

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université SAAD Dahlab de Blida

Faculté des Sciences Agronomiques-Vétérinaires et Biologique

Département de Biologie



**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master en
SNV**

Option : Microbiologie-Bactériologie

Thème :

**Contribution à l'étude de la septicémie chez les grands brûlés au
niveau de l'Etablissement Hospitalier Spécialisé (EHS) de Douéra**

Présenté et soutenu le 19/12/2013

Par : HARITI DJAHIDA

Devant le JURY :

Mme CHAKHMA A.	Maitre assistante A à USDB	Présidente
Mme KADRI F.	Maitre assistante A à USDB	Examinatrice
Mme BENBAIBECHE H.	Maitre assistante A à USDB	Examinatrice
Mme HAMAIDI F.	Maitre assistante B à USDB	Promotrice

2012-2013

Tout d'abord, nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la volonté pour bien mener ce travail.

Je tiens à remercier sincèrement la promotrice Madame HAMADI Fella, qui m'a aidé, guidé et suivi attentivement la progression de mon travail, pour ses précieux conseils, sa générosité et sa patience.

Mes vifs remerciements et sincères reconnaissances aux membres de jury : M^{me} BIREM, M^{me} KADRI et M^{me} BENBACHA de m'avoir honorées par leur présence et d'avoir accepté d'examiner mon modeste travail.

Je distinct un merci sincère à l'EHS de Douera pour m'avoir donné la chance de réaliser ce projet de fin d'étude, je remercie également l'équipe du laboratoire et l'équipe du service de la chirurgie plastique et des brûlés qui m'ont aidé par leurs sympathie et leurs coopérations.

Je ne pouvais terminer sans remercier tous les enseignants ayant participé à notre formation durant les cinq années d'étude.

Pour terminer je remercie toutes personne ayant contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Je tiens à dédier ce modeste travail à tout ceux qui ont participé
à sa réalisation, en particulier :

A mes chers parents, qui m'ont beaucoup aidé et qui n'ont pas
cessé de m'encourager.

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

à mes frère Yazid, Ayoub, Aymen et mes sœur Khadidja et
Nacera ; Merci d'être là je vous souhaite une belle vie.

A toute ma grande famille

A mes amies les plus chères

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

Résumé

L'infection est actuellement la première cause de mortalité du patient brûlé. Afin d'identifier les germes responsables de cette infection et d'estimer leur profil de résistance, nous avons réalisé une étude au niveau de l'Etablissement Hospitalier Spécialisé «ESH» de DOUERA, durant une période de six mois sur un total de 144 prélèvements sanguin.

Les résultats bactériologiques obtenus à partir des prélèvements sanguins indiquent qu'au niveau du service chirurgie homme, la fréquence des infections était de 2,22%, au niveau du service chirurgie femme elle était de 5,56%, alors qu'au niveau du service chirurgie réanimation, la fréquence était de 92,22%.

L'espèce la plus fréquente des bactéries pathogènes était *Staphylococcus aureus* avec 19,80% suivie par *Proteus mirabilis* avec un taux de 16,83%, puis *Pseudomonas aeruginosa* avec une fréquence de 12,87%.

Ces bactéries posent des problèmes thérapeutiques parfois difficiles du fait que la fréquence élevée des souches multi-résistantes, pour l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* une résistance total à été signalé vis-à-vis de Netilmycine, Tobramycine, Amikacine, Imipenème et Ticarcilline, une forte résistance aux antibiotiques aussi est remarquable pour ciprofloxacine etlevomycine avec un taux similaire de 82%, et un taux similaire de 91% pour céftazidime, gentamycine et pipéracilline. *Staphylococcus aureus* présentent une résistance élevée à l'Oxacilline avec un taux de 89%.les entérobactéries montrent une resistance élevée vis-à-vis des B-lactamines.

Mots clés : Brulure, Infections nosocomiales, hémoculture, antibiorésistance.

Abstract

The infection is currently the first cause of mortality of the burned patient, in order to identify the germs responsible for this infection and to estimate their profile of resistance; we made a study on the level of the Hospital Specialized EHS of DOUERA, during six months period on a blood total of 144.

The bacteriological results obtained starting from the blood samples indicate that on the level of the service surgery man, the frequency was of 2,22%, to the level of the service surgery woman it was of 5,56%, whereas on the level of the service surgery reanimation, the frequency was of 92,22%.

The most frequent species of the bacteria pathogenic was *Staphylococcus aureus* with 19, 80%, followed by *Proteus mirabilis* with a rate of 16, 83%, then *Pseudomonas aeruginosa* with a frequency of 12, 87%.

These bacteria pose sometimes difficult therapeutic problems owing to the fact that the high frequency of the multi-resistant stocks, for the species *Pseudomonas aeruginosa* a resistance total to summer announced with respect to Netilmycine, Tobramycine, Amikacine, Imipénème and Ticarcilline, a strong résistance to antibiotics also is remarkable for ciprofloxacin and levomycine with a similar rate of 82%, and a similar rate of 91% for céftazidime, gentamycine and pipéracilline, *Staphylococcus aureus* have a resistance raised to oxacilline with a rate of 89%. The enterobacteries show a resistance raised with respect to B-lactamines.

Key words: Burn, Nosocomiales infections, Blood culture, bacteria, antibiorésistance.

ملخص

العدوى هي حاليا السبب الرئيسي لوفاة مرضى الحروق ، بهدف التعرف على الجراثيم المسؤولة عن عدوى الامراض الاستشفائية وتقييم مدى تحملها، أجرينا دراسة في مؤسسة متخصصة بمستشفى الدويرة لمدة ستة أشهر على 144 عينة دم .

النتائج البكتريولوجية التي تم الحصول عليها من عينات الدم تشير إلى أنه في قسم جراحة الرجال، النسبة قدرت ب 2.22% وفي قسم جراحة النساء كانت 5.56% ، في حين كان المعدل في قسم الإتعاش 92.22% .

نوع البكتيريا الممرضة الأكثر شيوعا كانت *Staphylococcus aureus* بنسبة 19.80% ، تليها *Proteus mirabilis* بنسبة 16.83% ، ثم تليها *Pseudomonas aeruginosa* بنسبة 12.87% .

هذه البكتيريا تطرح مشاكل علاجية صعبة في بعض الاحيان نظرا لارتفاع نسبة السلالات المقاومة للمضادات الحيوية بالنسبة للنوع *Pseudomonas aeruginosa* مقاومة كلية قد لوحظت تجاه *Ticarcilline* ، *Imipénème* ، *Amikacine* ، *Tobramycine* ، *Netilmycine* .

مقاومة عالية قد لوحظت ايضا ل *ciprofloxacin* و *levomycine* بنسبة متماثلة تقدر ب 82% ونسبة متماثلة كذلك 91% ل *céftazidime* ، *gentamycine* و *Pipéracilline* . *Staphylococcus aureu* يظهر مقاومة عالية تجاه *Oxacilline* بنسبة 89% . *Les entérobactéries* تظهر مقاومة عالية ضد *B-lactamine* .

الكلمات المفتاحية : حروق ، عدوى المستشفيات ، زرع للدم ، بكتيريا ، المضادات الحيوية ، مقاومة للمضادات الحيوية .

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Règle de 9 de WALLACE.	5
II	Répartitions des prélèvements analysés selon les trois services.	16
III	Lecture de la galerie Api 20 E	Annexe III
IV	Classification des antibiotiques selon leurs modes d'action	Annexe III
V	Répartition des résultats selon la présence et l'absence du germe.	Annexe III
VI	Répartition des prélèvements sanguins selon le sexe	Annexe III
VII	Répartition des patients brûlés selon le type de la brûlure	Annexe III
VIII	Répartition des brûlés selon l'agent causal.	Annexe III
IX	Répartition des prélèvements dans les services de la chirurgie plastique	Annexe III
X	Taux d'infections chez les brûlés selon les différentes tranches d'âge	Annexe III
XI	Répartition des résultats selon les types de cultures bactériennes.	Annexe III
XII	Répartition des germes identifiés selon leur nature.	Annexe III
XIII	Fréquence des différentes bactéries isolées au niveau des services de la chirurgie plastique.	Annexe III
XIX	Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches d'Entérobactéries	Annexe III
XX	Fréquence des B-lactamases à spectre élargi chez les entérobactéries	Annexe III

XXI	Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Annexe III
XXII	Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de Staphylocoques	Annexe III
XXIII	Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches des streptocoques	Annexe III

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Test de coagulase	20
2	Résistance acquise aux β -lactamines	25
3	Résistance acquise par production des β -lactamases	26
4	Répartition des résultats selon la présence et l'absence du germe	29
5	Répartition des brûlés selon l'agent causal	31
6	Répartition du type de brûlure en fonction de sexe	31
7	Répartition des prélèvements dans les services de la chirurgie plastique	32
8	Taux d'infections chez les brûlés selon les différentes tranches d'âge	33
9	Représentation des résultats selon les types de cultures bactériennes	34
10	Répartition des germes identifiés selon leur nature.	34
11	Fréquence des différentes bactéries isolées au niveau des services de chirurgie plastique.	36
12	Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches d'Entérobactéries	37
13	Fréquence des β -lactamases à spectre élargi chez les entérobactéries	38

14	Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
15	Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de Staphylocoques	42
16	partition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches des streptocoques	44
17	Brûlure au 1 ^{er} degré	Annexes I
18	Brûlure au 2 ^{ème} degré superficielle	Annexes I
19	Brulure au 2 ^{ème} degré profond	Annexes I
20	Bruulure au 3 ^{ème} degré	Annexes I
21	Fiche de renseignement du brûlé à l'EHS de Douéra	Annexes I
22	Règle des 9 de WALLACE	Annexes I

Liste des abréviations

ADH: Arginine Dihydrolase.

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.

ATB : Antibiotique.

CLIN : Comité de Lutte contre l'infection Nosocomiale.

USI : Unité de Soins Intensifs.

G : Grossissement.

GN : Gélose nutritif.

GSC : Gélose au sang cuit

GSF : Gélose au sang frais.

IN: Infection Nosocomiale.

BLSE : Beta- Lactamase a Spectre Elargie.

SARM: *Staphylococcus aureus* Méricillino-Résistant.

G- : Gram Négatif.

G+ : Gram positif.

LDC : Lysine décarboxylase.

MH : Muller Hinton.

NaCL : Chlorure de Sodium.

ODC : Ornithine décarboxylase.

ONPG: Ortho- Nitro- Phenyl- β D Galactosidase.

RM: Rouge de Méthyl.

VP: Voges-Proskaur.

CHPH : Chirurgie Plastique Homme.

CHPF : Chirurgie Plastique Femme.

CHPR : Chirurgie Plastique Réanimation.

Sommaire

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. INFECTIONS NOSOCOMIALES ET GRANDS BRULES

I.1. Infection nosocomiale.....	3
I.2. Epidémiologie des infections nosocomiales.....	3
I.3. Facteurs de risque.....	3
I.4. Brulures et brûlés.....	3

CHAPITRE II. GERMES RESPONSABLES DES INFECTIONS CHEZ LES BRULES

I.1. Bacilles à Gram négatif.....	8
I.2. Cocci à Gram positif.....	9

CHAPITRE III. ANTIBIOTIQUES ET ANTIBIORESISTANCE

III.1 Antibiotiques.....	11
III.2 Mécanisme de résistance des bactéries aux antibiotiques.....	13

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

I.1 Matériel.....	16
I.2 Méthodes.....	16
I.2.1 Prélèvement sanguin.....	16
I.2.1 Examen bactériologique du sang	17
I.2.3 Examen bactériologique	18
I.2.4 Antibiogramme.....	23

CHAPITRE II. RESULTATS ET DISCUSSIONS

II.1 Répartition des prélèvements selon la présence et l'absence du germe.....	27
II.2 Répartition des prélèvements selon le sexe.....	28
II.3 Répartition des patients brûlés selon le type de la brûlure.....	28
II.4 Répartition des prélèvements selon le service.....	30

II.5 Répartition des prélèvements selon l'âge.....	30
II.6 Répartition des prélèvements selon le type de la culture bactérienne.....	31
II.7 Répartition des prélèvements selon leur fréquence en fonction de service.....	32
II.8 Répartition des bactéries isolées selon leur fréquence.....	33
II.9 Antibiorésistance.....	35
II.9.1 Chez les Entérobactéries.....	35
II.9.2 Chez les Pseudomonas.....	37
II.9.3 Chez les Staphylocoques.....	39
II.9.4 Chez les streptocoques.....	41
CONCLUSION.....	45

REFERENCES BIBLIORAPHIQUES

ANNEXES

Introduction

Introduction

Les infections nosocomiales (IN) peuvent être décrites comme « des infections survenant chez un patient au sein d'un hôpital ou d'un autre établissement de santé et chez qui cette infection n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission (ducel et *al.*, 2002).

La peau est un organe essentiel du système immunitaire non spécifique, protégeant l'organisme contre les microbes pathogènes potentiels dans l'environnement. Les infractions dans cette barrière protectrice représentent ainsi un facteur prédisposant le patient à l'infection (Chalis et *al.*, 2008 ; Lawrence, 2008).

Dans les pays en développement, la brûlure est un réel problème de santé publique. Il y a peu de points communs entre la petite brûlure domestique, peu étendue et superficielle, qui va guérir sans séquelle en quelques jours, et les lésions du grand brûlé qui, après des mois de soins intensifs, aboutiront à la construction d'un lourd handicap (Wassermann, 2002)

La complication chez le grand brûlé est la septicémie qui est une urgence du milieu hospitalier, avec un pronostic sombre et un taux de mortalité élevé. Son diagnostic est clinico-biologique reposant sur de hémocultures répétées au moment de décharges (fièvre). L'étude de ces hémocultures permet l'isolement des germes en cause et la détermination de leur sensibilité ou de leur résistance aux antibiotiques. malheureusement, l'apparition de la résistance aux agents antimicrobiens est un problème global de santé publique en particulier chez les microorganismes pathogènes à l'origine des infections nosocomiales. L'utilisation courante des agents antimicrobiens dans les hôpitaux crée la pression de choix pour l'apparition des contraintes résistantes des micro-organismes (Samuel et *al.*, 2010).

La résistance antimicrobienne a comme conséquence la maladie, les décès et les coûts accrus dans les soins de santé (savas et *al.*, 2006). En effet, l'apparition des contraintes résistantes aux multi-drug (MDR) dans des unités de brûlure, en particulier dans les pays économiquement sous-développés et en voie de développement est un problème croissant (Rastegar et *al.*, 2005).

En Algérie, peu de littérature existe sur les infections nosocomiales chez le grand brûlé. C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude préliminaire réalisée au niveau de l'hôpital de Douéra où existe ce type d'unité de brûlure qui s'occupe essentiellement du diagnostic et du suivi de ces patients.

Les objectifs que nous nous sommes fixés sont :

- ↓ Déterminer l'incidence des infections chez les grands brûlés pendant la période d'étude.
- ↓ Identifier le type de bactéries pathogènes causant les infections nosocomiales dans les unités de brûlure.

- ↓ Etudier la résistance des germes isolés aux antibiotiques, afin de proposer des mesures de prévention pour améliorer la prise en charge thérapeutique du malade en fonction des résultats de l'antibiogramme.

I. INFECTIONS NOSOCOMIALES ET GRANDS BRULES

I.1. INFECTIONS NOSOCOMIALES

Le terme nosocomial, vient du grec « nosos » signifiant maladie et secondairement de « komein » qui signifie soigner. L'infection est désormais intégrée dans les infections associées aux soins (IAS). Une infection est considérée comme IAS si elle survient au cours d'une prise en charge (diagnostic thérapeutique, soins palliatifs, préventifs ou éducatifs) d'un patient, et si elle n'était ni présente, ni en incubation au début de sa prise en charge (Panoff, 2013).

L'infection nosocomiale est une maladie infectieuse (bactérienne, fongique, parasitaire et/ou virale) cliniquement ou microbiologiquement identifiable, contractée dans une structure de soins. Elle peut concerner un patient hospitalisé ou ayant subi des soins ou examens en ambulatoire. Lorsque l'état infectieux du patient à l'admission est inconnu, l'infection est dite nosocomiale si elle apparaît après un délai de 48 heures d'hospitalisation (Vaubourdolle, 2007).

I.2. Epidémiologie des infections nosocomiales

Les infections nosocomiales sont reconnues comme des problèmes majeurs de santé publique de par leur fréquence, leur coût et leur gravité. Ces infections sont dues à une insuffisance de qualité des soins et à une résistance de certaines souches bactériennes.

L'infection nosocomiale touche 5 à 10% des malades hospitalisés, entraînant environ 10 000 décès par an. L'incidence des infections nosocomiales est différente selon les secteurs d'hospitalisation, ainsi les unités de réanimation ou les services de soins aux personnes âgées ont une incidence plus élevées ; alors qu'au niveau des unités de soins intensifs polyvalents, elle est estimée à environ 20% (Mchich, 2002).

Le taux d'infections nosocomiales pour des unités de brûlure est important dans les salles, et dans d'autres unités de soins intensifs (NNIS, 2002). Le taux d'infections nosocomiales varie selon différentes études et se situe entre 28% et 86% (Geyik et al, 2003 ; Oneul et al, 2003 ; Askarian et al, 2003 ; Rastegar et al, 2000).

I.3. Facteurs de risque

Les infections nosocomiales sont la conséquence de plusieurs facteurs :

⚡ Environnement

Le séjour dans un centre de soins est un facteur de risque pour les patients, le personnel ainsi que pour les visiteurs. L'hôpital, de par sa fonction, a toujours été et reste de plus en plus une structure à haut risque d'infection, Une chambre où est hospitalisé un patient colonisé ou infecté par un germe pathogène, est largement contaminé dans les 24 heures. Un patient hospitalisé dans une chambre contaminé est colonisé ou infecté en quelques jours.

L'utilisation intensive des antibiotiques rend l'hôpital est un lieu privilégié pour le développement des résistances bactériennes. Il héberge ainsi de nombreuses bactéries multirésistantes qui survivent dans cet environnement des semaines et parfois des mois. Elles

ont une grande capacité de résistance aux agressions chimiques et résistent à de nombreux détergents. On les retrouve partout, sur les surfaces planes, la literie, le mobilier, les poignées de porte, les téléphones, les commandes de télévision, les claviers d'ordinateurs, les stéthoscopes, les brassards de tensiomètres etc... Elles sont dans l'air ambiant, les canalisations d'eau où elles forment des biofilms résistants à la plupart des détergents.

Le nettoyage et la désinfection de l'environnement hospitalier sont un élément clef de la prévention des IN. Une chambre de patient doit être nettoyée, si besoin désinfectée chaque jour, et chaque fois que nécessaire dans la journée en cas de souillure.

Les patients infectés ou seulement colonisés sont une des principales sources de contamination de l'environnement hospitalier par l'intermédiaire de leurs mains qui se contaminent à leur tour au contact de l'environnement. Les mains et les vêtements du personnel sont aussi un des principaux vecteurs de contamination des patients et de l'environnement. Après un contact avec un patient colonisé ou infecté ou son environnement, 70% d'entre eux contaminent leurs mains ou leurs gants, et 52% après contact avec le seul environnement. 63% des vêtements du personnel soignant sont contaminés après un contact avec un patient colonisé ou infecté et / ou son environnement (Fonteau et al., 2008).

↓ Acte de soins

- Transmission par contact avec le personnel soignant (les bactéries de la flore cutanée du soignant peuvent contaminer un malade fragilisé).
- Transmission par le matériel médical.
- Transmission par le linge et la literie

Le patient lui-même

Un patient doit être considéré à risque à son admission en raison :

- De son âge : contrairement à l'idée généralement reçue, les personnes âgées (65 ans et plus) ne sont pas seules à être plus sensibles aux infections en raison de leur système immunitaire affaibli. Les jeunes enfants, les nouveaux-nés, les prématurés dont le système immunitaire est encore immature, sont aussi particulièrement fragiles. Aux Etats-Unis, on relève 14% d'IN en néonatalité, entre 7% et 20% en Europe, 30% au Brésil.
- De sa colonisation par un germe pathogène
- De sa pathologie et / ou du traitement suivi : cancer, diabète, dialyse, chimiothérapie, radiothérapie etc... (Fonteau et al., 2008).

I.4. Brûlures et brûlés

1.4.1. Définition de la brûlure

Une brûlure est une lésion du revêtement cutané plus ou moins profonde et étendue due à l'action de la chaleur, de l'électricité, de produit chimiques ou de rayonnements (Rouquette, 2002).

Les brûlures sont un problème de santé publique, et peuvent être une source d'un handicap temporaire ou définitif sur le plan fonctionnel ou esthétique (Joukadar, 2000).

1.4.2. Grands brûlés

Les personnes brûlées au 2^{ème} et 3^{ème} degrés sur plus de 10 à 20% de la surface corporelle, celles qui sont atteint au visage ou qui ont inhalé des substances toxiques, répondant notamment aux critères d'admission dans un centre dédié aux grands brûlés (Riond, 2009).

La gravité des brûlures est mesurée selon l'étendue de la surface du corps atteinte, la présence de brûlure au niveau des voies respiratoires et l'âge (Rigou et Thélot., 2010).

❖ Facteurs déclenchant la brûlure

Les mécanismes conduisant à une brûlure sont extrêmement variés. En général, on les regroupe en trois catégories : les brûlures thermiques, les brûlures chimiques et les brûlures électriques. Pour chaque catégorie, on tient compte d'un certain nombre de facteurs dits « aggravants », liés à l'état général antérieur du patient et souvent aussi à son état social.

Ces facteurs peuvent être :

- L'âge extrême du patient (< 4 et > 60 ans).
- L'étendue de la surface corporelle brûlée.
- La profondeur de la brûlure.
- Un traumatisme associé important (fracture, trauma crânien,...).
- Une maladie préexistante (diabète, problème cardio-vasculaire, déficience immunitaire, antécédents neuropsychologiques,...).
- Une prise en charge tardive (riond, 2009).

▪ Les brûlures Thermiques

Ce sont les plus fréquentes de toutes puisqu'elles représentent plus de 85% des brûlures (Boccard, 2008).

On distingue les brûlures par contact, par flamme ou par rayonnement.

Les brûlures par contact sont de deux ordres : contact solide ou contact liquide. Les premières (Braises incandescentes, fer chaud,...) sont limitées en superficie mais souvent profondes.

Les secondes (eau bouillante, huile chaude, ...) sont plus étendues mais souvent moins profondes ; ce sont les plus fréquentes chez l'enfant.

Les brûlures par rayonnement sont essentiellement dues aux rayons ultraviolets du soleil ; on y classe aussi les lésions par rayon X ; elles sont souvent très étendues mais peu profondes (Riond, 2009).

▪ Les brûlures chimiques

Elles représentent 3 à 5 % de l'ensemble de brûlures (Boccard, 2008).

Les brûlures par acide sont souvent assez limitées en étendue et de profondeur moyenne si l'on a pris la précaution de laver la lésion précocement. Les brûlures par les solutions basiques sont d'emblée profondes, évolutives et plus graves que les brûlures par acides (Riond, 2009).

▪ Les brûlures électriques

Elles représentent environ 8 % des brûlures.

Le courant électrique engendre deux types de lésion :

- des lésions thermiques par flash électrique avec parfois inflammation des vêtements. Ces flammes générées entre deux points de polarité différents entraînent des brûlures thermiques.
- des lésions électriques vraies ou électrisation par passage du courant à travers l'organisme.

On parlera d'électrocution lorsque l'électrisation entraîne le décès du patient (Boccard, 2008).

I.4.3. Classification des brûlures

Quelque soit l'agent causal, les différents degrés de l'atteinte cutanée sont toujours les mêmes.

↓ Brûlures superficielles

- Le 1^{er} degré : correspond à l'érythème solaire et ne dépasse pas la couche cornée de l'épiderme. Il guérit en 2 à 4 jours après une desquamation furfuracée.
Les brûlures du 1^{er} degré sont à négliger dans l'évaluation pronostique et thérapeutique chez les grands brûlés (Boccaro, 2008).
- Le 2^{ème} degré : il est plus profond, mais la cicatrisation cellulaire respecte la dernière assise de l'épiderme. La couche basale de Malpighi est respectée.

⚡ Brûlures profondes

- Le 2^{ème} degré profond : l'assise basale de malpighi a été détruite et toute cicatrisation spontanée est aléatoire, voire impossible. Quand elles sont étendues, seule la greffe permettra la cicatrisation.
- Le 3^{ème} degré : la destruction intéresse la totalité de l'épiderme, du derme et de l'ypoderme avec atteinte des muscles et des os, aboutissant à la carbonisation. La peau est sèche, parcheminé, insensible au toucher, allant du blanc marmoréen au noir de la carbonisation (Joucdar, 1997). La cicatrisation spontanée est impossible d'où la nécessité de greffes après excision de la nécrose cutanée (Baccar, 2001).

I.4.4. Evaluation de la surface brûlée

Sur le terrain, il est possible d'apprécier la surface de façon suffisamment précise grâce à la classique règle de WALLACE (annexe I, figure 22). Cette règle permet d'évaluer rapidement l'étendue de la surface corporelle atteinte chez un patient brûlé, cette surface doit être exprimée en pourcentage et en mètre carré (Tableau I) (Joucdar, 1997).

Tableau I : Règle de 9 de WALLACE

Partie corporelle	Surface atteinte
Tête et cou	9%
Face antérieur du tronc	18%
Face postérieur du tronc	18%
Chaque jambe	18% (x2)
Chaque bras	9% (x2)
Périnée	1%
Total	100%

(Dupont, 2010)

II. GERMES RESPONSABLES DES INFECTIONS CHEZ LES BRULÉS

II.1. Bacilles à Gram négatif (BGN)

II.1.1. Famille des *Enterobacteriaceae*

Les entérobactéries sont des bacilles aérobies (anaérobies facultatifs), asporogènes, qui vivent dans l'intestin par commodité. Elles sont souvent appelées «coliformes» ou «entérobactéries», elles sont responsables des infections des plaies (Spicer, 2000).

▪ *Escherichia coli*

E. coli est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies (Nauciel, 2000). *E. coli* se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3mm de diamètre non pigmentés. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques (Avril et al., 2000).

▪ *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (K.E.S)

Ce groupe possède en commun les caractères suivants : Réaction VP positive, ce qui explique que ces souches utilisent la voie butylène glycolique pour fermenter le glucose. Ces germes sont le plus souvent multi-résistants aux antibiotiques.

○ Genre *Klebsiella*

Les *Klebsiella* sont des bactéries immobiles, en diplobacilles, généralement capsulées, très fréquentes dans la nature, commensales de l'homme, responsables d'infections opportunistes hospitalières chez des malades fragilisés (Delarras, 2007).

Les *Klebsiella* fermentent de nombreux glucides. Elles ne possèdent ni ODC, ni ADH, ni tryptophane désaminase (TDA), ni lipase et ne produisent pas d'H₂S.

Quatre espèces ont un pouvoir pathogène pour l'homme *K. pneumoniae* (espèce type), *K. oxytoca*, *K. ozaenea* et *K. rhinoscleromatis* (Avril et al., 2000).

○ Genre *Enterobacter* (*Aerobacter*)

Ce genre appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, bacille à Gram négatif, mobiles et non capsulés habituellement, sauf certaines souches d'*E. aerogenes*.

Il comprend de nombreuses espèces comme *Enterobacter aerogenes* ou *Enterobacter cloacae* (Avril et al., 2000).

○ Genre *Serratia*

Généralement mobiles, elles sont VP+ et ONPG+. Elles ne possèdent ni ADH, ni uréase et ne produisent pas d' H₂S.

Les *Serratia* se trouvent dans le sol, l'eau, le tube digestif de l'homme et des animaux. Aujourd'hui, elles sont responsables des infections hospitalières particulièrement, *S. marcescens* qui seule joue un rôle important comme pathogène opportuniste (Fauchère et Avril, 2002).

○ Genre *proteus*

Ce sont des bacilles à Gram négatif, mobiles, polymorphes et mesurant 0,4 à 0,8 µm de large et 1,0 à 80 µm de long (Lamnaouer, 2002). Les *proteus* sont caractérisées par leur uréase active, lactose négatif, oxydase négatif et par la production d' H₂S (Avril et al., 2000).

II.1.2. Famille des *Pseudomonadaceae*

○ Genre *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* est un bacille Gram négatif de 1 à 3µm de long et de 0.5 à 1 µm de large, mobile par un ou plusieurs flagelles polaires, parfois entourées d'une pseudo capsule appelée slim. Aérobies stricts, il se cultive facilement sur les milieux usuels à 30°C. Il se caractérise par la pigmentation bleu vert avec une odeur aromatique de ses colonies (Nauciel, 2000).

L'espèce la plus répandue est *Pseudomonas aeruginosa*. C'est une bactérie ubiquiste, saprophyte dans les eaux et les milieux humides, elle peut aussi coloniser l'homme. Elle se rencontre dans les solutions antiseptiques. Ce germe est aussi pathogène opportuniste et constitue une cause majeure d'infections nosocomiales diverses chez des personnes fragilisées ou immunodéprimées (Leyral et al., 1980).

II.2. Cocci à Gram positif

Les cocci à Gram positif comprennent les staphylocoques et les streptocoques :

• Les staphylocoques

Les staphylocoques se présentent sous l'aspect de coques en petit amas, en diplocoques ou en très courtes chainettes. Le plus souvent, ils se disposent en grappe de raisin et mesurent entre 0,5 à 1µm de diamètre. Ils sont immobiles, non sporulés et ne possèdent pas de capsule (Avril et al., 2000). Une espèce, *Staphylococcus aureus* (Staphylocoque doré), tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales (Nauciel, 2001).

Cette bactérie se cultive facilement sur les milieux riches en NaCl. Elle possède une coagulase, enzyme qui provoque la coagulation du plasma, ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques (Nauciel, 2000).

Après une culture de 24 heures sur gélose nutritive, *S. aureus* donne des colonies produisant en générale un pigment doré. Elle fermente le mannitol sur milieu de Chapman, faisant virer le rouge de phénol au jaune (Fauchère et Avril, 2002).

○ Streptocoques

Les bactéries appartenant au genre *Streptococcus* sont des Cocci Gram positif, ronds ou ovoïdes (entérocoques, pneumocoques) disposés en chainettes plus ou moins longues, ou en diplocoques (*Streptococcus pneumoniae*).

En milieu Agar-sang, ils peuvent provoquer des hémolyses de différents types hémolyse β , avec lyse complète des hématies contenues dans le milieu et hémolyse α , hémolyse incomplète, dite également de type viridans.

Les streptocoques non hémolytiques présentent une hémolyse δ (Fingerhut et al., 2007).

Plusieurs espèces tiennent une place très importante dans la pathologie infectieuse:

○ *Streptococcus pyogenes* (ou streptocoque du groupe A)

C'est un streptocoque β - hémolytique. La bactérie est présente essentiellement chez l'homme. Son habitat habituel est le pharynx, mais on peut la trouver également sur la peau. Beaucoup de sujets sont des porteurs sains.

Elle se transmet surtout par voie aérienne, ou par contact direct dans l'entourage des enfants ou des adultes atteints de pharyngites ou de lésions cutanées (Nauciel, 2001).

○ *Enterococcus*

Ils appartiennent à un genre différent des streptocoques, bien qu'ils s'en rapprochent par certains caractères, notamment l'aspect morphologique et le métabolisme de type "anaérobie". La présence chez les entérocoques d'un acide téchoïque de paroi porteur de l'antigène D les rapprochent plus particulièrement des streptocoques du groupe D, de même que leur présence dans l'intestin de l'homme et de certains animaux.

Les entérocoques sont de plus commensaux des muqueuses génito-urinaires (urètre). Ils peuvent être pathogènes opportunistes (Eberlin, 1997).

III. Antibiotiques et Antibiorésistance

III.1. Antibiotiques

Les antibiotiques (ATB) sont des molécules à activité antibactérienne. Ils sont d'origine biologique (bêta-lactamines, aminosides, macrolides, polypeptides), semi synthétiques ou synthétiques (sulfamides, quinolones). Ils agissent spécifiquement sur des cibles moléculaires perturbant une étape essentielle des métabolismes des bactéries comme la synthèse protéique, la synthèse des acides nucléiques, la réplication, la transcription... (Schelemmer et Jarlier, 2008).

III.1.1. Critère de classification

Les antibiotiques sont classés selon :

- Le mode d'action (sur la membrane plasmique, sur les acides nucléiques, sur la paroi...ect).
- Le spectre d'activité : sur les cocci à Gram positif, cocci à Gram négatif et autres.
- L'origine de la molécule : naturelle, synthétique ou semi synthétique.
- La structure chimique actuellement retenue pour classer les antibiotiques en familles.

Il existe actuellement plus de 10 familles d'antibiotiques utilisés en médecine. Selon le spectre naturel d'activité des antibiotiques, on distingue :

❖ **Les antibiotiques à spectre large**, comme les β - lactamines ou les fluoroquinolones qui agissent aussi bien sur les bactéries à Gram négatif qu'à Gram positif

❖ **Les antibiotiques à spectre étroit**, ayant une action limitée sur les bactéries (comme les glycopeptides qui agissent sur les bactéries à Gram positif) ou très limitée (comme les antibiotiques anti-staphylococciques) (Delarras, 2007 ; Poly, 2007).

III.1.2. Différentes familles d'antibiotiques et leur mode d'action

Les antibiotiques sont classés en plusieurs grandes familles (beta-lactamines, aminosides, cyclines, macrolides, quinolones, rifamycines, phénicolés, lincosamides, polypeptides, glycopeptides, sulfamides), elles-mêmes divisées en groupes. Chaque groupe est caractérisé par un spectre d'activité correspondant aux germes sur lesquels l'antibiotique est actif. Chaque antibiotique au sein d'un même groupe peut différer par des propriétés pharmacocinétiques (Willoquet et al., 2011). Selon (Martin, 2008), il existe cinq modes d'action qui sont les suivants :

▪ Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (peptidoglycane)

En inhibant la synthèse du peptidoglycane, l'antibiotique empêche la formation de la paroi, ce qui entraîne la mort de la bactérie (voir Annexe).

- ❖ Les bêta-lactamines
 - Les pénicillines
 - Pénicilline G
 - Pénicillines M : oxacilline, méticilline et la cloxacilline.
 - Pénicillines A : ampicilline, amoxicilline.
 - Inhibiteurs de Bêta-lactamases : acide clavulanique
 - Les céphalosporines
 - Les monobactames
- ❖ Les glycopeptides : vancomycine, teicoplanine.
- ❖ La fosfomycine (Baudry et Brézellec, 2006).

➤ Destruction de la membrane de la bactérie

Ces antibiotiques se fixent sur les phospholipides de la membrane cytoplasmique, entraînant une altération de la perméabilité à cause d'une désorganisation de cette membrane et donc une fuite des constituants intracellulaires, ce qui aboutit à la mort cellulaire (Prescott *et al.*, 2003).

- ❖ Polymyxines : colistine.
- ❖ Nitrofuranes : nitroxazide, nitrofurantoïne, nifurzide (Baudry et Brézellec, 2006).

➤ Blocage de la synthèse des protéines

La fixation au ribosome entraîne l'inhibition de l'élongation du peptide en formation. Les macrolides, les lincosamides et les tétracyclines agissent de cette façon et ces classes sont en général considérées comme bactériostatiques (Demirdjian, 2006; Gaudy et Buxeraud, 2005).

- ❖ Aminosides : streptomycine, kanamycine, tobramycine, amikacine, spectinomycine.
- ❖ Macrolides : josamycine, spiramycine.
- ❖ Lincosamides : clindamycines.
- ❖ Phénicolés : chloramphénicol, thiamphénicol.
- ❖ Tétracyclines : tétracycline et doxycycline.
- ❖ Acide fusidique (Baudry et Brézellec, 2006).

➤ Inhibition du fonctionnement du matériel génétique

L'antibiotique va se fixer sur l'ADN et empêcher la progression de l'ADN polymérase. Cela inhibe la réplication de l'ADN, indispensable à la formation de nouvelles bactéries, ainsi que la transcription. Les fluoroquinolones agissent suivant ce mode d'action (**Demirdjian, 2006**).

- ❖ Les quinolones et fluoroquinolones
- ❖ Les rifamycines : la rifampicine.
- ❖ Les nitro-imidazolés : le métronidazole (**Baudry et Brézellec, 2006**).

➤ Action sur le métabolite intermédiaire

Ce ne sont pas des antibiotiques au sens strict, mais des antimétabolites qui empêchent la synthèse de substances essentielles aux activités cellulaires.

- ❖ Sulfamides
- ❖ Triméthoprimes (**Martin, 2008**).

III.2. Résistance des bactéries aux antibiotiques

On distingue :

- **Résistance in vitro (résistance génétique)** : une souche est dite résistante in vitro lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotiques notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.
- **Résistance in vivo (résistance clinique)** : une souche est dite résistante in vivo lorsque la concentration en antibiotique qu'elle est capable de supporter in vitro est notablement plus élevée que celle qu'il est possible d'atteindre in vivo (**Vaubourdolle, 2007**).

La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique (**Yala et al., 2001**).

⊕ Résistance naturelle

La résistance naturelle ou « intrinsèque » est un caractère d'espèce présent chez toutes les souches bactérienne de l'espèce ou du genre bactérien. Cette résistance naturelle fait partie du patrimoine génétique habituel de l'espèce (**Vaubourdolle, 2006**).

⊕ Résistance acquise

La résistance acquise affecte des souches d'espèce normalement sensibles. Cette résistance est évolutive au cours du temps. Elle est due soit à la modification de l'information génétique (endogène) par mutation chromosomique, soit à l'acquisition de matériel génétique (exogène) par les plasmides ou les transposons (**Figarella et al., 2004**).

III.2.1. Mécanisme de résistance aux antibiotiques

La résistance acquise ne concerne qu'une proportion plus ou moins importante et variable dans le temps, d'une espèce ou d'un genre.

La résistance repose sur l'acquisition d'un ou plusieurs mécanismes de résistance qui détermine un phénotype de résistance.

Trois catégories de mécanismes rendent compte de la résistance acquise : l'inactivation de l'antibiotique, modification ou substitution de la cible, diminution de la perméabilité ou apparition du système d'efflux (Vaubourdolle, 2009).

III.2.1.1 Pompe à efflux

La bactérie peut produire une protéine membranaire, la pompe à efflux, qui permet l'exportation de l'antibiotique. Comme on peut le voir à la figure 4, la pompe permet une sortie d'antibiotique plus rapide que l'entrée. Ainsi, la concentration intracellulaire d'antibiotique demeure à un niveau faible et inefficace (Walsh, 2000).

III.2.1.2 Inactivation ou modification de l'antibiotique

La seconde stratégie vise à détruire ou modifier l'antibiotique afin qu'il devienne inactif. L'exemple classique d'inactivation est celui des pénicillines et céphalosporines. Le groupement actif de ces antibiotiques est le noyau β -lactame. Cet anneau est hydrolysé par des β -lactamases produites par les bactéries (voir figure 5). Ainsi, l'antibiotique devient inactif avant même d'avoir pu atteindre sa cible, soient les protéines liant la pénicilline (PLPs) (Walsh, 2000).

De plus, l'antibiotique peut être modifié par ajout de groupements chimiques sur sa structure. Par exemple, les aminoglycosides, qui ciblent la synthèse protéique, peuvent être modifiés par des enzymes bactériennes avec trois types de groupements chimiques. Ces modifications vont mener à l'acétylation, la phosphorylation et à l'adénylation de l'antibiotique. L'aminoglycoside aura donc une plus faible affinité pour sa cible, l'ARN du ribosome. Ainsi, l'antibiotique perd son activité destructrice (Walsh, 2000).

III.2.1.3 Modification de la cible

La troisième stratégie met l'accent sur la cible de l'antibiotique. Elle consiste à reprogrammer ou camoufler la cible. La résistance aux pénicillines peut se situer au niveau des β -lactamases mais aussi des PLPs. En effet, les bactéries peuvent produire de nouvelles PLPs ou y introduire des mutations. Dans les deux cas, les PLPs auront moins d'affinité pour la pénicilline. De cette façon, l'antibiotique devient inefficace (Walsh, 2000).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. MATERIEL ET METHODES

Cette étude a été réalisée au niveau de Laboratoire Central de Bactériologie de DOUERA .

Durant une période de 6 mois à aout 2013. L'étude a porté sur 144 prélèvements sanguins.

I.1. Matériel

Notre étude s'est déroulée au niveau des trois services de chirurgie plastique homme et femme et la chirurgie plastique de la réanimation. Le produit biologique sur lequel s'est effectuée cette étude est le sang prélevé sur des patients brûlés à différentes degrés.

I.1.2. Matériel non biologique

Il est représenté par les verreries, les appareillages, les réactifs, les milieux de cultures et les antibiotiques.

I.1.3. Matériel biologique

↳ Echantillonnage

Le tableau suivant illustre la répartition des prélèvements sanguins dans les trois services concernés par cette étude.

Tableau II. Répartition des prélèvements analysés selon les trois services.

SERVICE	Chirurgie plastique homme	Chirurgie plastique femme	Chirurgie plastique de réanimation	Total
Prélèvement sanguin	3	6	135	144
Nature de la brulure	Electrique Thermique	thermique	Thermique électrique	
Age	16-30 ans	16-60 ans	16-60 ans	

I.2. Méthodes

I.2.1. Prélèvement sanguin

On prélève aseptiquement le sang par ponction veineuse sur flacon d'hémoculture Hémolineperformance. Toute contamination par des germes cutanés ou ambiants peut compromettre la culture de la bactérie recherchée ou gêner l'interprétation des résultats.

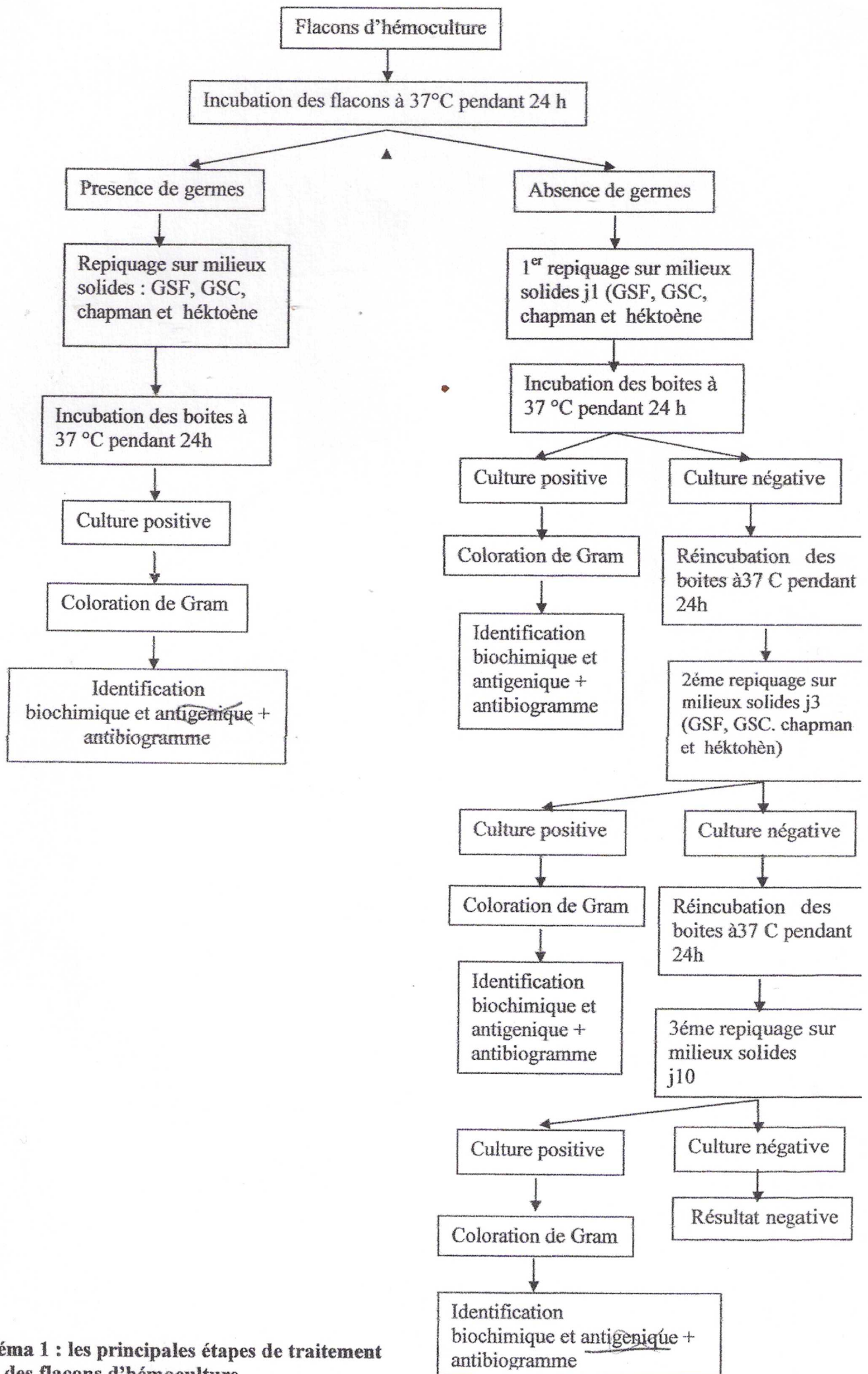


Schéma 1 : les principales étapes de traitement des flacons d'hémoculture

Technique automatisée: un système automatisé (Bactec®) est utilisé. Il possède les avantages suivants:

- Lecture multiple ou même en continu au cours des heures qui suivent le prélèvement ce qui permet d'avoir un résultat précoce.
 - Incubation sous agitation.
 - Détection standardisée des hémocultures positives en mesurant la concentration de CO₂ produit par les microorganismes dans le milieu de culture.
- Introduire les flacons reçus dans l'automate incubés à 37°C pour les bactéries et à 30°C pour les levures pendant 5 jours. Durant cette période, les flacons signalés positifs sont retirés et des mises en culture sont ensuite réalisées selon la méthode classique pour confirmer le résultat et identifier le microorganisme.
 - Incubation des boîtes à 37°C pendant 24-48h et les boîtes de gélose au sang (GSC, GSF) sous CO₂ à 37°C pendant 24-48h.

I.2.4. Identification

Des colonies individuelles, issues d'une culture jeune de 24 heures, feront l'objet d'une identification par des tests de coloration et des tests biochimiques.

I.2.4.1. Examen bactériologique après coloration

✦ Coloration de Gram

Elle permet de classer les bactéries en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif et Gram négatif et nous informe aussi sur la morphologie et le mode de regroupement des bactéries.

Technique

- Réalisation d'un frottis fixé par la chaleur.
- Coloration primaire :
 - recouvrir le frottis par la solution de violet de Gentiane.
 - laisser agir pendant 1 minute.
- Mordançage :
 - rejeter le violet de Gentiane puis rincer à l'eau de robinet.
 - recouvrir la lame avec de lugol et laisser agir pendant 2 minutes.
- Décoloration différentielle :
 - décolorer à l'aide de l'alcool à 95°.
 - rincer à l'eau courante après 30 secondes.

- Coloration secondaire :
 - recouvrir la lame par la solution fuschine.
 - laisser agir pendant 1 minute.
 - rejeter la fuschine, laver à l'eau.
 - sécher la lame.

Lecture

- ⚡ Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet foncé grâce à leurs parois épaisses denses, qui ne laisse pas l'alcool diffusé et préserve le violet.
- ⚡ Les bactéries à Gram négatif apparaissent en rose à cause de leur membrane lipidique qui laisse diffuser l'alcool à travers et décolore le contenu intracellulaire.

1.2.4.2. Identification biochimique

Les souches bactériennes sont identifiées grâce à plusieurs caractères biochimiques, qui leurs sont propres.

✓ **Identification des Cocci à Gram positif**

⚡ **Test de catalase**

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

Ce test permet de différencier entre les *staphylococcaceae* (catalase+) et les *streptococcaceae* (catalase -).

Technique

Prélever une colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. La placer immédiatement dans une goutte d'eau oxygénée sur une lame propre.

Lecture

Catalase (+) : dégagement de bulles gazeuses.

Catalase (-) : pas de bulles gazeuses.

Test spécifique aux *staphylococcus aureus*

⊕ Test de coagulase

Ce test permet de différencier l'espèce *Staphylococcus aureus* des autres espèces de Staphylocoques. *S. aureus* possède une coagulase (enzyme) capable de coaguler le plasma sanguin.

Technique :

Préparer trois tubes à essai secs :

- ❖ Le témoin négatif : ne contient que le plasma (pour confirmer que le plasma est incapable de se coaguler seul).
- ❖ Le témoin positif : le plasma humain citraté estensemencé par une souche de *Staphylococcus aureus*.
- ❖ Le tube test : le plasma humain citraté estensemencé par quelques colonies bactériennes à tester.

Lecture

La lecture se fait au bout de 24h. S'il y a une coagulation de plasma, cela veut dire que le fibrinogène a été transformé en fibrine. La bactérie est dite coagulase positive.

La figure ci-dessus montre la production de la coagulase par *staphylococcus aureus* :



Figure.1. Test de coagulase

✓ Identification des bacilles à Gram négatif (BGN)

⊕ Test d'oxydase

La recherche de l'oxydase est le caractère de base de la différenciation entre les entérobactéries (oxydase-) et les autres familles de bacilles Gram négatifs (*Pseudomonadaceae*), cette réaction permet de différencier les deux modèles de la chaîne respiratoire aérobie par la mise en évidence d'un cytochrome C membranaire.

Technique

- Déposer un disque d'oxydase et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile.
- Prélever une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur puis on écrase ensuite la colonie sur le disque.

Lecture

- Oxydase positive : une coloration violette apparaît sur le papier en quelques secondes.
- Oxydase négatif : absence de coloration.

Galerie classique**➤ Recherche du citrate perméase**

Détermine la capacité d'un micro-organisme d'utiliser le citrate comme seule source de carbone (la bactérie possède un citrate perméase). Cette étude peut se faire sur le milieu gélosé en tube : le milieu Citrate de Simmons.

Technique

La pente de milieu de Simmons estensemencée en stries longitudinales à partir d'une suspension bactérienne déjà préparée, puis incubée à 37°C pendant 24h (ne pas bien viser le bouchon pour permettre au CO₂ provenant de la décarboxylation du citrate de s'échapper).

Lecture

- Si le milieu vire au bleu on dit que la bactérie est citrate perméase+.
- Si le milieu reste vert on dit que la bactérie est citrate perméase-.

➤ Recherche de la nitrate réductase

Certaines bactéries peuvent réduire les nitrates (NO₃) en nitrite (NO₂) grâce au nitrate réductase. Quand la réaction est négative on a deux éventualités :

- Ou bien les nitrates ont d'abord été réduits en nitrites mais la réduction s'est poursuivie jusqu'au stade de l'ammoniac NH₃ ou à l'azote gazeux N₂.
- Ou bien les nitrates n'ont pas été réduits et se trouvent donc dans le bouillon nitrate. Dans ce dernier cas, on réduit chimiquement par la poudre de zinc les nitrates en nitrites et la réaction colorée des nitrites aura ainsi lieu.

Technique

Ensemencer le tube de bouillon nitrate à partir de la suspension bactérienne à étudier, incuber le tube dans l'étuve à 37°C pendant 24h. Après incubation, ajouter une goutte du réactif Nitrate I et une goutte de réactif Nitrate II (réactifs de GRIESS).

Lecture

- Si le milieu devient rose ou rouge la réaction est nitrate réductase (+).
- Si le milieu reste incolore ajouter une pincée de Zinc.
- Si une teinte rouge apparaît les nitrates n'ont pas été réduites par les bactéries qui sont nitrates réductase (-).
- Si le milieu reste encore incolore, les nitrates ont été réduites au-delà du stade nitrites, ce qui conduit à la formation d'ammoniac ou d'azote gazeux : les bactéries sont nitrate réductase (+).

➤ Test RM /VP

Le bouillon Clark et Lubs est le plus courant pour étudier les voies de fermentation du glucose. Ce bouillon permet de différencier les *Enterobacteriaceae* au moyen des réactions au rouge de méthyle et de Voges-Proskawer.

Les fermentations acides mixtes sont mises en évidence par la réaction au rouge de méthyle (RM) par acidification d'un milieu glucosé après fermentation du glucose.

La fermentation butylène glycolique est mise en évidence par la réaction de Voges Proskawer (VP). Ce test permet la mise en évidence de la production d'acétoïne (3-hydroxy-butanone) en présence d'une base forte.

Technique

- ❖ Ensemencer le milieu Clark et Lubs (milieu glucosé) par la suspension bactérienne.
- ❖ Incuber à 37°C pendant 24h.
- ❖ Pour le test RM : prélever 2 ml du milieu et le transvaser dans un autre tube puis ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle.
- ❖ Pour le test VP : 1 ml du milieu additionné de 0,5ml d'une solution à 6% d'alpha-naphtol dans de l'alcool à 90%. Ajouter 10 gouttes de VP1 et 10 gouttes de VP2 et incliner le tube pendant 20 min.

Lecture

- Teinte rouge : RM+
- Teinte jaune : RM-
- Anneau rouge en surface : VP+
- Anneau jaune en surface : VP-

➤ Recherche de décarboxylase

Trois principales enzymes sont recherchées dans le but d'identification : l'ODC, LDC, et l'ADH. Ces enzymes dégradent les acides aminés avec formation de produits alcalins (CO₂) dans un milieu acide et en anaérobiose. La production d'amine entraîne une alcalinisation facilement mise en évidence par le virage d'un indicateur de pH.

Technique

- Préparer 4 tubes contenant 5 ml de bouillon Moeller.
- Ajouter dans 3 de ces tubes respectivement de la lysine, de l'ornithine et de l'arginine, le tube restant servira de témoin (il ne contient que de glucose).
- Ensemencer ces tubes avec la suspension bactérienne déjà préparée.
- Recouvrir les tubes avec l'huile de vaseline stérile.
- Incuber à 37°C dans l'étuve pendant 24 h.

Lecture

- Témoin : le virage au jaune indique une fermentation de glucose et une acidification du milieu
- Coloration violet : réaction positive.
- Coloration jaune : réaction négative.

La galerie API 20 E

C'est un système d'identification rapide des *Enterobacteriaceae* qui consiste à réaliser 20 tests puis interpréter les résultats obtenus à l'aide de la base de données API 20 E. Elle comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée, les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux.

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

Technique

- Répartir 5ml d'eau physiologique dans les alvéoles (pour créer une atmosphère humide) de la boîte d'incubation.
- Préparer l'inoculum bactérien : une colonie dans 5ml d'eau physiologique.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules par l'huile de vaseline stérile.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 37°C pendant 24h.

- **Définition d'une BLSE**

Les β -lactamases à spectre élargi ou étendu désignent des enzymes « β -lactamases » produites par les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter sp* entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3^{ème} génération (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et aux monobactam (aztreonam), mais n'ont aucune activité vis-à-vis des céphamycines (cefoxitime, moxalactam) ni des carbapenemes (imipeneme).

- **Méthodes de détection de la BLSE**

- **Test de synergie**

Principe

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam).

- **Entérobactérie**

Technique

La recherche de la β lactamase à spectre élargi se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme, en déposant un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10 μ g) à 30mm centre à centre d'un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération Cefotaxime (CTX 30 μ g) ou Ceftriaxone (30 μ g).

Incuber 18H à 35°C.

Lecture

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques :

Amoxicilline+ acide clavulanique et le céfotaxime

Amoxicilline+ acide clavulanique et la ceftazidime

Amoxicilline+ acide clavulanique et l'aztréonam

Absence de synergie

En l'absence d'une image de synergie, la production de β LSE sera suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques de céphalosporines de 3^{ème} génération.

- *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter sp.* :

La détection est plus difficile en raison d'association avec d'autre mécanisme de résistance tels : hyperproduction de céphalosporine.

Technique

La recherche de la β lactamase à spectre élargie se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline + acide clavulonique (TCC 75/10 μ g) à 30mm (centre à centre) d'un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération ceftazidime (CAZ 30 μ g) et aztréonam (ATM 30 μ g).

Incubation :

Incuber 18 H à 35 °C

Lecture

Le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques :

Titracilline+ acide clavulonique et la céftazidime.

Titracilline+ acide clavulonique et l'aztréonam.

4 Test de confirmation (technique du double disque ou test espagnol)

Ce test devra être fait systématiquement devant :

- L'absence de synergie avec diminution des diamètres des Céphalosporines de 3^{ème} génération.
- La présence d'une résistance aux molécules suivantes (ampicilline, titracilline, cefazoline, avec un diamètre <6mm) par contre l'amoxicilline + acide clavulonique présente un diamètre d'inhibition.

Technique

- A partir d'une culture de 18H, préparer une suspension d'une opacité égale à 0,5Mcf selon la technique de l'antibiogramme.
- Ensemencer par écouvillonnage la boîte de Muller Hinton.
- Appliquer les disques d'antibiotiques :

Pour les Entérobactéries :

- Déposer un disque d'AMC (20/10 µg) et un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (céfotaxime 30µg ou ceftriaxone 30µg) à une distance de 30 mm (centre à centre).

Pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacterspp.* :

- Déposer un disque de TCC (75/10 µg) avec un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (céftazidime 30µg) ou monobactam (aztreonam 30µg) à une distance de 25 mm.

- Certains auteurs signalent une meilleure détection des BLSE en testant un disque de cefoperazone (75µg) avec un disque de TCC (75/10 µg).
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure à température ambiante (sur la paillasse) la boîte sera déposée le couvercle vers le haut.
- Après 1h d'incubation, ôter le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de cefotaxime ou ceftriaxone (ou ceftazidime).
- Incuber la boîte 18 h à 35°C.

Lecture et interprétation

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération.

L'interprétation du test consiste à répondre :

- Pour *Entérobactéries* : souche résistante à toutes les bêtalactamines sauf pour les cephamycines (céfoxitine) et l'imipénème.
- Pour les *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter sp.* : Souche résistante à toutes les bêtalactamines sauf l'imipénème.

- **Recherche de la résistance de *Staphylococcus sp* à l'oxacilline**

Technique

La résistance des staphylocoques aux isoxazolyl pénicillines (oxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de cefoxitine (30µg) dans les conditions standards de l'antibiogramme.

Lecture

La lecture du diamètre d'inhibition doit se faire à l'aide d'un pied à coulisse.

Pour *Staphylococcus aureus* :

- Si le diamètre de la cefoxitine est ≤ 19 mm, la souche est dite résistante à l'oxacilline (MRSA)
- Si le diamètre de la cefoxitine est ≥ 20 mm, la souche est dite sensible à l'oxacilline.

Résultats et discussion

II-RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus Durant cette étude prospective portant sur 144 prélèvements provenant de 47 patients brûlés (29 hommes et 18 femmes) collectés au niveau du service de la chirurgie plastique et des brûlés de l'Etablissement Hospitalier Spécialisé de Douéra (EHS) sur une période de six mois, allant du mois de mars jusqu'au mois d'août 2013, sont présentés ci-dessous.

II.1. Répartition des prélèvements selon la présence et l'absence de germe

D'après la figure n°4 (Tableau V Voir annexe III) et à partir des analyses effectuées, les résultats obtenus montrent que :

Sur le plan bactériologique, 90 prélèvements se sont révélés positifs (présence de germe), soit un taux de 62,50% et 54 prélèvements sont négatifs (absence de germe), soit un taux de 37,50%.

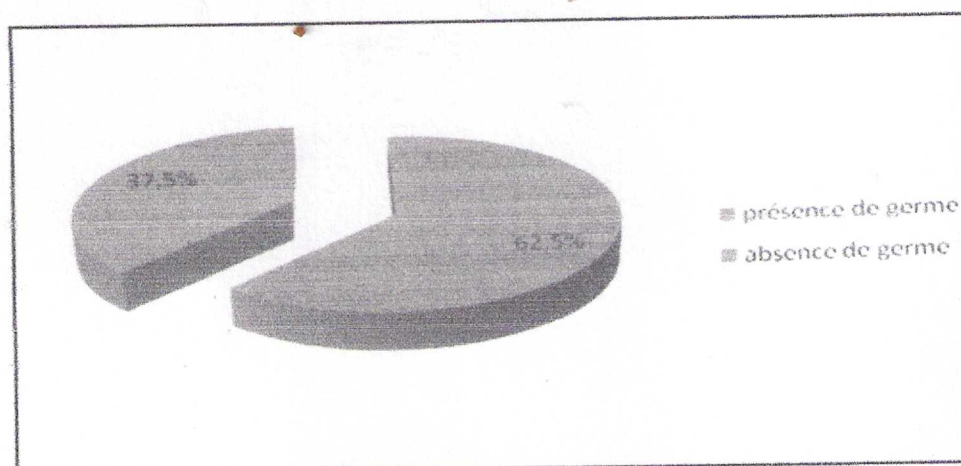


Figure.4. Répartition des résultats selon la présence et l'absence du germe

Le taux des prélèvements négatifs est de (37,5%). Ceci peut s'expliquer par le fait que les malades sont sous antibiothérapie. Dans ce cas, on parle d'infections décapitées soit à des prélèvements tardifs au cours de la maladie, soit à une quantité de sang insuffisante (Chablou, 2001).

Le taux élevé d'infection nosocomiale chez les patients atteints de brûlure, au statut immuno-dépressif du patient, aux procédures du diagnostic et thérapeutiques et le séjour prolongé dans les unités de soins intensives (USI) (Mehta et al., 2007).

Une surface humaine intacte de peau est essentielle à la conservation de l'homéostasie du liquide corporel, de la thermorégulation et de la protection du centre nerveux contre l'infection (Chalise et al., 2008). La perte de cette barrière cutanée facilite l'entrée de la propre flore de patient et des microorganismes de l'environnement de l'hôpital dans la blessure de la brûlure (Eglise et al., 2006 ; Lawrence, 2008).

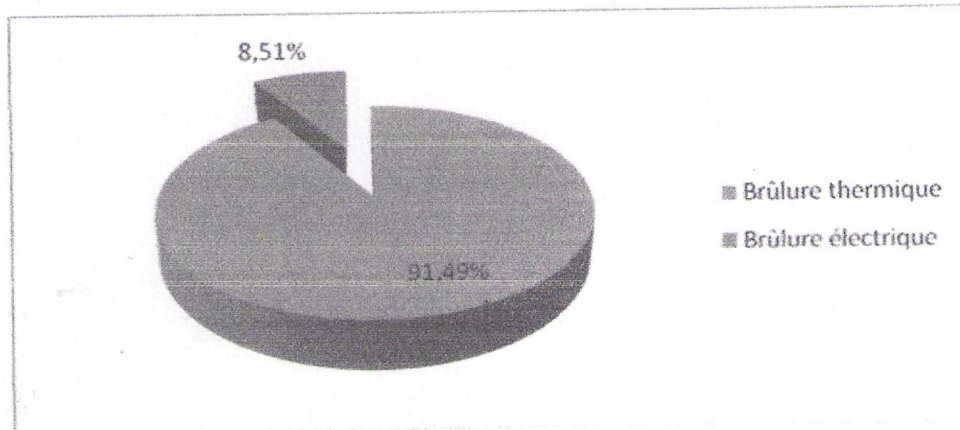


Figure.5. Répartition des brûlés selon l'agent causal

Ces constatations rejoignent celles de **Badetti et Manelli, (1997)**. Ces auteurs montrent que la grande majorité des brûlures est due essentiellement à une agression thermique de la peau par un agent physique responsable d'une augmentation anormale de la température.

L'électricité a été à l'origine de brûlures dans seulement 8,51% des cas, essentiellement représentées par l'électrification. Le manque d'expérience professionnelle, les accidents domestiques, les contacts accidentels avec des lignes à haute tension sont en grande majorité responsables de ce type de brûlure.

Selon **Vaudelin et al., (1997)**, six pour cent des accidents de travail sont dues au courant électrique à haute tension.

La figure ci-dessous montre que les brûlures thermiques sont plus répandues chez les hommes (53.19%) que chez les femmes (38.30%).

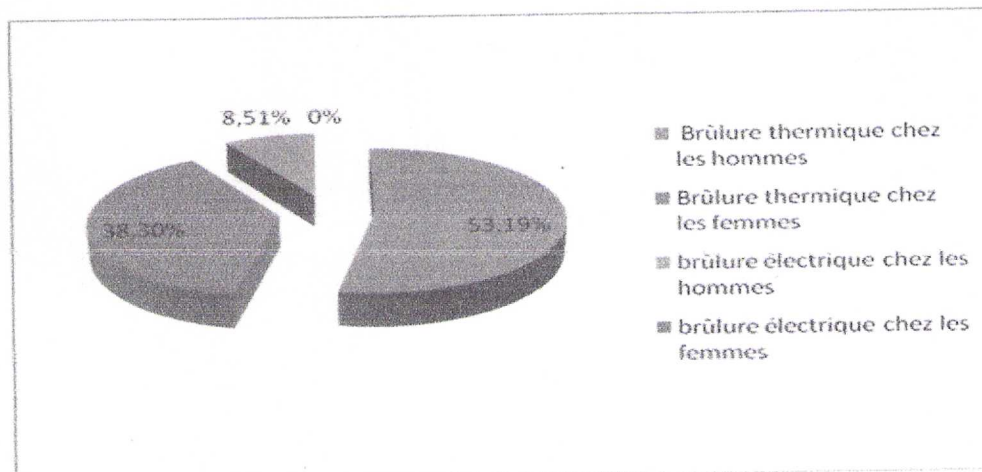


Figure.6. Répartition du type de brûlure en fonction de sexe

II.4. Répartition des prélèvements selon le service

La fréquence des infections bactériennes au niveau du service chirurgie homme (CHPH), service chirurgie femme (CHPF) et du service chirurgie de réanimation (CHPR) est illustrée par la figure n°7 (Voir Tableau IX, Annexe III). On signale une fréquence élevée des infections au niveau du service CHPR avec un taux de 92,22% suivie par les services CHPF et CHPH avec un pourcentage de 5,56% et de 2,22% respectivement.

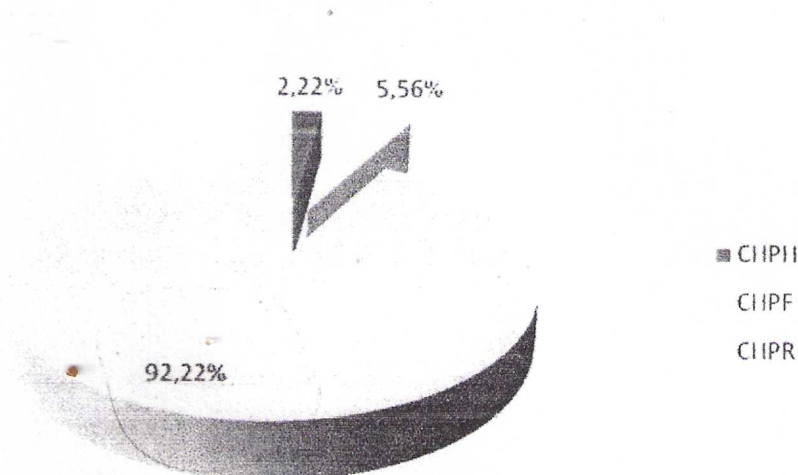


Figure.7. Répartition des prélèvements dans les services de la chirurgie plastique

Selon Buisson (2005), les infections nosocomiales sont particulièrement fréquentes chez les malades hospitalisés en réanimation, comparativement aux autres secteurs de soins. Cette situation est évidemment due à la conjonction de la fréquence de l'utilisation des dispositifs invasifs, de la réduction des défenses associées à l'immunodépression chez les grands brûlés.

II.5. Répartition des prélèvements selon l'âge

Par ailleurs et dans le but de déceler l'âge critique qui correspondrait aux infections chez les brûlés, nous avons répartis les patients infectés en tranches d'âge de 15 ans comme le montre la figure n° 8 (Tableau X en Annexe III).

L'analyse des résultats montre que le nombre de prélèvement positifs est plus élevé chez les personnes dont l'âge est compris entre 16 et 30 ans avec un taux de 51,06% suivi d'un taux de 23,40% chez les sujets entre 30 et 45 ans puis 21,28% chez les sujets âgés de plus de 60 ans et enfin seulement 4,26% chez les patients entre 45 et 60 ans.

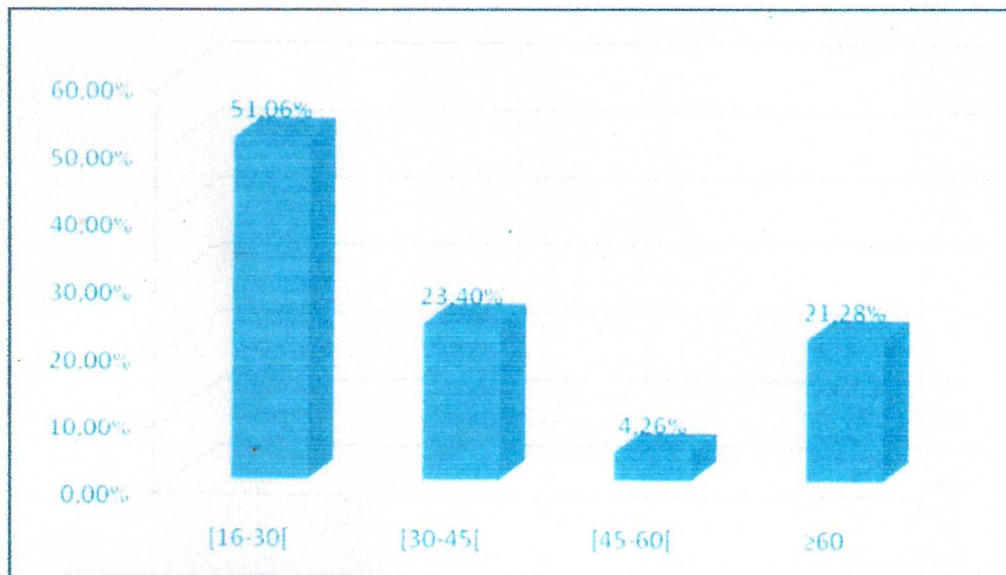


Figure.8. Taux d'infection chez les brûlés selon les différentes tranches d'âge

L'analyse de ce taux d'incidence des brûlures graves retrouvés dans cette étude signale un taux élevé chez l'adulte entre 16 et 30 ans ainsi que chez les personnes entre 30 et 45 ans. En effet, selon (El Mazouz et al., 2010), chez l'adulte jeune, que se soit en milieu domestique ou professionnel, les mauvaises conditions de sécurité et le manque d'expérience et d'information contribuent à la fréquence de ces brûlures. En outre, l'activité de l'adulte peut expliquer la fréquence des brûlures chez les sujets entre 30 et 45 ans comme l'a signalé Joucдар (1997).

II.6. Répartition des prélèvements selon le type de la culture bactérienne

La fréquence des types de cultures bactériennes est illustrée par la figure n°9 (tableau XI, Annexe III). On signale une fréquence élevée des cultures mono-bactérienne avec un taux de 80% par rapport à celles des cultures poly-bactérienne avec un taux de 20%.

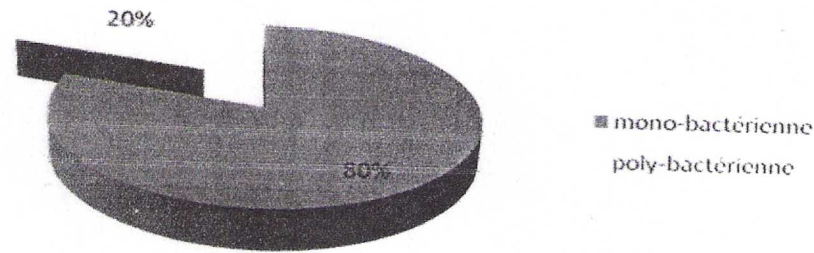


Figure.9. Représentation des résultats selon les types de cultures bactériennes

Les bactériémies sont le plus souvent mono-microbiennes. L'interprétation est simple si la bactérie retrouvée n'est jamais commensale de la peau. Si elle l'est, le microbiologiste doit essayer en collaboration avec le clinicien de distinguer les contaminants des bactériémies vraies (Grosjean *et al.*, 2011).

II.7. Répartition des prélèvements selon leur fréquence en fonction de service

D'après la figure ci-dessous, voir tableau XII (Annexe III), les résultats montrent que les bacilles Gram négatif sont représentés par un taux de 54,71%, c'est le groupe le plus prédominant, suivi par les Cocci Gram positif soit un taux de 45,27%.

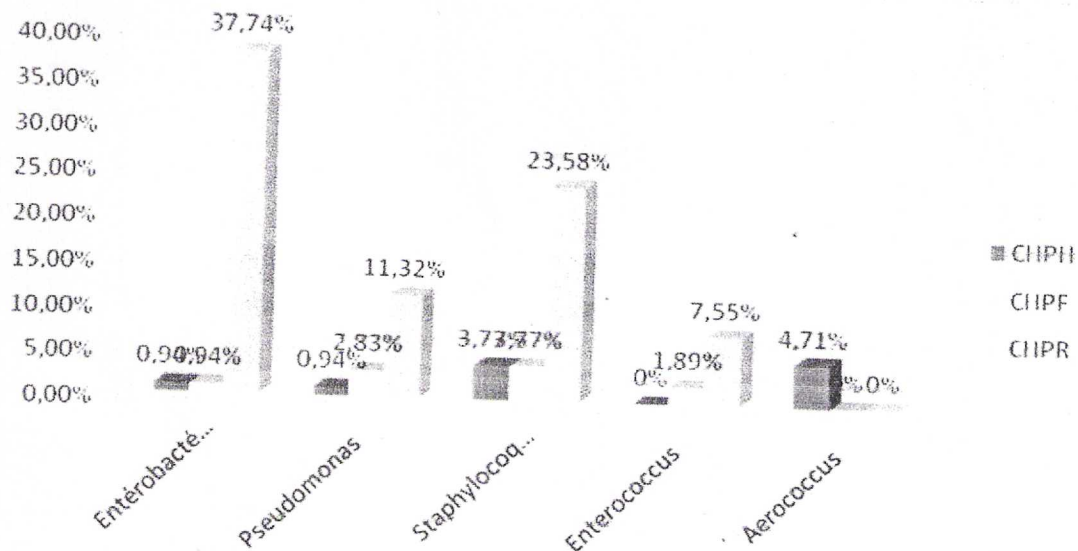


Figure.10. Répartition des germes identifiés selon leur nature.

Parmi les bacilles Gram négatif, on note la présence très importante des Entérobactéries avec une fréquence de 39,62%.

Selon **Pourriat et Martin, (2005)**, Chez les patients brûlés la translocation des BGN contenues dans le tube digestif est un des mécanismes impliqués dans la survenue des bactériémies.

Selon **Chakroun et al., (2009)**, les Cocci à Gram positif ont de tout temps, occupé une place importante dans les infections hospitalières. Leur présence est toujours préoccupante par :

- ↓ Leur survenue en milieu hospitalier, responsables d'infections nosocomiales.
- ↓ L'augmentation considérable, au cours de la dernière décennie, de la résistance des Cocci à Gram positif aux antibiotiques, avec l'apparition des souches multirésistantes, particulièrement en milieu hospitalier.

II.8. Répartition des bactéries isolées selon leur fréquence

La figure n11 (TableauXIII, Annexe III) montre que les prélèvements réalisés au niveau des trois services à savoir CHPH,CHPF et CHPR sont caractérisés par la prédominance de *Staphylococcus aureus* avec une fréquence de 19,80 % suivis par *Proteus (Proteus mirabilis et Proteus vulgaris)* avec une fréquence de 16,83% *Pseudomonas aeruginosa* occupe la troisième position avec une fréquence de 12,87% suivis par les *Staphylocoques à coagulase négative et Enterococcus sp* avec une fréquence de 9,90%.

La prédominance de *Staphylococcus aureus* à été citée par de nombreux auteurs citons **Ezzoubi et al., (2003)** dans une étude rétrospective portant sur 35 brûlés du Service des brûlés de Casablanca (Maroc), et **Thabet et al.,(2013)** dans une étude comparative de la résistance aux antibiotiques des principales bactéries isolées au service de réanimation des brûlés en Tunisie, Les staphylocoques dorés sont le plus souvent apportés par contamination croisée hospitalière (**Ezzoubi et al.,2004**).

Les SNC sont représentés par un taux de 9,90% ,cela est dû probablement au fait que les infections à staphylocoques sont d'origine endogène. La transmission directe manuportée d'homme à homme reste relativement fréquente, de même que la transmission indirecte par le matériel ou l'environnement contaminé. Selon **Berard (1998)**, ce type de microorganismes, est actuellement reconnu comme agents majeurs d'infections nosocomiales.

Selon **Tredget et al., (2004)**, *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie pathogène opportuniste fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales chez les brûlés . Sa prolifération est favorisée par un environnement humide souvent rencontré dans les centres de brûlés (pansements, solutions d'antiseptiques...). Cette bactérie est capable d'une survie

prolongée dans ces niches, qui constituent à la fois un réservoir et un vecteur de transmission pour ces patients (Bahar et al., 2010).

Les entérocoques (*Enterococcus faecium* et *E. faecalis* principalement) sont des bactéries commensales de la muqueuses digestive de l'homme (Dauger, 2010). Leur habitat expliquerait leur implication dans les infections nosocomiales chez les sujets immunodéprimés.

Concernant les BGN, les *Enterobacteriaceae* occupe une place importante parmi les germes rencontrés. Ils sont représentés par un taux de 42,57%. Selon Bernard (2003), les entérobactéries sont largement répandues dans l'intestin de l'homme et des animaux. Ils sont à l'origine des infections qui sont soit bien définies pouvant concerner tous les sujets soit non spécifiques atteignant les sujets immunodéprimés et en particulier ceux qui sont hospitalisés.

Enterobacter sp et *Serratia sp* possèdent la même fréquence de 7,92%. Alors que *klebsiella pneumoniae* et *Aerococcus sp* présentent des fréquences similaires de 4,95%

Citrobacter sp et *Escherichia coli* ont une fréquence moins importante de 2,97% et 1,98% respectivement

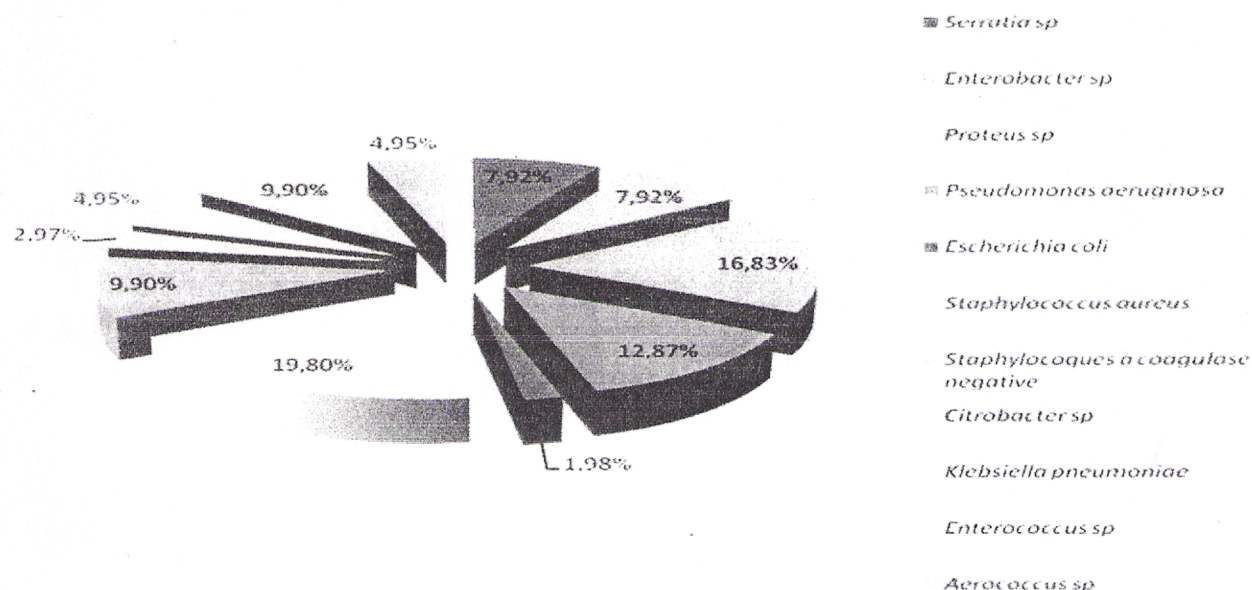


Figure.11. Fréquence des différentes bactéries isolées au niveau des services de chirurgie plastique.

II.9. Antibiorésistance

Les antibiotiques sont nombreux en raison de la variabilité des microorganismes pouvant être en cause, du caractère nosocomial et multi-résistant qu'ils peuvent présenter et du caractère de gravité des infections qu'ils génèrent chez le brûlé.

↓ Chez les Entérobactéries

Les antibiotiques testés sont : Ampicilline (AM), Amikacine (AK), l'Ampicilline+acide Clavulanique (AMC), Céfoxitine (FOX), Gentamicine (GN), Ciprofloxacine (CIP), Chloramphénicol (C), Céfotaxime (CTX), l'Imépinème (IPM), Céfazoline (CZ), Ertapénème (ETP), Ofloxacine (OFX), Cholistine (Cs).

D'après les résultats de la figure n°12 (Tableau XIX, Voir annexe III), on note que :

Les entérobactéries présentent une résistance totale vis-à-vis de l'Ampicilline (AM), suivi par une fréquence de résistance élevée vis-à-vis de l'Ampicilline+acide Clavulanique (AMC) (97%), au Céfazoline (CZ) (93%) et de 69% à la Céfotaxime (CTX).

Une résistance moyenne a été notée vis-à-vis de la Gentamicine, la Cholistine et la Chloramphénicol avec un taux de 64%, 62% et 61% respectivement.

Une résistance modérée à la Céfotaxime (CTX) avec un taux de 52% et à l'Amikacine avec un taux de 45% est notée.

Une faible résistance de 33% vis-à-vis de l'Ofloxacine (OFX) et de 20% pour la Ciprofloxacine (CIP) est signalée.

Ces germes présentent une sensibilité totale (100%) vis-à-vis de l'Imépinème (IMP) et l'Ertapénème (ETP).

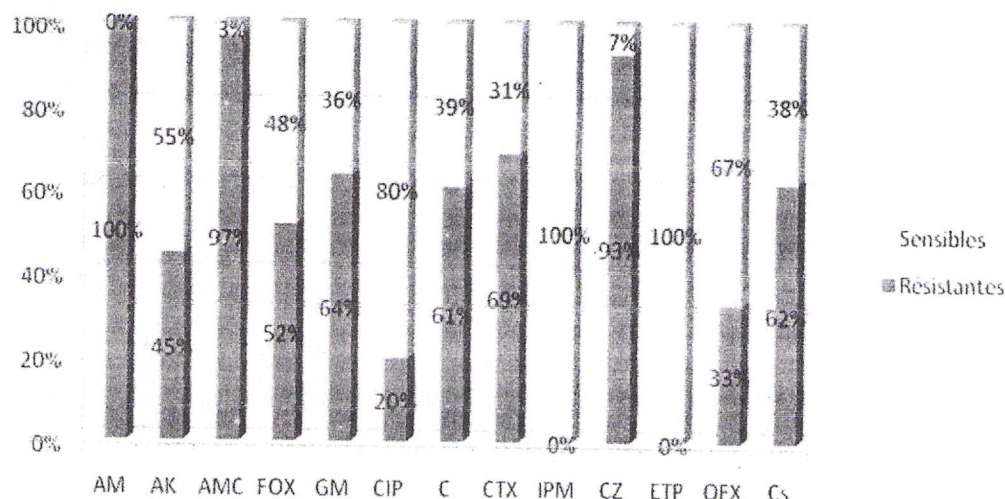


Figure.12. Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches d'Entérobactéries

L'étude de l'antibiorésistance des différentes souches microbiennes, indique que les entérobactéries présentent des taux de résistance élevés vis-à-vis des B-lactamines.

Selon Livermore (2003), chez les entérobactéries, le mécanisme prédominant de résistance aux B-lactamines est la production de B-lactamases.

Selon Wang *et al.*, (2001), les mécanismes de résistance des entérobactéries aux fluoroquinolones sont de deux types : a) altération de la cible des fluoroquinolones ; b) efflux avec diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique. C'est l'expression d'une protéine *acrR* par mutation du gène qui entraîne cet effet .

Les fluoroquinolones sont largement actives *in vitro* sur plus de 80 % des souches d'entérobactéries, sauf pour *Enterobacter aerogenes* et *Providencia stuartii* où le taux de sensibilité est faible. Ces modifications de sensibilité sont parallèles à une augmentation de 2,5 fois de l'utilisation des quinolones (ciprofloxacine, lévofloxacine, ofloxacine) dans les traitements des pneumopathies aiguës communautaires, des infections urinaires et des tissus mous (Neuhauser *et al.*, 2003).

Selon Wolff *et al.*, (2009), les carbapénèmes sont des B-lactamines possédant un très large spectre antibactérien doublé d'une grande stabilité envers la quasi-totalité des B-lactamases. Pour cette raison, ils font partie des antibiotiques utilisés en première ligne au cours du traitement probabiliste des infections nosocomiales sévères.

L'Imipénème traverse la membrane externe des BGN par des porines spécifiques. Il reste donc actif sur les mutants de perméabilité aux autres bêtalactamines (Martin, 2008).

La répartition des entérobactéries productrices d'une β - lactamase à spectre élargi est représentée comme suit :

D'après la figure ci-dessous, voir tableau XX (Annexe III), Nous avons signalé la présence de 5 souches de *Klebsiella pneumoniae* et de 3 souches d'*Enterobacter cloacae* productrices de B-lactamases à spectre élargies (BLSE) soit un taux de 62,50% pour *K. pneumoniae*.

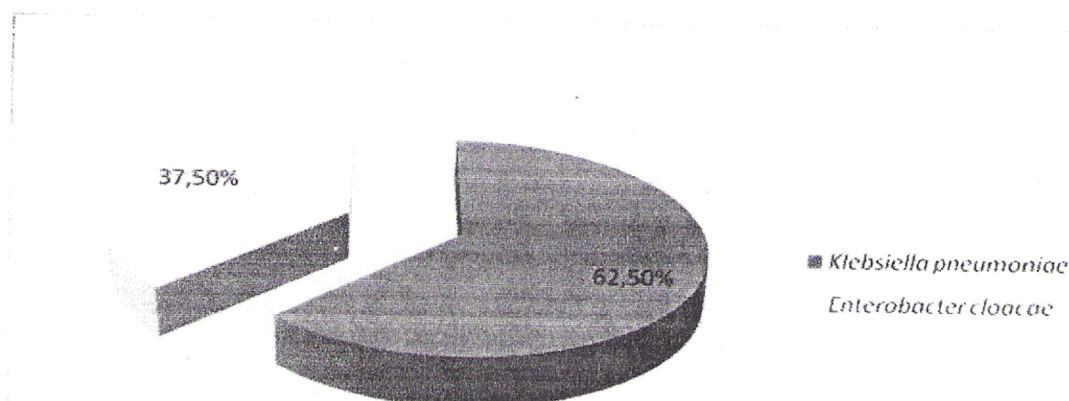


Figure.13. Fréquence des β -lactamases à spectre élargi chez les entérobactéries

Les bactéries multirésistantes (BMR) représentent un problème de santé publique mondiale, majoré par la pression de sélection bactérienne imposée par la prescription toujours croissante d'antibiotiques. Cette pression de sélection est d'autant plus marquée que le nombre de patients traités est important et que la durée de l'antibiothérapie est longue (Follath et al., 1987). Le deuxième facteur de risque concerne la dissémination des souches résistantes et englobe d'une part le problème des « réservoirs » et d'autre part le problème de la transmission des germes (Lucet et al., 1996).

Selon Vodovar et al; (2012), les entérobactéries productrices de bêta- lactamases à spectre élargie (BLSE) sont à l'origine d'infections potentiellement sévère et de prescription d'antibiotiques à large spectre. Selon Panoff (2013), *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter* possèdent la capacité de sécréter les B-lactamases. Elles sont généralement résistantes et entraînent l'apparition d'infections nosocomiales. 82% de *Klebsiella pneumoniae* et 2,5% d'*Enterobacter cloacae* sont productrices de B-lactamase, résultant de la diffusion et du transfert de plasmides à ces entérobactéries; par hypothèse, toutes les entérobactéries peuvent, avec des fréquences variables hébergées le plasmide et produire ces enzymes qui toutes dérivent des B-lactamases de type TEM ou SHV, soit une trentaine d'enzymes résultant de mutations ponctuelles (Eyquem et al., 2000).

4 Chez *Pseudomonas aeruginosa*

Les antibiotiques testés sont : Aztréonam (ATM), Céfotaxime (CAZ), Tobramycine (TM), Nétilmicine (NET), Ciprofloxacine (CIP), Pipéracilline (PIP), Imipénème (IPM), Cholistine (Cs), Amikacine (AK), Gentamicine (GM), Ticarcilline (TIC), Levomycine (LEV).

A partir des résultats de la figure n° 14 (Tableau XXI (Annexe III), on remarque que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* présentent une résistance totale (100%) vis-à-vis de l'Imipénème (IPM), de la Ticarcilline (TIC), de l'Amikacine (AK), de la Nétilmicine (NET) et la Tobramycine (TM) et une résistance très élevée vis-à-vis de Gentamicine (GM), de la Pipéracilline (PIP), et de la Céfotaxime avec une fréquence similaire de 91% et une fréquence de 82% vis-à-vis de la Ciprofloxacine (CIP) et Levomycine (LEV) à été signalée.

Une résistance modérée à l'Aztréonam (ATM) avec un taux de 73% à été observée.

La Cholistine était en général l'antibiotique le plus efficace sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

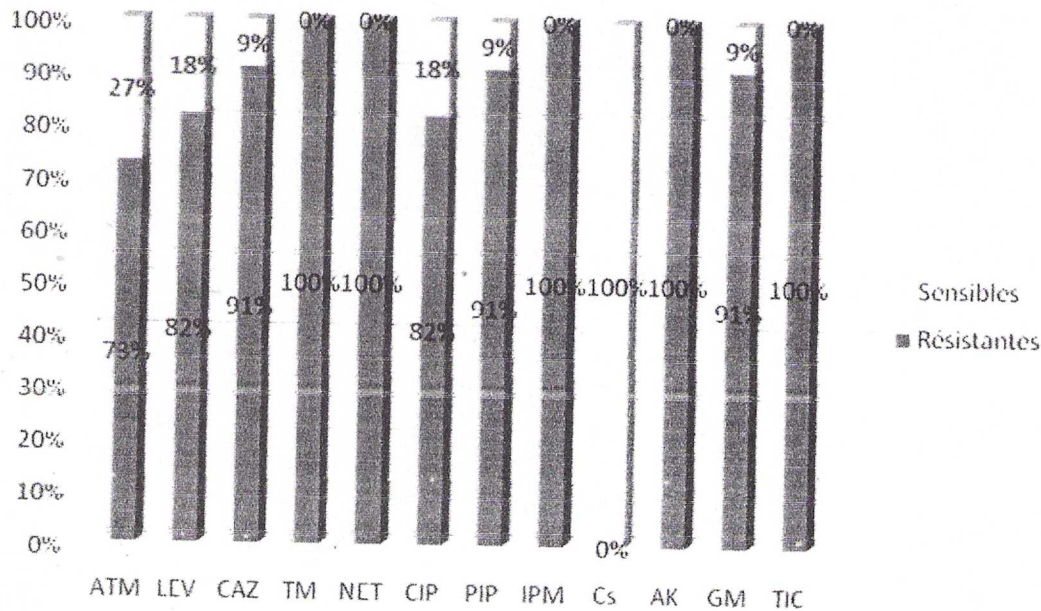


Figure.14. Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*

Les bactéries rencontrées étaient multi résistantes au fait de l'accumulation des résistances naturelles et/ou acquises, elles n'étaient sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique. Au Maroc, **Siah et al., (2009)** ont rapporté un taux de multirésistance de 60% chez *Pseudomonas aeruginosa*. Les raisons reposent principalement sur la pression de sélection exercée par les antibiotiques et la diffusion des souches résistantes (**Jarlier et al., 2004 ; Fagan et al., 2000**).

Selon **Livermore (2002)**, *Pseudomonas aeruginosa* possède une membrane externe faiblement perméable, ce qui lui confère une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques, dont la plupart des B-lactamines hydrophiles. Mais cette résistance naturelle résulte le plus souvent de l'intervention d'autres mécanismes, comme la production d'une céphalosporinase chromosomiques et l'existence d'un système d'efflux exprimée constitutivement (MexAB-OprM). Cette espèce bactérienne est donc naturellement résistante aux pénicillines du groupe A, aux céphalosporines de première et deuxième génération, au chloramphénicol, aux tétracyclines et au triméthoprim.

L'association de plusieurs mécanismes de résistances aboutit à des souches multirésistantes à la plupart des antibiotiques habituellement utilisés en thérapeutiques dans les infections à *Pseudomonas aeruginosa* (**Livermore, 2002**).

Selon **Mérens et al., (2013)**, Une souche multirésistante est définie comme ayant acquis une résistance dans au moins trois familles d'antibiotiques habituellement actifs comme les B-lactamines anti *Pseudomonas*, les fluoroquinolones et les aminosides.

L'émergence de résistance du *Pseudomonas* à l'Imipenème pose un réel problème quant à la prise en charge des patients, en effet celui-ci a longtemps figuré dans le schéma thérapeutique dans le service des brûlés (Trystram, 2003).

Selon Quale *et al.*, (2006), chez *Pseudomonas aeruginosa*, la perte de la porine OprD est responsable d'une augmentation de la CMI mais doit s'accompagner d'une production d'une céphalosporinase pour produire une véritable résistance à l'Imipénème.

La mortalité importante causée par *Pseudomonas aeruginosa*, justifie une bithérapie par b-lactamines et aminosides, dont l'intérêt a été démontré chez le patient immunodéprimé (Mendelson *et al.*, 1994). L'éradication passe par le contrôle de la cause (cathéters centraux, sonde urinaire, endocardite, pneumopathie), mais les rechutes sont fréquentes (Dropulic, 1995).

↳ Chez les staphylocoques

Les antibiotiques testés sont : Vancomycine (VA), Tétracycline (TE), Erythromycine (E), Rifampicine (RA), Triméthoprime+sulfamithoxazole (SXT), Kanamycine (K), Oxacilline (OX), Gentamicine (GM), Céfoxitine (FOX), Pristinamycine (PT), Acide Fucidique (FA), Amikacine (AK), Pénicilline (P), Chloramphénicol (C), Fosfomycine (FOS).

D'après les résultats de la figure n°15 (Tableau XXII (Annexe III), on note que les souches des staphylocoques présentent une sensibilité totale (100%) vis-à-vis la Vancomycine (VA).

Une sensibilité vis-à-vis de la Rifampicine (RA) avec un taux de 84%, à la Fosfomycine (FOS) avec un taux de 80%, à la Pristinamycine (PT) avec un taux de 81% et au Chloramphénicol (C) avec un taux de 74% à été notée.

Les souches de staphylocoques présentent une résistance totale (100%) vis-à-vis de la pénicilline (P) et une résistance élevée à la céfoxitine (FOX) et l'Oxacilline (OX) soit un taux similaire de 89% suivis par une résistance élevée à la Kanamycine (K) et l'Amikacine (AK) soit un taux similaire de 83% et un taux de 75% vis-à-vis de l'Acide fucidique (FA)

Une résistance modérée de 53% vis-à-vis de la tétracycline (TE) et de l'érythromycine (E) à été signalée.

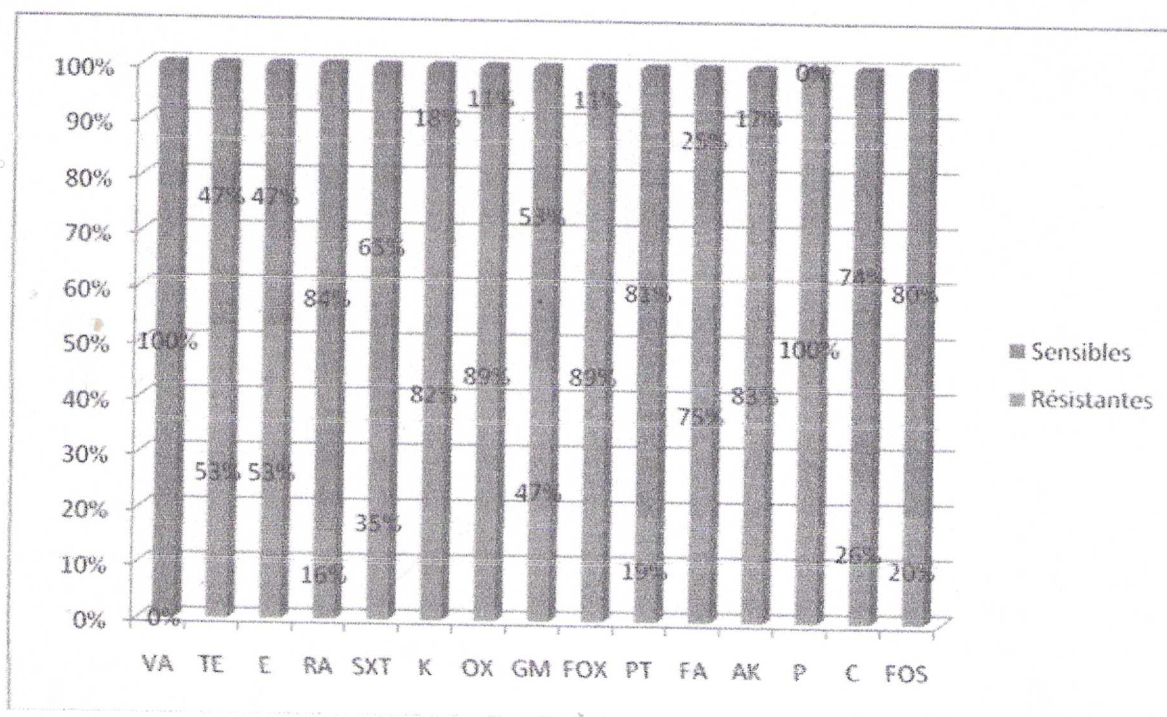


Figure.15. Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de Staphylocoques

Le mécanisme de résistance à la pénicilline repose sur la synthèse par la bactérie d'une enzyme appelée B-lactamases ou pénicillinases. Cette enzyme plasmidique inductible hydrolyse le cycle B-lactame des pénicillines A et G et les rend inactives (**Korta et Mobashery, 1998**). La production de cette enzyme est inactivée par les inhibiteurs de pénicillinases (Acide clavulanique, Sulbactam, Tazobactam) (**Eveillard, 2007**).

Dans notre étude, les souches isolées du genre *Staphylococcus* présentent une résistance élevée à l'Oxacilline. La dissémination de telles souches dans l'environnement hospitalier constitue un véritable danger pour les patients hospitalisés.

La résistance à la méticilline est croisée vis-à-vis des autres B-lactamines ce qui implique que les souches méticillino-résistant doivent toujours être considérées comme résistantes à toutes les B-lactamines y compris aux céphalosporines de 3^{ème} génération (**Katayama et Hiramatsu, 2000**). Cette résistance à la méticilline est due à la synthèse d'une protéine supplémentaire, la PLP2a pour laquelle les B-lactamines n'ont qu'une très faible affinité, la synthèse de cette protéine est liée à la présence d'un gène chromosomique ; le gène *mecA*, la résistance conférée touche l'ensemble des B-lactamines. De plus il existe souvent une co-résistance à d'autres familles d'antibiotiques (macrolides, aminosides, fluoroquinolones.....etc) (**Bajolet et brasme, 2003**).

Les glycopeptides (Teicoplanine et vancomycine), sont utilisés en alternatives aux B-lactamines dans les traitements des infections à staphylocoques dorés méticillino-résistants.

Hiramatsu et al., (1997) décrivaient le premier *Staphylococcus aureus* clinique isolé avec une résistance intermédiaire à la Vancomycine. Ces souches de sensibilité diminuée aux

glycopeptides sont désignées comme GISA : Glycopeptides intermediate *Staphylococcus aureus* (Pesavento et al., 2007).

Selon McCallum et al., (2010), le mécanisme de résistance à la Vancomycine est lié à un épaissement de la paroi bactérienne qui piège les glycopéptides dans les couches superficielles en les empêchant d'atteindre la membrane cytoplasmique ou le peptidoglycane est synthétisé. Cette résistance est due à des mutations de *S.aureus*, obtenues après transfert conjugatifs de l'opéron de gene vanA codant pour la résistance à la vancomycine chez les entérocoques résistants aux glycopeptides (Tankovic et al., 1997 ; McCallum et al., 2006).

Les staphylocoques possèdent une résistance naturelle aux aminosides (la Gentamicine et l'Amikacine) par défaut de pénétration (Belouni et al., 2009).

Les Staphylocoques sont sensibles à la Rifampicine, car ce dernier bloque la transcription de l'ADN en ARN par inhibition de l'ARN polymérase. Son effet bactéricide, lui confère une excellente activité sur les Gram positif (Belouni et al., 2009).

➤ Chez les Streptocoques:

Les antibiotiques testés sont : Tétracycline (TE), Ampicilline (AM), Erythromycine (E), Triméthoprim + sulfamithoxazole (SXT), Céfotaxime (CTX), Vancomycine (VA), Chloramphénicol (C), Pénicilline (P), Fosfomycine (FOS), Clindamycine (DA), Pristinamycine (PT), Gentamicine HN (GM Hn).

D'après les résultats de la figure n°16 (Tableau XXIII (Annexe III), on note que les souches des streptocoques présentent une résistance totale (100%) vis-à-vis de la Pénicilline (P), la Clindamycine (DA) et de l'Erythromycine (E) suivis par une résistance élevée vis-à-vis de la Céfotaxime (CTX) et de la Gentamicine HN (GEH) soit un taux similaire de 88,89%, de la Tétracycline (TE) et de la Triméthoprim + sulfamithoxazole soit un taux similaire de 77,78%

Une résistance modérée à l'Ampicilline (AM), à la Fosfomycine (FOS) et à la Vancomycine soit un taux de 55,56%, 37,50%, 44,45% respectivement.

Ces souches présentent une très faible résistance vis-à-vis du Chloramphénicol (C) avec un taux de 25% .

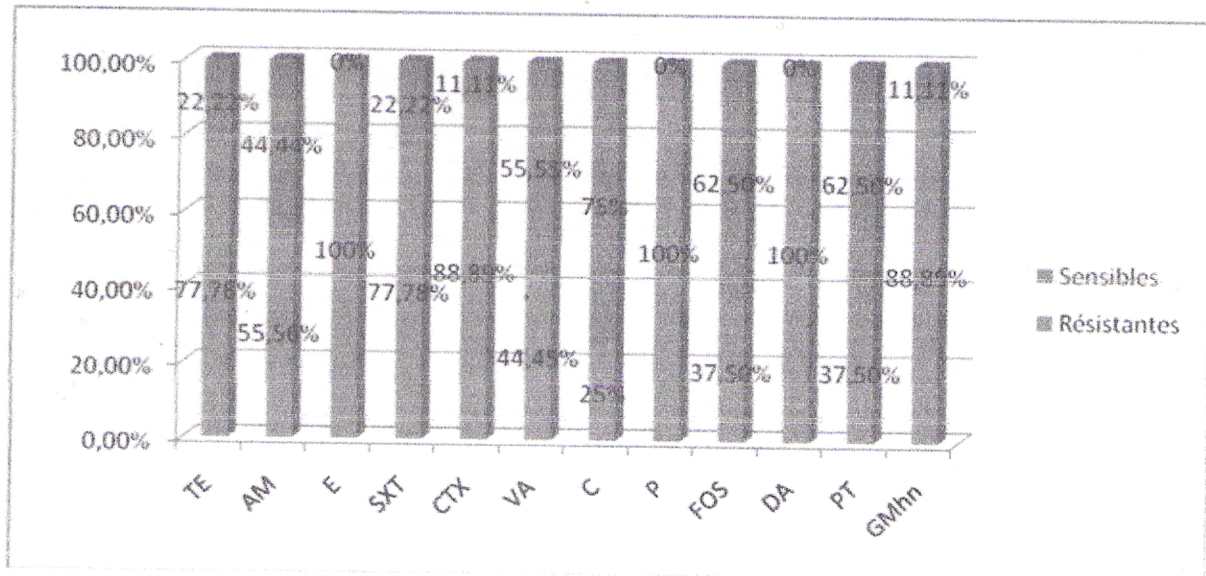


Figure.16. Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches des streptocoques

Selon **Auffray (2006)**, les entérocoques sont peu sensibles à l'action des B-lactamines et ont naturellement une résistance de bas niveau aux aminosides. Les *Streptococcus* ont une résistance naturelle aux aminosides due au fait que les aminosides ne traversent que très peu la membrane cytoplasmique (**Nauciel, 2000**).

Des souches résistantes aux glycopeptides sont de plus en plus décrites. Chez *Enterococcus faecium*, cette résistance peut accompagner celle aux pénicillines et aux aminosides aboutissant à des épidémies de septicémies mortelles (**Auffray, 2006**).

Conclusion

L'infection nosocomiale reste une cause majeure de mortalité et morbidité chez le brûlé.

90 cas se sont révélés positifs, avec présence de germes et 54 prélèvements négatifs avec une absence totale de germes.

A l'issue de cette étude on peut conclure que les Cocci Gram positif sont responsables de la majorité des septicémies chez les grands brûlés avec un taux de 57,43%, caractérisés par la prédominance de *Staphylococcus aureus* avec une fréquence de 19,87%. Quant aux Enterobactéries, ils occupent une place importante avec un taux de 42,57%, les *Proteus* sont classés en première position avec un taux de 16,83%.

Concernant *Pseudomonas aeruginosa*, il occupe une troisième position avec une fréquence de 12,87%, suivi par les Staphylocoques à coagulase négative et *Enterococcus* sp avec une fréquence similaire de 9,99%.

Les autres espèces comme *Enterobacter* sp, *Serratia* sp, *Klebsiella pneumoniae*, *Aerococcus* sp, *Citrobacter* sp et *Escherichia coli* ont une fréquence moins importante comprises entre 1% et 7%.

L'augmentation de la résistance aux antibiotiques des germes impliqués dans ces infections aggrave le pronostic de ces patients et constitue un énorme problème thérapeutique. Dans notre étude, une résistance importante a été notée chez les Entérobactéries vis-à-vis des B-lactamines : Ampiciline (100%), Amoxicilline + acide clavulanique (97%), céfazoline (93%). Concernant *Pseudomonas aeruginosa*, une résistance totale a été marquée vis-à-vis de l'imipénème, Tobramycine, Netilmicine, Amikacine et Ticarcilline et une résistance importante vis-à-vis la Ciprofloxacine (82%).

Nous avons également signalé la présence de 8 cas de BLSE (*Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae*) et 18 cas résistants à la Méricilline (SARM) pour les souches du genre *Staphylococcus*.

Recommandation :

Les infections nosocomiales ne peuvent être totalement évitées mais le respect strict des règles d'hygiène permet de diminuer le risque, pour cela on proposera certaines recommandations:

- ⚡ Création dans chaque hôpital d'un « comité de lutte contre l'infection nosocomiale » (CLIN).
- ⚡ La surveillance épidémiologique des infections nosocomiales par des experts rendant compte de la situation de chaque service.
- ⚡ Promouvoir la recherche sur les mécanismes, l'impact, la prévention et la perception des infections nosocomiales.

- ‡ L'enseignement permanent de la discipline d'asepsie et de l'hygiène pour le personnel et pour le malade.
- ‡ L'équipement des hôpitaux en matériel de soins adéquat.
- ‡ L'utilisation raisonnée des antibiotiques et des contrôles réguliers.
- ‡ La pratique d'un antibiogramme avant toute antibiothérapie.

Conclusion

Références Bibliographiques

- **Askarian M, Hosseini R, Kheirandish P, Memish Z 2003.**, Incidences of the infections of urinary tract and blood circulation in the center of burn of Ghotbeddin; 14(2):127-35
- **Auffray JP., 2006.** Septicemies, Faculté de Médecine de Marseille 14p.
- **Avril JL, Denis.F,Debernat-H,Montiel.H,2000.**Bactériologie clinique. Ed : Ellipses-602p.
- **Baccar K-B., (2001)** : Prise en charge des brûlures graves dans le service de réanimation polyvalente du CHU de DAKAR, Etude retrospective à propos de 43 cas. Thèse Doctorat, Université Cheikh AntaDiop de Dakar,151 p.
- **Bahar M-A.,Jamali S., SamadiKuchaksaraci A., 2010.**Imipinem resistant Pseudomonas aeruginosa strains carry metallo, lactamase gene bla VIM in a level Iranien burn hospital.Burn ;36 :826-30
- **Bajolet,O., Brasme, L.2003.**Dépistage des bactéries multirésistantes aux antibiotiques,laboratoire de bactériologie, virology,hygiène,centre hospitalier universitaire: Robert-Debré.Biologie Clinique.(25) :2p.
- **Baudry,H. et Brézellec.,2006** : Microbiologie-immunologie-Ed :Porphyre,France,129p
- **Bernard,J.2003.** Entérobactéries systématique et méthode de diagnostic.Paris.112-115p.
- **Boccara D-J., 2008** : Evaluation Clinique, Photographique, et évolutive de la profondeur des brûlures : à propos de 1002 cas, Thèse Doctorat, Université Paris 7-Denis Diderot.
- **Buisson, C-B., 2005.** Risques et maîtrise des infections nosocomiales en réanimation, France,463-471.
- **Chablou, M.2011.** Les infections nosocomiales au service de réanimation polyvalente de Fès.110p.
- **Chakroun,M., Hsairi,M., EL Adbi,H., Ben Jemaa,M., Besbes,M.,Belkhodja, K.,2009.**Infections with cocci with gram positive : registre regain. Rev TunInfectiol, Avril 09,3 (2) : 6-13.
- **Chalise, CL., Bhattacharya SK., Shrestha S, Sherpa K, Népal U, Bhattachan.(2008).** Epidimiologie and bacteriological profile of the patients of urn at the hospital of teaching of medical university of Neapal . Med collJof Nepal; 10 (4): 233-237.
- **Delarras.C,2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de controlesanitaire.Ed: Tec& Doc .476 p.

- **Demirdjian H., 2006** - La pénicilline I. Découverte d'un antibiotique. Eduscol
- **Dropulic LK, Leslie JM, Eldred LJ, Zenilman J, Sears CL.,1995.**Clinical manifestations and risk factors of *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with AIDS. *J Infect Dis* ; 171 : 930-7
- **Dupent.H., (2010):** Prise en charge initiale du grand brûlé, disponible à : <http://www.em-consulte.com/article/232050/article/prise-en-charge-initiale-du-grand-brule>
- **Dupont, H.2000.,** Infection à Staphylocoque, Conférences d'actualisation, Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS, et SFAR , France, 447-463p.
- **Eberlin.T,1997.**Les antibiotiques ;mode d'action ;utilisation thérapeutiques : classifications.Ed :Nathan.128p. Edition Flammarion. 221 pages (40-190).
- **El Danaf A., Alsulash S. et al ;1991:** Analysis of 105 patients admitted over a 2-year period to a modern burns unit in Saudi Arabia. *Burns*, 17: 62-4,.
- **El Mazouz S.,Fejjal N.,Hafidi J., Cherkab L.,Mejjati H.,Belfqih R.,Gharib N.,Abassi A.,2010.**La greffe de peau dans le traitement des séquelles de la main brûlée. A propos de 152 cas. Expérience de service du service de chirurgie plastique du centre hospitalier universitaire IBN-SINA,RABAT, MAROC,39-42.
- **Eveillard M., 2007.** Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat en biologie cellulaire. Université d'engher, France.
- **Eyquem A., Alouf J., Montagnier L., 2000.** Traité de microbiologie clinique: deuxièmes mises à jour et compléments.Ed.Piccin,Italie, 228p.
- **Ezzoubi M., Benbrahim A., Elmounjid S., Fassi Fihri J., Bahechar N., Boukind E.H.2004.** Conduite pratique de l'antibiothérapie chez les brûlés.Service des Brûlés et de Chirurgie Plastique du CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc.
- **Ezzoubi M., Ettalbi S., Elmounjid S., Mradmi W., Bahechar N., Boukind E. 2003.** L'infection dans un service de brûlés. Service des Brûlés et de Chirurgie Réparatrice, Centre Hospitalier Universitaire Ibn Rochd, Maroc.
- **Fagan J-Y., Chastre J., Wolff M., Gervais C., Parer-Aubas S., Stephan F, et al. 2000.** Invasive and non Invasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia, ; 21-30.
- **Fauchere .J-L,Avril.J-L,2002.**Bactériologie générale et médicale.Ed :Ellips. 368p.
- **Fauville J-P., (2011) :**Les brûlures électriques,disponible à : <http://www.symposium-urgence-charleroi.be/pdf/2011%20-%20brulures%20electriques.pdf>
- **Fingerhut,A.,Quevanvilliers,J.,Somogyi,A.2007.**Dictionnaire médicale. Eddition :Elsevier Masson,1516p.
- **Follath F, Costa E, Thommen A, et al. 1987.** Clinical consequences of development of resistance to third generation cephalosporins. *Eur J Clin Microbiol* ; 6 : 446-50.
- **Geyik MF, Aldemir M, Hosoglu S, Tacyildiz HI. 2003.,** Epidemiology of the infections of unit of burn in the children. *AM J infectent la commande* ; 31 (6) : 342-6.
- **Grosjean, J., Clavé, D., Archambaud, M., Pasquier, C., 2011.** Bactériologie et virologie pratique. 2^{ème} édition révisée. De Boeck. Bruxelles, 290p.
- **Gueugniaud PY, Vaudelin G, Bertin-Maghit M, Petit P,1997.** Accidents d'électrification. In : Sfar, Ed. Conférences d'actualisation. 39^e Congrès national d'anesthésie et réanimation. Paris : Elsevier ;. p. 479-97.

- **Guyleyrat et Joffin, 1998.** *Pseudomonas aeruginosa* et apparentés Syst, Microbiol.1-6p.
- **Jarlier V.,** Bactéries multi-résistantes dans les hopitaux français : des premiers indicateurs au réseau d'Alerte, d'investigation, et de surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN) BEH.
- **Joucdar., 2000:** Les antibiotiques, les principales familles. Laboratoires bactériologie hygiène, CHU Rangueil Toulouse.
- **Joucdar.s,1997.** brûlure et brulés.ED :office des publications universitaire 360 p.
- **Katayàuma Y.,Hiramatsu K. 2000.** A new class of genetic element, *Staphylococcus aureus* fatty acid modifying enzym (FAME) and its inhibition by glycerides. J. Med Microbiol 37,235-237.
- **Korta L-P., Mobashery S., 1998.** B-lactam antibiotic, B-lactamases and bacterial resistance. Bull. inst.Pasteur, Elsevier Paris.96 :139-150.
- **Lacombe K., Abdel-Malek k., Jean-Christophe M.,1996.** Santé publiques : medecine légale, médecine du travail.Ed : Med-Line.Paris.201p.
- **Lamnaouer., 2002 :** Bactériologie médicale. Ed: Flammarion,Paris.200-202p.
- **Latarjet J.,Lebreton., Montpellier F.,Perro G., Ravat F.2008.** Rapport annuel concernant l'épidémiologie de la brûlure en France métropolitaine.Ed : Claude Bernard, France.
- **Lawrence C. Madoff, F., 2008.** In: Principle of internal medicine, Harrison, ED of S. 17th. McGraw-McGraw-Hill, P: 835-836
- **Livermore D-M., 2003.** « Bacterial resistance : Origins, Epidemiology, and Impact, » *Clinical Infectious Diseases* : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America 36, no. Suppl 1: S11-23.
- **Livermore D-M.,2002.** Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* ;34 : 634-640.
- **Lucet JC, Chevret S, Decre D, et al. 1996.,** Outbreak of multiply resistant enterobacteriaceae in an intensive care unit: epidemiology and risk factors for acquisition. *Clin Infect Dis* ; 22 : 430-6.
- **Manelli JC, Badetti C ;1997.** Réanimation et anesthésie du brûlé. *Encycl Med Chir* (Elsevier, Paris). Anesthésie-Réanimation, 36-645 - A 10. : 20 p.
- **Martin, C. 2008.** Urgences et infections : Guide du bon usage des antibiotiques, antifongiques, antiviraux et antiseptiques. Arnette Edition. 247 p.
- **Martin.C.,2008 :**Urgence et infections.Ed : ARNETTE,France,198p.
- **McCallum N., Berger –Bachi B., Senn M.2010.** Regulation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology* 300,118-129.
- **McCallum N., Karauzum H., Getzmann R., Bischoff M., Majcherczyk P., Berger Bachi B.Landmann R.2006.** In vivo survival of teicoplanin-resistant *Staphylococcus aureus* and fitness cost of teicoplanin resistance.*Antimicrob.Agents Chemother.*50,2352-2360.
- **Mehich A.,(2002),**« Les infections nosocomiales à propos de 55 cas colliges au Maroc»,Thèse Doctorat,Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 53 p.
- **Mehta M., Priya D., Varsha G., (2007).** Isolats bactériens chez les brûlés et de leurs antibiograms : Une étude de huit ans. *Journal indien de la chirurgie plastique* ; 40:25 - 28 Melnick (2007). Dans : Jawetz, Melnick, et Adelberg. *Microbiologie médicale*, 24ème ed. McGraw-McGraw-Hill, P : 270.

- **Mendelson MH, Gurtman A, Szabo S, Neibart E, Meyers BR, Policar M et al. 1994 .** *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in patients with AIDS. *Clin Infect Dis* ; 18 : 886-95
- **Mérens A., Jault P., Bargues L., Cavallo D., 2013.** Infection à *Pseudomonas aeruginosa*. EMC-Maladies infectieuses, Paris, 18p.
- **Meyer KS, Urban C, Eagan JA, et al. 1993.,** Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late-generation cephalosporins. *Ann Intern Med* ; 119 : 353-8.
- **Nauciel .,2000.** Abrégés Bactériologie médicale.Ed :Masson, Paris.112 p.
- **Nauciel., 2001 :**Bactériologie générale et médicale.Ed.Masson,Paris.88p.

- **Neuhauser MM, Weinstein RA, Rydman R, et al. 2003.** Antibiotic resistance among gram-negative bacilli in US intensive care units: implications for fluoroquinolone use; 289 : 885-8.
- **Nieminen S. et al.1977:** Burn injuries in Finland. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.*, 11: 63-7,
- **Oneul O, Yuksel F, Altunay H, Acikel C, Celikoz B, Cavuslu S. 2003.** L'évaluation de l'infection nosocomial pendant 1 année dans l'unité de brûlure d'un hôpital de formation à Istanbul, Turquie. *Brûlures* ; 28 (8) : 738-44.
- **Panoff.JM., 2013 :** Le risque biologique : Une approche transdisciplinaire.Ed.Moniteur
- **Pechere.J.C,Acar.J,1991.**Les infections.Ed :Edissem.

- **Pesavento G., Ducci B., Comodo N., Lo Nostro. 2007.** A Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat : A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).*J. Food Control* 18, 196-200.
- **Pierre P., Larson E., et Kawar L., 2002.,** Un audit systématique d'évidence économique liant des infections nosocomial et l'infection commandent les interventions, journal américain de la commande d'infection, vol. 30, le numéro 3, P.145-152.
- **Pourriat,J-L.,Martin,C.,2005.**Principe de réanimation chirurgicale.Ed Arnette (2^{ème} édition),Paris,1437p.
- **Prescott LM.,Harley J-P.et Kleiud D.A.,2003 :**Microbiologie Ed.Bolch et Lacier,1137p.

- **Quale J., Bratu S., Gupta J., Landman D., 2006.** Interplay of efflux system, amp C, and oprD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents chemother* ;50 :16633-41.

- **Rastegar A., Alaghebandan R., et Akhlaghi L., 2005 .,** Infections of wound of burn and antimicrobial resistance in Teheran, Iran: an increasing problem. *Annals of the burns and the disasters of fire*, vol. 18, number 2, P. 68-73.
- **Rastegar L, Alaghebandan R, 2000.,** Etudes épidémiologiques chez 3341 patients brûlés pendant trois ans dans Téhéran, Iran. *Brûlures* ; 26:49 - 53.

- **Rigout A. et Thélot B., 2010:** Epidémiologie des victims des brulures hospitalisées à partir des données du programme de médicalisation des systhèmes d'information, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice (France).
- **Riond-P, 2009.**Travail de diplôme : L'implication de laboratoire dans la medecine des grands brûlés.LAUSANNE,Ecole superieur de la santé.

- **Rouquette.C.,2002:** Médecine, chirurgie et soins infirmiers.Ed.Lamarre,Paris. 360p

- **Samuel S., Kayode O., Musa O., Nwigwe G., Aboderin A., 2010.**, Nosocomial infections and challenges of the order in the countries in the process of development, African newspaper of clinical microbiology and experiment, vol. 11, number 2, P. 102-110.
- **Savas L., Guvel S., Onlen Y., Savas N., et Duran N., 2006.**, Infections of urinary tract Nosocomial: micro-organisms, antibiotic sensitivities and risk factors, in the west Indian medical newspaper, vol. 55, number 3, P. 737-740.
- **Schlemmer B. et Jarlier V., 2008 :** La résistance aux antibiotiques. Ed. CNAMTS, France. 320p.
- **Siah S., Belefojih R., Elouennyss M., Fouadi F-E. 2009 .** L'Infection Nosocomiale en Réanimation des brûlés. Ann Burns Disasters,;72-78.
- **Spicer W-J., 2000.**, Pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie.
- **Tankovic J., Aubry-damon H., Leclercq R. 1997.** Résistance aux antibiotiques autres que les beta-lactamines chez *Staphylococcus aureus*. Méd. Mal. Infect. 27, 207-16.
- **Thabet I., Zoghlami A., Boukadida J., Ghanem A., Messadi A., 2013.** Etude comparative de la résistance aux antibiotiques des principales bactéries isolées au service de réanimation de brûlés durant deux périodes (2005-2008, 2008-2011) et dans deux structures hospitalières (Hopital Aziza Othmana, Centre de trauma ; Vol 91 (n°02), Tunisie, 138-142.
- **Tredget E., Shankowsky H., Rennie R., Burrell R., Logsetty S.,** Pseudomonas infections in the thermally injured patient. Burns 2004; 30:3-26.
- **Trystram D., 2003.** Résistance aux B-lactamines. Faculté de médecine. 78p
- **Vaubourdolle M., 2007 :** Infectiologie. Ed : Moniteur (3^{ème} édition), Paris, 1037p.
- **Vodovara D., Marcadéb G., Raskineb L., Malissina I., Mégarbanca B., 2012.** Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention, Publié par Elsevier Masson SAS, Paris, 7p.
- **Wang H, Dzink-Fox JL, Chen M, et al., 2001.** Genetic characterization of highly fluoroquinolone-resistant clinical *Escherichia coli* strains from China: role of *acrR* mutations. Antimicrob Agents Chemother ; 45 : 1515-21.
- **Wassermann D. 2002.**, Critères de gravité des brûlures. Epidémiologie, prévention, organisation de la prise en charge. Pathol Biol; 50:65-73.
- **Willoquet G., 2011 :** Guide pharmacologique. Ed. Moniteur, Paris, 1477p.
- **Wolff M., Joly Guillou M-L., Pajot O., 2009.** Les carbapénèmes, France
- **Yala D., Merad A-S., Mohamdi D., Korich M-N., 2001 :** Classification et mode d'action des ATB, Médecine du Maghreb, 91p.
- **Anonyme 3, 2011 :** Site de la Société Française d'étude et de traitement des brûlures (SFETB). <http://WWW.sfetb.org>.

Annexes

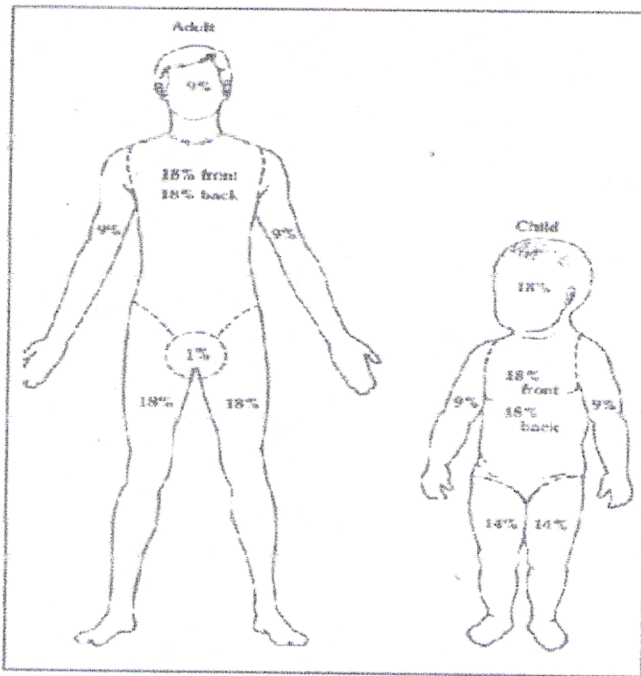



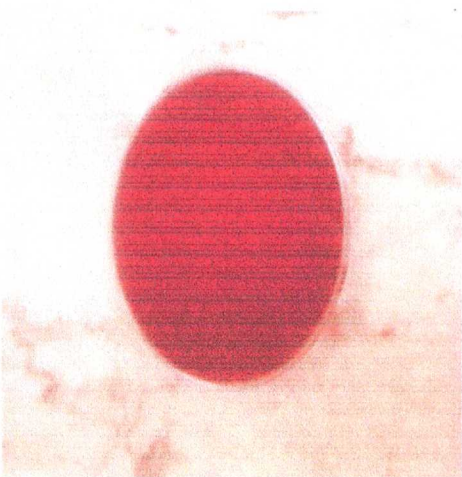

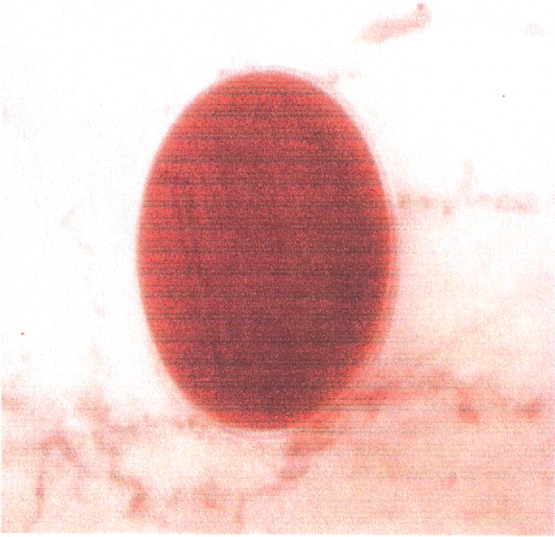


Figure 22 : Règle des 9 de WALLACE (CLAEYSSSEN, 2009).

Composition des milieux de cultures utilisés

Milieu	Composition	Utilisation
<p>Gélose nutritive</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone 10 - Extrait de viande 3 - Extrait de levure 3 - Chlorure de sodium 5 - Agar 18 - pH $7,3 \pm 0,2$ 	Milieu universel pour la culture des germes peu exigeants dans les eaux ; les boissons et les produits biologiques
<p>Gélose Héктоèn</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone pepsique de viande 15 - Extrait de viande 3 - Extrait de levure 3 - Chlorure de sodium 5 - Sels biliaire 4 - Salicine 2 - Lactose 12 - Saccharose 12 - Fuchsine acide 0,1 - Bleu de bromothymol 0,065 - Agar 18 - pH $7,4 \pm 0,2$ 	Isolement des entérobactéries

<p>Gélose Chapman</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Extrait de viande 3 - Extrait de levure 3 - Tryptone 5 - Peptone bactériologique 10 - Chlorure de sodium 70 - Mannitol 10 - Rouge de phénol 0,05 - Agar 18 - pH 7,4±0,1 	<p>Milieu sélectif pour l'isolement des <i>staphylocoques</i> pathogènes dans les produits biologiques en microbiologie médicale.</p>
<p>Gélose au sang frais</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Mueller Hinton 90% - Sang de mouton 5% - pH 7,3 	<p>Isolement des germes exigeants</p>

<p>Gélose Mueller-Hinton</p> 	<ul style="list-style-type: none">- Infusion de viande de bœuf- Déshydraté 3- Hydrolysate de caséine 17,5- Amidon de maïs 1,5- Agar 16- pH 7,3	<p>Milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes.</p>
<p>Gélose au sang cuit</p> 	<ul style="list-style-type: none">- Mueller Hinton 90%- Sang de cheval 5%- pH 7,3	<p>Isolement des germes exigeants</p>

Citrate de simons	<ul style="list-style-type: none"> - Phosphate d'ammonium 1 - Phosphate bipotassique 1 - Chlorure de sodium 5 - Sulfate de magnésium 0,2 - Citrate de sodium 2 - Bleu de promothymol 0,08 - Gélose 15 - pH 6,9 	Recherche de citrate
Clark et Lubs	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone 5 - Glucose 5 - Phosphate 5 - pH 7,5 	Utilisé pour déterminer le mode de la voie fermentaire
Urée indole	<ul style="list-style-type: none"> - Tryptophane 3 - Phosphate monopotassique 1 - Phosphate bipotassique 1 - Chlorure de sodium 5 - Urée 20 - Rouge de phénol 0,025 - Alcool à 95 0,1 - pH 6,7 	La recherche de : Uréase / TDA / Indole
Bouillon nitrate	<ul style="list-style-type: none"> - Cœur cerveau infusion 25 - Nitrate de sodium 10 - pH 7,2 	Recherche de nitrate réductase

ADH	<ul style="list-style-type: none"> - Extrait de levure 3 - L-arginine 5 - Glucose 1 - Bromocrésol pourpre 0,16 mg - Chlorure de sodium 5 - Ethanol solvant de BCP 1 cm³ - pH 6,8 	Recherche d'ADH
ODC	<ul style="list-style-type: none"> - Extrait de levure 3 - L-Ornithine 5 - Glucose 1 - Bromocrésol pourpre 0,16 mg - Ethanol solvant de BCP 1 cm³ - Chlorure de sodium 5 - pH 6,8 	Recherche d'ODC
LDC	<ul style="list-style-type: none"> - Extrait de levure 3 - L-Lysine 5 - Glucose 1 - Bromocrésol pourpre 0,16mg - Ethanol solvant de BCP 1 cm³ - Chlorure de sodium 5 - pH 6,8 	Recherche du LDC

Tableau.III. Lecture de la galerie Api 20 E

Test	Substrats	Réaction /enzyme	Résultat	
			négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	incolore	Jaune (1)
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orange (2)
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orange
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/Orange (2)
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale/jaune	Bleu vert/vert (3)
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/Orange
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	*TDA/Immédiat jaune	TDA/Immédiat marron foncé
IND	Tryptophane	Production D'indole	*Kovacs /2mn jaune	*Kovacs /2mn Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	*VP1 +VP2/ 10 mn incolore	*VP1 +VP2/ 10 mn rose-rouge
GEL	Gélatine de Khon	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Amygaline	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune

(Guyleyral et Joffin, 1998).

Tableau.IV. Classification des antibiotiques selon leurs modes d'action

Famille	Les antibiotiques	Signe	Mode d'action
B-lactamine	Amoxicilline Cefalexine Cefoxitine Penicilline Oxacilline Cefotaxime Cefazoline Ampicilline	AMX CN FOX P OX CTX CZ AM	Inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane.
Aminosides	Amikacine Streptomycine Kanamycine Gentamycine	AN S K GM	Inhibent la synthèse protéique.
Quinolones	Ofloxacine Acide nalidixique Péfloxacine	OFX NA PEF	Inhibent la réplication de l'ADN.
Tétracycline	Tétracycline	TE	Inhibent la synthèse protéique.
Phenicole	Chloramphenicol	C	Inhibent la synthèse protéique.
Sulfamide	Triméthoprime-sulfaméthoxazole	SXT	Bloque la synthèse des acides nucléiques.
Macrolides	Erythromycine Clindamycine Pristinamycine	E CM PT	Bloque l'élongation de la chaîne polypeptidique.
Nitrofurane	Nitrofurane	FT	Agissent sur les membranes bactériennes.
Divers	Rifampicine Vancomycine Acide fucidique	RA VA FA	Blocage de la transcription bactérienne.

(Rechet, 1988).

Tableau.V. Répartition des résultats selon la présence et l'absence du germe.

	Résultats
Présence de germe	62,5%
Absence de germe	37,5%

Tableau.VI. Répartition des prélèvements sanguins selon le sexe

	Nombre	Pourcentage
Homme	90	62,50%
Femme	54	37,50%
Totale	144	100%

Tableau.XI. Répartition des résultats selon les types de cultures bactériennes.

	mono-bactérienne	poly-bactérienne
Infections	80%	20%

Tableau.XII. Répartition des germes identifiés selon leur nature.

	CHPH	CHPF	CHPR
<i>Entérobactéries</i>	0,94	0,94	37,74%
<i>Pseudomonas</i>	0,94%	2,83%	11,32%
<i>Staphylocoques</i>	3,77%	3,77%	23,58%
<i>Enterococcus</i>	0%	1,89%	7,55%
<i>Aerococcus</i>	4,71%	0%	0%

Tableau.XIII. Fréquence des différentes bactéries isolées au niveau des services de la chirurgie plastique.

	Fréquence
<i>Serratia sp</i>	7,92%
<i>Enterobacter sp</i>	7,92%
<i>Proteus sp</i>	16,83%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12,87%
<i>Escherichia coli</i>	1,98%
<i>Staphylococcus aureus</i>	19,80%
<i>Staphylocoques à coagulase négative</i>	9,90%
<i>Citrobacter sp</i>	2,97%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4,95%
<i>Enterococcus sp</i>	9,90%
<i>Aerococcus sp</i>	4,95%

Tableau.XIX. Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches d'Entérobactéries

	Résistantes	Sensibles
AM	100%	0%
AK	45%	55%
AMC	97%	3%
FOX	52%	48%
GM	64%	36%
CIP	20%	80%
C	61%	39%
CTX	69%	31%
IPM	0%	100%
CZ	93%	7%
ETP	0%	100%
OFX	33%	67%
Cs	62%	38%

Tableau.XX. Fréquence des B-lactamases à spectre élargi chez les entérobactéries

	BLSE (Nombre)	BLSE (Fréquence)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	62,5
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	37,5
<i>Total</i>	8	100

Tableau.XXI. Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les *Pseudomonas Aeruginosa*

	Résistantes	Sensibles
ATM	73%	27%
LEV	82%	18%
CAZ	91%	9%
TM	100%	0%
NET	100%	0%
CIP	82%	18%
PIP	91%	9%
IPM	100%	0%
Cs	0%	100%
AK	100%	0%
GM	91%	9%
TIC	100%	0%

Tableau.XXII. Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches de Staphylocoques

	Résistantes	Sensibles
VA	0%	100%
TE	53%	47%
E	53%	47%
RA	16%	84%
SXT	35%	65%
K	83%	17%
OX	89%	11%
GM	47%	53%
FOX	89%	11%
PT	19%	81%
FA	75%	25%
AK	83%	17%
P	100%	0%
C	26%	74%
FOS	20%	80%

Tableau.XIII. Répartition des résultats de l'antibiorésistance chez les souches des streptocoques

	Résistantes	Sensibles
TE	77,78%	22,22%
AM	55,56%	44,44%
E	100%	0%
SXT	77,78%	22,22%
CTX	88,89%	11,11%
VA	44,45%	55,55%
PIP	91%	9%
IPM	100%	0%
Cs	0%	100%
AK	100%	0%
GM	91%	9%
TIC	100%	0%