005).** Extended-spectrum beta lactamases : A clinical update.Chn MicrobiolRev ; 18:657-86 P.
- **Philippon, A., Arlet, G., and Jacoby, G.A. (2002).** Plasmid-determined AmpC-type  $\beta$ -lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 46: 1-11.
- **Poole, K. (2004).** Efflux-mediated multiresistance in Gram-négative bacteria. Clin Microbiol Infect.126 Pp.
- **Pouneh, K. (2009).** « Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa* : évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing ». Thèse de doctorat: Microbiologie : Université de Toulouse. 2009.

*R*

- **Rapport public annuel. (2019).** La politique des préventions associées aux soins Cour des comptes - www.ccomptes.fr - @Courdescomptes

- **Rouillon,S., Ourdanabia,S., Jamart,S., Hernandez,C., et Meunier,O.** Étude de l'efficacité d'un produit détergent désinfectant pour sols et surfaces sur les souches bactériennes isolées à partir de l'environnement hospitalier. *Pathologie Biologie* .2006. 54 325–330.

*S*

- **Saïdani, M., Boutiba, I., Ghazzi, R., Kammoun, A., & Ben Redjeb, S. (2006).** Profil bactériologique des bactériémies à germes multirésistants à l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 36(3), 163–166. doi:10.1016/j.medmal.2005.06.010
- **Saouide el ayne, N., Echchelh, A., Chaouch, A., Auajjar, N., Hamama, S., Soulaymani, A. (2014).** Rôle de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales surveillance de la flore des surfaces a l'hôpital el IDRISSI de Kenitra - Maroc. *European Scientific Journal.*, 10(9) 238-247
- **Schwaber, M.J, and Carmeli, Y. (2007).** Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in *Enterobacteriaceae* bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 60: 913-920.
- **Souley, L., et Moustafa, F.S. (2002).** Sensibilité et évolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques à l'hôpital du point G .Université de BAMAKO Thèse présenté pour obtenir le grade de docteur en pharmacie. 2002 ; 95.
- **SOUSSY, CJ, (2007).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. p : 21-46
- **Spelberg, B. (2011).** The antibiotic crisis can we revers 65 years of failed stewardship. *Arch intern Med* ; 171 (12) :1080-1.
- **Springman, AC., Lacher, DW., Milton, GWN., et al. (2009)** .Selection, recombination, and virulence gene diversity among group B streptococcal genotypes. *J Bacteriol* 191:5419–27

*T*

- **Tobes, R., Codoñer, F.M., López-Camacho, E., Salanueva, I.J., Manrique, M., Brozynska, M.,Gómez-Gilc, R., Martínez-Blanchb, J.F., Álvarez-Tejadod, M., Parejaa, E., and Mingorancec,J. (2013).** Genome Sequence of *Klebsiella pneumoniae* KpQ3, a DHA-1  $\beta$ -Lactamase-Producing Nosocomial Isolate. *Genome Announc.* 1(1) : e00167-12.

γ

- **Venier, AG., Leroyer, C., Slekovec, C., et al. (2014).** Risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* acquisition in intensive care units : a prospective multicentre study. J Hosp Infect 88:103–8.
- **Vora, S., and Auckenthaler, R. (2009).** Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique?. Rev Med Suisse. 5: 1991-1994.

# *Annexes*

## I. Matériel non biologique utilisés

### I.1 Les verreries

- ❖ Lames et lamelles
- ❖ Pipettes Pasteur
- ❖ Tubes à essai stériles
- ❖ Ecouvillons
- ❖ Boîtes de Pétri
- ❖ Portoir
- ❖ Pied à coulisse

### I.2 Les appareillages

- ❖ Etuve
- ❖ Bec benzène
- ❖ Microscope optique

### I.3 Les milieux de culture

Gélose nutritif	
Composition g/L	Photo originale
Peptone .....10	
Extrait de viande .....3	
Extrait de levure .....3	
Agar .....18	
Chlorure de sodium .....5	
<b>PH (25°C) final = 7.3 ±0.2</b>	

Gélose Hektoen	
Composition g/L	Photo originale
Peptone pepsique du viande.....15	
Extrait de viande.....3	
Extrait de levure.....3	
Chlorure de sodium.....5	
Sels biliaries.....4	
Lactose.....12	
Salicine.....2	
Saccharose.....12	
Fuchsine acide.....0.1	
Bleu de Bromothymol.....0.065	
Agar.....18	
<b>PH (25°C) final = 7.5 ±0.2</b>	

Gélose Mueller Hinton	
Composition g/L	Photo originale
Extrait de viande.....3	
Hydrolysate de caséine.....17.5	
Amidon.....1.5	
Agar.....10	
<b>PH (25°C) final = 7.4 ±0.2</b>	

Milieu TSI		
Composition g /L	Photo originale	
Extrait de viande.....		
Extrait de levure.....		
Peptone.....		
Chlorure de sodium.....		
Lactose.....		
Saccharose.....		
Glucose.....		
Sulfate ferreux ammoniacal.....		
Rouge de phénol.....		
Thiosulfate de sodium anhydre.....		
Agar.....		
<b>PH (25°C) final = 7.4 ±0.2</b>		

Bouillon nutritif B.N	
Composition g/L	Photo originale
Extrait de levure.....	
Tryptone.....	
Glucose.....	
Dihydrogéo phosphate de potassium.....	
Chlorure de potassium.....	
Chlorure de calcium.....	
Sulfate de magnésium.....	
Chlorure ferrique.....	
Sulfate de manganèse.....	
Vert de bromocrésol.....	
<b>PH (25°C) final = 5.5 ±0.2</b>	

Citrate de Simmons	
Composition g/L	Photo originale
Citrate de sodium.....2	
Chlorure de sodium.....5	
Sulfate de magnésium anhydre.....0.14	
Dihydrogénophosphate d'ammonium.....1	
Monohydrogénophosphate de potassium.....1	
Bleu de bromothymol.....0.08	
Agar.....12	
<b>PH (25°C) final = 6.8 ±0.2</b>	

#### I.4 Galerie biochimique

- ✓ **Galerie classique**
- ❖ Citrate de Simmons
- ❖ TSI (Triple Sugar Iron)
  
- ✓ **Galerie miniaturisée API 20E**



Galerie miniaturisée API 20E (Photo originale).

#### I.5 Les réactifs

- ❖ Voges-Proskauer 1 (VP1)
- ❖ Voges-Proskauer 2 (VP2)
- ❖ Tryptophane désaminase (TDA)

- ❖ Kowacs

### I.6 Les solutions

- ❖ L'eau oxygénée
- ❖ L'eau physiologique
- ❖ L'eau distillée
- ❖ L'huile à immersion
- ❖ L'huile de vaseline
- ❖ Lugol
- ❖ Alcool

### I.7 Les colorants

- ❖ Fuschine
- ❖ Violet de gentiane

### I.8 Les disques

- ❖ Disques d'antibiotiques
- ❖ Disques d'oxydase
- ❖ La cloxacilline 500 mg

## II. Les Tableaux

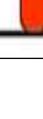
### II.1 Tableau des caractères biochimiques de quelques Entérobactéries

	<i>Escherishi a</i>	<i>Citrob acter</i>	<i>Enterobact er</i>	<i>Klebsie lla</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmon ella</i>	<i>Shige lla</i>	<i>Prote us</i>	<i>Providen cia</i>	<i>Yersi nia</i>
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LAC	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
CIT	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mob	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
H2S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

(Kassama et Hamadi, 2013)



## II.4 Tableau de lecture de la galerie API 20E

<b>TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E</b>						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révéléateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
VP	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
GEL	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO <sub>2</sub> /N <sub>2</sub>	Nitrates (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

III.5 Tableau de lecture de l'antibiogramme des *Entérobactéries*

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires	
		R	I	S	R	I	S		
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline  Les breakpoints, des céphalosporines et de l'aztreonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : ceftriaxone (2g toutes les 8h), cefotaxime (1g toutes les 8h), ceftriaxone (1g toutes les 24h) ... Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés. A souligner cependant, que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).	
Aminocycline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 - 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4		
Cefazoline	30µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2		
Cefalotine	30µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8		
Cefoxétine	30µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8		
Cefotaxime	30µg	≤ 22	23 - 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1		
Ceftriaxone	30µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1		
Imipénème/Méropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1		
Ertapénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 1	0,5	≤ 0,25		
Amikacine	30µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16		Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h, Méropénème : 1g toutes les 8h. La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4		
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 - 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16		
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1		
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8		
Colistine	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....		
Furanes	300µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32		
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64		
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 4/76	.....	≤ 2/38		

\* Tableau extrait du Document M100 - S21, Vol. 31, n°1, 2011, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-first international supplement.  
\*\* Extrait des recommandations 2011 du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

III.6 Tableau de lecture de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*

160 <http://www.santepz/iam>

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

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcilline	75 µg	14	---	15	128	---	64	<p>Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'AZM (voir chapitre tests complémentaires).</p> <p>L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises. Cefazidime et Aztreonam : 1g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h.</p> <p>Il est recommandé d'informer les infectiologues, pharmaciens, comité des antibiotiques et CLIN de l'hôpital, de ces nouveaux critères d'interprétation.</p> <p>Consulter le clinicien, en particulier pour les patients spécifiques.</p> <p>En cas de diamètre R ou I, détection de carbapénémases (voir recherches complémentaires).</p>
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10µg	14	---	15	128/2	---	64/2	
Pipéracilline	100 µg	17	---	18	128	---	64	
Cefazidime	30 µg	14	15 - 17	18	32	16	8	
Aztreonam	30 µg	15	16 - 21	22	32	16	8	
Imipénème	10 µg	13	14 - 15	16	16	8	4	
Amikacine	30 µg	14	15 - 16	17	64	32	16	
Gentamicine	10 µg	12	13 - 14	15	16	8	4	
Netilmicine	30 µg	12	13 - 14	15	32	16	8	
Tobramycine	10 µg	12	13 - 14	15	16	8	4	
Ciprofloxacine	5 µg	15	16 - 20	21	4	2	1	
Lévofloxacine	5 µg	13	14 - 16	17	8	4	2	
Fosfomycine **	50µg + 50µg G6P	< 14	-----	≥ 14	> 32	----	≤ 32	Tester avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 <sup>ème</sup> - ne pas prendre en compte la présence de colonies dans la zone d'inhibition
Réampicéline **	30 µg	< 14	14 - 18	≥ 19	> 16	16-8	≤ 4	Tester avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 <sup>ème</sup>
Colistine	10µg	10	-----	11	8	4	2	

\* Tableau extrait du Document M100 - S21 - Vol 31, n°1, 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-first informational supplement.

\*\* Erreurs des recommandations 2011 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 2011

## III.7 Tableau des résultats obtenus dans le service de médecine interne (diabétologie)

N°	Endroit de prélèvement	Code	Résultat de culture d'enrichissement	Culture sur GN	Culture sur HK	Profil de résistance	Galerie Api
1	LIT	1A	+	<i>Staphylococcus sp</i>	/		
2	LIT	1B	+	<i>Staphylococcus sp</i>	/		
3	LIT	1C	+	BGN + <i>Bacillus</i>	<i>E.coli</i>	AMC : R CTX : R IMP : S	<i>E.coli</i>
4	LIT	1D	+	<i>Staphylococcus sp</i>	/		
5	LIT	1E	+	<i>Staphylococcus sp</i> + <i>Bacillus</i>	/		
6	LIT	1F	+	<i>Staphylococcus sp</i> + <i>Bacillus</i>	/		
7	LIT	1G	-	/	/		
8	LIT	1H	-	/	/		
9	LIT	1I	-	/	/		
10	LIT	1J	-	/	/		
11	TABLE	2A	+	<i>Bacillus</i>	/		
12	TABLE	2B	+	<i>Bacillus</i>	/		
13	TABLE	2C	+	<i>Bacillus</i> + <i>Enterococcus</i>	/		
14	TABLE	2D	-	/	/		
15	TABLE	2E	-	/	/		
16	POTENCE	3A	-	/	/		
17	POTENCE	3B	-	/	/		
18	POTENCE	3C	-	/	/		
19	POTENCE	3D	-	/	/		
20	PORTE	4A	+	<i>Bacillus</i>	/		
21	PORTE	4B	+	BGN	<i>E.coli</i>	AMC : R CTX : S IMP : S	<i>E.coli</i>
22	PORTE	4C	-	/	/		
23	PORTE	4D	-	/	/		
24	FENETRE	5A	-	/	/		
25	FENETRE	5B	-	/	/		
26	MUR	6A	-	/	/		
27	MUR	6B	+	<i>Bacillus</i>	/		
28	MUR	6C	-	/	/		

29	POINT D'EAU	7A	+	<i>Pseudomonas</i> + BGN	<i>Pseudomonas</i> + <i>E.coli</i>	AMC : R CTX : S IMP : S CAZ : S TCC : S IMP : S	<i>E.coli</i>
30	POINT D'EAU	7B	+	BGN	<i>E.coli</i>	AMC : R CTX : I IMP : S	<i>E.coli</i>
31	POINT D'EAU	7C	+	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	CAZ : S TCC : S IMP : S TIC : R	
32	POINT D'EAU	7D	+	BGN	<i>E.coli</i>	AMC : R CTX : R IMP : S	<i>E.coli</i>
33	POINT D'EAU	7E	-	/	/		
34	POINT D'EAU	7F	-	/	/		
35	CHARIOT	8A	-	/	/		
36	CHARIOT	8B	-	/	/		
37	ASPIRATEUR	9	+	<i>Bacillus</i>	/		
38	LITERIE	10A	-	/	/		
39	LITERIE	10B	-	/	/		
40	LITERIE	10 C	+	<i>Bacillus</i> + BGN + <i>Pseudomonas</i>	<i>E.coli</i> + <i>Pseudomonas</i>	AMC : R CTX : R IMP : S CAZ : S TCC : S IMP : S	<i>E.coli</i>

## III.8 Tableau des résultats obtenus dans le service de pneumologie

N°	Endroit de prélèvement	Code	Résultat de la culture d'enrichissement	Culture sur GN	Culture sur HK	Profil de résistance	Galerie API
41	LIT	1A	+	<i>Staphylococcus sp</i> + <i>Enterococcus</i> + <i>Streptococcus</i>	/	/	/
42	LIT	1B	+	<i>Staphylococcus sp</i>	/	/	/
43	LIT	1C	+	<i>Enterococcus</i> + <i>Streptococcus</i>	/	/	/
44	LIT	1D	+	<i>Staphylococcus sp</i> + <i>Enterococcus</i> + <i>Streptococcus</i> + BGN	<i>E.coli</i>	IMP : S AMC : R CTX : R	<i>E.coli</i>

45	TABLE	2A	-	/	/	/	/
46	TABLE	2B	+	<i>Bacillus + Streptococcus</i>	<i>K.p</i>	IMP : S AMC : R CTX : R	
47	TABLE	2C	-	/	/	/	/
48	POTENCE	3A	-	/	/	/	/
49	POTENCE	3B	-	/	/	/	/
50	POIGNER DE PORTE	4A	+	BGN + <i>Streptococcus</i>	<i>K.p</i>	AMC : R CTX : R IMP : S	/
51	POIGNER DE PORTE	4B	-	/	/	/	/
52	POIGNER DE PORTE	4C	-	/	/	/	/
53	FENETRE	5A	-	/	/	/	/
54	MUR	6A	+	<i>Enterococcus</i>	/	/	/
55	MUR	6B	+	<i>Staphylococcus sp</i>	/	/	/
56	POINT D'EAU	7A	-	/	/	/	/
57	POINT D'EAU	7B	+	<i>Pseudomonas + BGN</i>	<i>Pseudomonas + E.coli</i>	IMP : R CAZ : R TTC : R IMP : S AMC : R CTX : I	<i>E.coli</i>
58	CHARIOT	8A	-	/	/		
59	ASPIRATEUR MOBILE	9A	-	/	/	/	/
60	ASPIRATEUR MURAL	9B	-	/	/	/	/
61	LIT	1A	+	BGN + <i>Bacillus</i>	<i>E.coli</i>	AMC : R CTX : R IMP : S	<i>E.coli</i>
62	LIT	1B	+	<i>Enterococcus</i>	/	/	/
63	LIT	1C	+	BGN + <i>Streptococcus</i>	<i>E.coli</i>	AMC- CTX : <b>BLSE</b> IMP : S	<i>E.coli</i> +
64	LIT	1D	+	BGN + <i>Streptococcus</i>	<i>E.coli</i> <i>Proteus ?</i>	AMC- CTX : <b>BLSE</b> IMP : S	<i>E.coli</i> +
65	TABLE	2A	+	<i>Enterococcus + Streptococcus + Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	IMP : S CAZ : S TCC : R	/

66	TABLE	2B	+	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	AMC : R CTX : I IMP : S	<i>Enterobacter</i>
67	POTENCE	3A	+	<i>Staphylococcus sp</i> + <i>Streptococcus sp</i>	/	/	/
68	POGNER DE PORTE	4A	-	/	/	/	/
69	FENETRE	5A	-	/	/	/	/
70	MUR	6A	+	<i>Bacillus</i> + <i>Streptococcus</i>	/	/	/
71	POINT D'EAU	7A	+	<i>Pseudomonas</i> + <i>Enterococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>	CAZ : I TCC : R IMP : R	/
72	POINT D'EAU	7B	+	BGN + <i>Enterococcus</i> + <i>Pseudomonas</i>	<i>E.coli</i> + <i>pseudo</i> + <i>proteus</i> ?	AMC : R CTX : R IMP : S CAZ : R TCC : R IMP : R	<i>E.coli</i>
73	POINT D'EAU	7C	+	<i>E.coli</i> + <i>Bacillus</i>		AMC : R CTX : R IMP : S	<i>E.coli</i>
74	CHARIOT	8A	-	/	/	/	/
75	RESPIRATEUR	9A	+	<i>Bacillus</i>	/	/	/
76	RESPIRATEUR	9B	+	<i>Bacillus</i>	/	/	/
77	LITRIE	10A	+	<i>Enterococcus</i>	/	/	/
78	LITRIE	10B	+	<i>Bacillus</i>	/	/	/
79	LITRIE	10C	+	<i>Bacillus</i>	/	/	/
80	LITRIE	10D	+	<i>Bacillus</i> + <i>Enterococcus</i>	/	/	/



Prélèvement positif



Prélèvement négatif