



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes

Intitulé :

---

## Etude de la résistance et la multirésistance aux antibiotique de souches isolées du milieu hospitalier

---

Présenté et soutenu par : *MESKINE Amina*

Le : 21/06/2016

BENABDELKADER Lina

Jury d'évaluation :

Président du jury : *AIT ABDELOUAHEB . N* (Maitre assistante - UFM Constantine).

Rapporteur : *LEBAD BOULTIFAT . L* (Maitre assistante - UFM Constantine).

Examineurs : *MEZIANI . M* (Maitre assistante - UFM Constantine).

*Année universitaire  
2015 - 2016*



## **Remerciements**

*Nous remercions ALLAH tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté et de nous avoir bénie pour la réalisation de ce travail.*

*Nous voudrions présenter nos remerciements et notre gratitude en premier lieu au laboratoire d'analyse « Dr. Bellil » pour son acceptation afin de réaliser ce travail.*

*Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice et directrice de mémoire madame « **Linda Lebad Boultifat** » Maitre assistant en microbiologie pour avoir accepté la charge de nous encadrer*

*Nous remercions également :*

*Madame « **Ait Abdelwaheb Nawel** » Maitre assistant à l'Université des frères Mentouri pour l'honneur qu'elle nous a fait en présidant ce jury. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Mme « **Meziani Meriem** » pour avoir accepté d'examiner et juger ce travail*

*Un merci particulier à M<sup>elle</sup> « Boutamine zineb » pour son aide.*

*Nous remercions également tout le personnel de laboratoire d'analyse Dr. Bellil pour leur accueil et leur contribution dans ce travail.*

*\*Merci\**

*À ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans notre travail, nous les remercions du fond du coeur.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*A la mémoire de mon père,*

*Qu'il puisse reposer en paix*

*A ma douce et tendre mère, le symbole de la tendresse, du courage, de la responsabilité et de l'amour.*

*En témoignage de ses prières, sa bénédiction, sa patience et ses sacrifices.  
Que Dieux te garde, te comble de santé, et te donne longue vie.*

*A mes chers frères Amir et Hamdani, ma fierté dans cette vie.*

*A ma tendre, gentille et adorable sœur Zalo et son mari Yacine*

*A mes chères cousines Zineb, Anissa, Mounira, Filissia, Maria, en témoignage de mes plus profondes amitiés.*

*A mes chères tantes à qui j'exprime mes plus profonds sentiments d'amour.*

*A mes chères amies Basma, Yasmine, Noussa, Zineb, Sawssen, Rayan, Fati, fifi et Lamia, je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage.*

*A mon binôme Amina, je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les moments qu'on a passé ensemble.*

*A la technicienne du labo Dr. Bellil « Nadia » et son fils Jawad pour son aide et sa patience*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Lina*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Ma très chère et douce mère Badiaa et mon très cher père Omar pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué; avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard pour le sensé devoir qu'il m'ont enseigné depuis mon enfance.*

*A ma très chère grande mère Turkia.*

*Ames chers frères : Rabeih B. Elleh Mohammed el hadi et Abd el rahim .*

*A ma belle sœur Lamia.*

*Aux perles de mon cœur qui je l'aime beaucoup Adam et lina .*

*A mes chères amis lina, fedjriaet fatima et a tous ceux qui ont une relation de proche ou loin avec la réalisation du présent rapport.*

*Je dédie ce travail.*

*Amina*



# TABLE DES MATIÈRES

Introduction.....	01
<b>Synthèse bibliographique</b> .....	02
<b>Chapitre 1 : La résistance et la multirésistance bactérienne</b> .....	02
1. Définition .....	02
2. Type de résistance.....	02
2.1. La résistance naturelle ou résistance intrinsèque .....	02
2.2. La résistance acquise.....	02
2.2.1. Résistance chromosomique.....	03
2.2.2. La résistance extra-chromosomique.....	03
a. Plasmides.....	03
b. Les transposons.....	04
2.2.3. Résistance par acquisition des gènes transférés.....	04
2.3. La résistance croisée.....	04
2.4. La co-résistance.....	04
3. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	05
3.1. La destruction ou l'inactivation du médicament par des enzymes .....	05
3.2. Le blocage de la pénétration dans la cellule .....	05
3.3. La modification de la cible du médicament.....	05
3.4. L'expulsion du médicament.....	06
4. Méthode de mesure de la résistance bactérienne .....	06
5. Réservoir de la résistance aux antibiotiques.....	06
6. Transmission de la résistance à l'homme.....	07
6.1. La transmission directe.....	07
6.2. La transmission via l'alimentation d'origine animale.....	07
6.3. Le transfert de gène de résistance de l'animal à l'homme.....	08
7. la multirésistance.....	08
<b>Chapitre 2 : Les antibiotiques</b> .....	
1 .Définition .....	10
2 .Types des antibiotiques.....	10
2.1. Origine naturelle.....	10
2.2. Origine synthétique.....	10
3. Mode d'action des antibiotiques.....	11
a. Sur la paroi bactérienne.....	11
b .sur la membrane cytoplasmique.....	12
c. Sur l'ARN des ribosomes.....	12
d. Sur l'ADN bactérien.....	12
e. Les antibiotiques inhibiteurs du métabolisme intermédiaire .....	12
4. Classification des antibiotiques.....	12
4.1. les $\beta$ lactamines.....	13
4.2. les aminosides ou aminoglycosides.....	13
4.3. les Phenicoles.....	13

4.3.1. Le chloramphénicol.....	13
4.3.2. Thiamphénicol.....	13
4.4. les tétracyclines.....	13
4.4.1. Cyclines naturelles.....	14
4.4.2 .Cyclines semi-synthétiques.....	14
4.5. Les polypeptides.....	14
4.5.1. La vancomycine.....	14
4.5.2 .La telcoplanine .....	15
4.5.3 .La Polymyxine.....	14
4.6. Les macrolides.....	14
4.7. Les quinolones.....	15
4.8. Les rifamycines.....	15
5. Antibiothérapie.....	15
5.1. Le Germe.....	16
5.2. Le site de l'infection.....	16
5.3. Le terrain.....	16
5.4. Risque écologique.....	16
5.5. Coût.....	16

### **Chapitre 3 : Les bactéries multirésistantes aux antibiotiques**

3.1. Définition.....	17
3.2. Type des BMR .....	17
3.2.1. Hospitaliers.....	17
3.2.2. Communauté.....	18
3.3. Localisation des BMR.....	19

## **Partie pratique**

### Matériels et méthodes

1. Etude prospective.....	20
2. Matériels utilisés.....	20
2.1 Appareillage.....	20
2.2. Milieux de culture.....	20
2.2.1. Milieux de culture solides.....	20
2.2.2. Milieux d'identification biochimiques et métaboliques.....	20
2.2. 3.Disque d'Antibiotiques.....	21
3. Méthodologie.....	21
3.1. Les prélèvements .....	21
3.1.1. Techniques de Prélèvement.....	21
a-Prélèvement d'urine.....	21
b-Prélèvement de l'éjaculat .....	22
c-Prélèvements effectués sur des surfaces à l'hôpital.....	22
3.2. L'isolement.....	22



3.2.1. A partir des urines .....	22
3.2.2. A partir d'éjaculat .....	22
3.2.3. A partir des surfaces hospitalières.....	22
3.3 .purification et identification .....	23
3.3.1. la galerie biochimique .....	23
3.3.2. Test de la sensibilité aux antibiogrammes (ATB gramme standard) .....	25
Résultats et discussion .....	26
Résultat de l'isolement et l'antibiogramme .....	26
1. A partir des urines .....	26
2. A partir de l'éjaculat .....	27
3. A partir des surfaces hospitalières .....	28
Discussion .....	29
1. Etude de l'antibiorésistance des souches isolées à partir des urines .....	29
2. Etude de l'antibiorésistance des souches isolées à partir de l'éjaculat .....	31
3. Etude de l'antibiorésistance des souches isolées à partir des surfaces hospitalières.....	32
Conclusion .....	33
Résumé	
Références bibliographiques	
Annexes	

# *LISTE DES ABREVIATIONS*

AUG :	Augmentin (Amoxicilline +Ac.clavulanique)
AN :	Amikacine
AMX :	Amoxicilline
ADN :	Acide désoxyribonucléique
ARNm :	Acide ribonucléique messenger
ARNt :	Acide ribonucléique de transfert
API :	Appareillage et procédé d'identification
BMR :	Bactéries multi résistante
BLA :	beta-lactamase
CL :	Colistine
CTX :	Céfotaxime
CZ :	Cefazoline
CMI :	Concentration minimal inhibitrice
CMB :	Concentration minimal bactéricide
CTX-M :	Cefotaximase, first isolated at Munich
E :	Erythromycine
EBLSE :	Entérobactéries productrices de B-lactamases à spectre étendu
ERV :	Entérocoque résistante à la vancomycine
FOX :	Cefoxitine
GN :	Gentamycine
H <sub>2</sub> S :	Sulfure d'hydrogène
IPM :	Imipenèm
MR :	Multi résistante
NA :	Ac.nalidixique
NI :	Nibiol
OXA :	Oxacilline
P :	Pénicilline
PEF :	Pefloxacine
PIP :	Piperacilline
PT :	pristinamycine
PLP :	Protéine de liaison aux pénicillines
RA :	Rifamicine
SARM :	Staphylococcus aureus résistant à la méticilline
SDRM :	Staphylocoque doré résistant à la méticilline
SXT :	Trimethoprim+sulfamides
TE :	Tétracycline
TIC :	ticarcilline
TSI :	Triple sugar iron agar
VA :	vancomycine

## ***LISTE DES FIGURES***

Figure 1 :	Diffusion des gènes de résistance aux antibiotiques .....	3
Figure 2 :	Les différents mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques.....	4
Figure 3:	Voie de disséminations potentielles des bactéries résistantes et des gènes de résistance.....	6
Figure 4 :	Les principales cibles des antibiotiques.....	10
Figure 5 :	Synthèse des purines et de certains acides amines .....	11
Figure 6 :	L'antibiogramme.....	24
Figure 7 :	Disposition des disques d'antibiotiques sur Mueller Hinton.....	24
Figure 8 :	Résultats de la galerie biochimique et de l'antibiogramme d' <i>E. coli</i> du patient1 .....	26
Figure 9 :	Résultats de la galerie biochimique et de l'antibiogramme d' <i>Enterobacter sp</i> du patient 2.....	26
Figure10 :	Résultats de la galerie biochimique et de l'antibiogramme d' <i>E. coli</i> du patient 3.....	26
Figure11 :	Résultats de la galerie biochimique et de l'antibiogramme d' <i>E. coli</i> du patient 4.....	26
Figure12 :	Résultats de Galerie biochimique et antibiogramme de <i>Proteus sp</i> du patient 5.....	27
Figure13 :	Résultats de Galerie biochimique et antibiogramme de <i>Klebsiella sp</i> .....	27
Figure14 :	Résultats de Galerie biochimique et antibiogramme <i>Enterobacter sp</i> .....	27

## ***LISTE DES TABLEAUX***

Tableau 1 :	Mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques	16
Tableau 2 :	Localisation des BMR en milieu hospitalier	19
Tableau 3 :	Recherche de l'utilisation de citrate	23
Tableau 4 :	Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, production de gaz et d'hydrogène sulfuré (H <sub>2</sub> S) sur milieu TSI	24
Tableau 5 :	La recherche de l'hydrolyse de l'urée et la production d'indole	25
Tableau 6 :	Identification bactérienne et antibiogramme des souches bactériennes isolées à partir d'urine	26
Tableau 7 :	Tableau d'identification biochimique des entérobactéries	27
Tableau 8 :	Identification bactérienne et antibiogramme des souches bactériennes isolées à partir de l'éjaculat	28
Tableau 9 :	Identification bactérienne et antibiogramme des souches bactériennes isolées à partir des surfaces hospitalières	28

# PARTIE I

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

# INTRODUCTION

## **Introduction**

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections et leur développement a révolutionné le traitement de ses maladies. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques. Cette situation apparait particulièrement préoccupante en milieu hospitalier et le nombre de bactéries résistantes est sans cesse d'augmentation et nous assistons de plus en plus à l'émergence de nouvelles résistances [10].

Afin de mieux comprendre ce phénomène, nous avons jugés qu'il est important qu'on dispose de connaissances sur les résistances, les multirésistances bactériennes et sur les mécanismes d'actions des antibiotiques que nous allons aborder dans ce mémoire, divisé en deux grandes parties. La première est essentiellement bibliographique, elle traite la résistance bactérienne aux antibiotiques, les antibiotiques et leurs principaux mécanismes d'action et les bactéries multirésistantes. Dans le même contexte, la seconde partie est pratique et elle a pour objectif de rechercher, d'identifier et d'étudier l'antibiorésistance de certaines souches isolées du milieu hospitalier.

# CHAPITRE 1

## LA RESISTANCE ET LA MULTIRESISTANCE BACTERIENNE



## **1. Définition**

La résistance aux antibiotiques est la résistance d'une bactérie à un antibiotique auquel il était jusque-là sensible [29]. On peut dire aussi qu'une souche est résistante lorsqu'elle est capable de supporter une concentration d'antibiotiques beaucoup plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce [24]. Elle résulte de l'aptitude de certaines bactéries à supporter l'attaque de médicaments antimicrobiens tels que les antibiotiques, de sorte que les traitements classiques deviennent inefficaces et que les infections persistent et accroissant le risque de propagation [29].

## **2. Types de résistance**

La progression de la résistance bactérienne aux antibiotiques cause des infections difficiles à traiter et pose un problème de santé publique. Les bactéries résistantes sont souvent la cause des infections nosocomiales aggravant le pronostic des malades, prolongent leur hospitalisation et augmentent les coûts de traitement. On distingue deux types de résistance bactérienne. La résistance naturelle et la résistance acquise [26].

### **2.1. La résistance naturelle**

La résistance naturelle ou résistance intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne et partagée par toutes les souches de cette espèce. Elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce. Pour chaque classe d'antibiotique, il existe des espèces bactériennes pour lesquelles l'antibiotique est inactif par défaut de cible ou d'accès à la cible. Ainsi, l'absence de paroi chez les mycoplasmes rend les  $\beta$ -lactamines inactives vis à vis de ces bactéries [26].

### **2.2. La résistance acquise**

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme [26].

### 2.2.1. Résistance chromosomique

La résistance chromosomique résulte d'une mutation qui présente les caractères suivants :

- **La rareté** : une mutation se produit en moyenne toutes les 10<sup>5</sup> à 10<sup>10</sup> divisions mais compte tenu de l'importance des populations bactériennes dans un foyer infectieux, la probabilité d'existence d'une bactérie résistante à un antibiotique n'est pas négligeable.

- **La spécificité** : la mutation n'affecte généralement qu'un caractère et la résistance ne touche qu'un antibiotique ou une famille d'antibiotique ayant le même mode d'action. Il existe toutefois des exceptions notables à cette règle, comme par exemple chez *Serratia marcescens* et *Pseudomonas aeruginosa* où une seule mutation entraîne une résistance simultanée aux bêta-lactamines et aux aminosides.

- **L'indépendance** : La probabilité de deux mutations simultanées est égale au produit du taux de mutation et elle est donc très faible. Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques.

- **La transmissibilité** : Une mutation résulte de la modification d'un gène, elle est permanente, sauf mutation reverse et elle a un caractère héréditaire (transmissible sur un mode vertical de la bactérie mère aux bactéries filles) [26] .

### 2.2.2. La résistance extra-chromosomique

#### a. Plasmides

Les premiers plasmides de résistance aux antibiotiques ont été décrits au Japon en 1950, lors d'une épidémie de dysenterie bacillaire à *Shigella flexneri*. Depuis cette date, des plasmides de résistance ont été retrouvés chez de très nombreuses espèces et on a constaté que la résistance plasmidique concerne de très nombreux antibiotiques. Les caractéristiques de cette résistance sont :

- Le niveau de résistance plasmidique est en général élevé

- Phénomène lié directement à l'utilisation d'antibiotiques : les antibiotiques à spectre large peuvent sélectionner dans les populations commensales de l'organisme les bactéries porteuses de plasmides R

- Phénomène non spécifique d'une famille d'antibiotique. Plusieurs groupes d'antibiotiques différents sont touchés après administration d'un seul d'entre eux

- La perte d'un ou plusieurs caractères de résistance est possible mais rare [26] .

### **b. Les transposons**

Ce sont des fragments d'ADN, capable de changer leur localisation dans le génome sans jamais apparaître à l'état libre. Ils codent pour les déterminants de la transposition et ceux d'autres fonctions telles que la résistance aux antibiotiques en s'intégrant soit dans le chromosome soit dans le plasmide, en allant de l'un à l'autre [26].

### **2.2.3. Résistance par acquisition des gènes transférés**

Les résistances par acquisition d'ADN sont la conséquence d'un transfert horizontal y compris entre espèces éloignées phylogénétiquement. Les bactéries utilisent trois mécanismes principaux de transfert horizontal d'éléments génétiques entre bactéries d'une même espèce ou d'espèces et de genres différents : la transformation, la transduction et la conjugaison [ 5] . Les gènes de résistance aux antibiotiques, pour la plupart chromosomiques, proviennent généralement de micro-organismes producteurs d'antibiotiques pour lesquels ils sont immunisés. Le transfert de ces gènes sera rendu plus efficace après leur intégration sur des éléments mobiles tels que les plasmides, les transposons, les intégrons ou encore sur des phages. Ces mécanismes de résistance peuvent alors diffuser très rapidement dans une population (**Fig1**) [37] .

### **2.3. La résistance croisée**

La résistance croisée est un phénomène par lequel une bactérie qui a développé une résistance à l'un des antibiotiques d'une classe devient aussi résistante aux autres membres de la même classe. Cela même si elle n'a jamais été exposée à ces molécules. C'est cette résistance croisée qui permet aux  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) présentes chez les bactéries à Gram négatifs d'avoir une résistance si étendue ( $\beta$ -lactamines et céphalosporines) à tel point qu'elles deviennent un véritable enjeu en santé humaine [22] .

### **2.4. La Co-résistance**

Plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun des mécanismes confère par résistance croisée la résistance à un groupe d'antibiotique conférant à la bactérie un large spectre de résistance [37] .

### 3. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les bactéries disposent de certains mécanismes par lesquels elles deviennent résistantes aux agents chimio thérapeutiques (**Fig 2**).

#### 3.1. La destruction ou l'inactivation du médicament par des enzymes

Ce sont surtout les antibiotiques d'origine naturelle, tels que les pénicillines et les céphalosporines, qui sont détruits ou inactivés par des enzymes. Les médicaments entièrement de synthèse tels que les fluoroquinolones sont moins vulnérables à cet égard, bien qu'ils puissent être neutralisés par d'autres moyens. On peut supposer que les microbes n'ont tout simplement pas eu le temps de s'adapter à ces structures chimiques inhabituelles.

Les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénems ont en commun une structure, le cycle B-lactame, que les B-lactamases, des enzymes bactériennes, attaquent et hydrolysent. On connaît à l'heure actuelle près de 200 B-lactamases différentes, chacune spécifique d'une variation mineure de la structure du cycle.

La mieux connue des bactéries résistantes et le fameux *Staphylocoque doré* résistant à la méticilline (SDRM), qui résiste non seulement de la méthicilline, mais presque tous les antibiotiques. En outre *S.aureus* n'est pas la seule bactérie concernée, d'autres agents pathogènes tels que *Streptococcus pneumoniae*, échappent aussi aux B-lactamines [16].

#### 3.2. Le blocage de la pénétration dans la cellule

Les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes que les autres aux antibiotiques. Les structures de leurs parois cellulaires limitent l'absorption de nombreuses molécules en obligeant celles-ci à passer par des ouvertures appelées porines. Chez certains mutants les porines sont modifiées si bien que les antibiotiques ne peuvent pas pénétrer dans l'espace périplasmique. Fait peut-être plus important, lorsque il y a les B-lactamases dans l'espace périplasmique, l'antibiotique qui parvenu jusque-là est attaqué et inactivé [16].

#### 3.3. La modification de la cible du médicament

Pour que la synthèse d'une protéine s'effectue, le ribosome doit interagir avec un brin d'ARNm et des ARNt. Plusieurs antibiotiques, en particulier les aminoglycosides, les tétracyclines et macrolides, inhibent la synthèse des protéines en se liant aux sites de ces interactions. Certaines modifications mineures de ces sites peuvent neutraliser les

antibiotiques sans perturber le fonctionnement de la cellule bactérienne de façon appréciable [16].

### **3.4. L'expulsion du médicament**

Certains protéines de la membrane plasmiques des bactéries à Gram négative sont des pompes qui expulsent les antibiotiques et les empêchent d'atteindre la concentration requise pour qu'ils soient efficaces .c'est avec la tétracycline qu'on a observé ce mécanisme pour la première fois. On sait aujourd'hui qu'il confère la résistance à presque toutes les grandes classes d'antibiotiques .Les bactéries ont normalement un grand nombre de pompes pour éliminer les substances toxiques [16] .

### **4. Méthode de mesure de la résistance bactérienne**

Pour mesurer microbiologiquement la résistance d'une bactérie, la notion communément utilisée dans le monde scientifique est la concentration minimale inhibitrice (CMI). La CMI représente la première concentration en antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée. La mesure de la CMI est souvent accompagnée de la mesure concentration minimale bactéricide (CMB). Elle correspond à la concentration permettant de réduire la population bactérienne d'un facteur 1000. Les mesures des CMI et CMB sont dépendantes des conditions de cultures de la bactérie. Les conditions de déterminations de ces indicateurs ont donc été calibrées et standardisées.

Ensuite, des antibiogrammes peuvent être réalisés. Leur interprétation repose sur l'évaluation de la CMI en fonction du diamètre d'inhibition. Ces outils permettent de prédire la sensibilité des bactéries aux antibiotiques en matière d'efficacité clinique. Ainsi, une souche pathogène peut être catégorisée cliniquement de sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R). L'antibiogramme sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne, et peut orienter l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles [22].

### **5. Réservoir de la résistance aux antibiotiques**

La flore intestinale de l'homme et des animaux est considérée comme un environnement privilégié en termes de compartiment de sélection et d'amplification des bactéries résistantes et des gènes de résistance. D'autres flores commensales comme la flore cutanée, la flore oro-pharyngée, la flore vaginale, sont également exposées au traitement antibiotique. Ces flores bactériennes sont toutefois moins denses que la flore intestinale. Elles

sont aussi moins étudiées dans le cadre de la sélection de la résistance aux antibiotiques. Cependant les mécanismes généraux de sélection et d'amplification de la résistance sont comparables dans tous les types de flore ( **Fig 3**) [37].

## **6. Transmission de la résistance à l'homme**

Les bactéries évoluent rapidement non seulement par mutation et multiplication mais également par acquisition de matériel génétique exogène. La résistance par accumulation de mutations est supposée présenter un risque minimum de dissémination des gènes, alors que la résistance par acquisition de gènes exogènes a un fort potentiel de diffusion car elle est dans la plupart des cas portée par des éléments génétiques mobiles. L'absence d'étanchéité entre les écosystèmes animal - homme - environnement aggrave d'un point de vue santé publique le risque de dissémination de la résistance aux antibiotiques [11].

### **6.1. La transmission directe**

A l'hôpital, l'état immunodéprimé transitoire du patient, ajouté aux traitements antibiotiques peut favoriser la sélection et la colonisation d'un germe infectieux résistant déjà présent chez l'individu. A cela s'ajoute la transmission entre patients malades porteurs de souches résistantes (transmission croisée) et le contact direct avec le personnel hospitalier. Les mesures d'hygiène professionnelles mises en place à l'hôpital ont également montré une certaine efficacité à contrôler et limiter la transmission des bactéries en milieu hospitalier. Dans la communauté, la circulation des biens, des marchandises et des personnes ainsi que l'absence d'étanchéité entre les écosystèmes sont autant de facteurs pouvant favoriser la transmission des bactéries résistantes aux antibiotiques [11].

### **6.2. La transmission via l'alimentation d'origine animale**

Le rôle de la chaîne alimentaire dans la transmission de bactéries résistantes est non seulement possible mais certains arguments attestent de sa réalité pour certains pathogènes comme *Salmonella*. De nombreux rapports notent effectivement la présence de bactéries productrice de CTX-M dans l'alimentation d'origine animale. En 2004, à la suite d'une épidémie à salmonelle survenue en France, une étude de cas identifia que les malades infectés par *Salmonella enterica* résistant à la ceftriaxone avaient consommé de la viande de cheval importée hébergeant une souche de *S. enterica* Newport véhiculant le gène de résistance *bla* CMY-2 [11].

### **6.3. Le transfert de gène de résistance de l'animal à l'homme**

Même si l'origine animale d'une toxi-infection alimentaire à bactéries résistantes aux antibiotiques est facile à mettre en évidence chez l'homme, l'acquisition de gènes de résistance par transfert horizontal des bactéries d'origine animale aux bactéries d'origine humaine est plus complexe à démontrer. Les principaux rapports épidémiologiques récents affirment la présence de plasmides conjugatifs communs à plusieurs souches résistantes retrouvées aussi bien chez l'homme que chez l'animal, suggérant un potentiel transfert de plasmides porteurs de résistance entre l'homme et l'animal. D'autres auteurs ont rapporté l'existence de déterminants de résistance communs chez des bactéries isolées chez l'homme et l'animal [11].

### **7. La multirésistance**

La définition de la multirésistance est difficile à établir. Il est couramment admis de parler de multirésistance lorsqu'une souche bactérienne a accumulé sur son profil sauvage de sensibilité aux antibiotiques des résistances acquises telles que la souche ne reste sensible qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique [11].

Les scientifiques ont découvert par la suite que les gènes de résistance étaient facilement capturés, disséminés et échangés d'une bactérie à l'autre par un système de "couper/coller" génétique de structures contenant ces gènes, appelées intégrons. Mais la dynamique de ces échanges, qui conditionne le développement des multirésistances chez les bactéries, restait inexpliquée.

Les travaux de chercheurs révèlent aujourd'hui pour la première fois comment les bactéries acquièrent ces propriétés de multirésistance. Ce sont en fait les antibiotiques eux-mêmes qui provoquent la synthèse de l'enzyme bactérienne qui capture les gènes de résistance et permet leur expression dans l'intégrons. Cette enzyme favorise en outre le réagencement, au hasard, des gènes de résistance au sein de l'intégrons. Or, l'ordre de ces gènes dans l'intégrons détermine le degré de priorité pour leur expression : les premiers sont les plus exprimés et confèrent à la bactérie les résistances correspondantes. Les derniers restent silencieux tout en étant néanmoins conservés, en réserve. Lors d'un nouveau réagencement, déclenché par la prise d'un antibiotique par exemple, ils seront susceptibles de se retrouver dans les premières positions, et d'apporter à la bactérie les résistances requises face à ce médicament. Les bactéries qui possèdent alors la bonne combinaison de gènes pourront survivre et assurer le maintien du potentiel de résistances au fil des générations.

Ces travaux démontrent combien les stratégies d'adaptation bactériennes face aux antibiotiques sont efficaces, aussi bien à court qu'à long terme. Ils caractérisent ainsi précisément les contraintes liées à la génétique des bactéries, que devront prendre en compte les mesures de santé publique à venir pour lutter contre le problème de multirésistance [28].



# CHAPITRE 2

## LES ANTIBIOTIQUES

## 1. Définition

Un antibiotique est défini comme toute substance chimique produite par des micro-organismes ayant le pouvoir d'inhiber et même de détruire les bactéries et autres micro-organismes. L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre. Plus un antibiotique détruit des types de bactéries différentes, plus son spectre est large

Les antibiotiques sont caractérisés par :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité)
- Toxicité sélective (mode d'action)
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique)
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme [26]

## 2. Type des antibiotiques

Il existe des antibiotiques d'origines naturelle ou synthétique

### 2.1. Origine naturelle :

Parmi les 10 000 antibiotiques d'origine naturelle recensés dans le monde, 20 % proviennent de champignons : Penicillium, Cephalosporium, Aspergillus, 70 % proviennent d'actinomycètes microfilaments dont le genre Streptomyces est un producteur majeur d'antibiotiques : tétracyclines, aminoglycosides et 10 % proviennent des bactéries (non actinomycètes), en particulier des genres Bacillus et Pseudomonas. La bacitracine utilisée pour certains traitements locaux en est un exemple [26].

### 2.2. Origine synthétique :

Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes. Parmi les antibiotiques d'origine synthétiques on distingue : Sulfamides, métronidazole, isoniazide, acide nalidixique et les fluoroquinolones, pénèmes. On distingue aussi des antibiotiques d'origine semi-synthétique, ils sont obtenus en modifiant en laboratoire une substance produite par un micro-organisme [26].

### 3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent avoir 2 modes d'action:

- Action bactériostatique: Ils empêchent le développement des bactéries ou germes microbiens.
- Action bactéricide: Ils détruisent les bactéries ou les germes microbiens en agissant sur la paroi, l'ADN, la membrane cytoplasmique et la synthèse de protéines.

L'antibiotique à action bactéricide, comme par exemple les  $\beta$ -lactamines, peuvent agir de deux manières:

- Ciblée, ce qui signifie qu'il ne détruit qu'un seul type de bactéries
- A large spectre, c'est à dire qu'il détruit plusieurs types de bactéries.

Les antibiotiques agissent, en général, à un niveau précis des structures bactériennes [26].

Ils peuvent agir sur 5 parties différentes de la structure de la bactérie (**Fig 4**).

#### a. Action Sur la paroi bactérienne

Inhibition de la synthèse de la paroi. Ces antibiotiques agissent sur des cibles extérieures de la cellule (paroi) et ne sont actifs que sur les germes qui sont en croissance. Les cellules au repos ne sont pas perturbées par l'action des antibiotiques et de leurs molécules. Leur action peut être comparée à celle effectuée sur un ballon de baudruche: si on le presse en son centre, celui ci s'allongera jusqu'à un certain point, mais après il explosera.

De même, les antibiotiques bloquent la synthèse du peptidoglycane, la cellule s'allonge sans faire de paroi et ainsi explose sous l'effet de la pression osmotique interne. Les  $\beta$ -lactamines agissent suivant ce mode d'action [26].

### **b. Action Sur la membrane cytoplasmique**

Ils agissent sur les membranes lipidiques, la membrane externe d'abord, puis la membrane cytoplasmique. La fixation de l'antibiotique va désorganiser la structure de ces membranes et les rendre perméable, ce qui aboutit à la mort rapide de la bactérie [26].

### **c. Action Sur l'ARN des ribosomes**

En inhibant la synthèse des protéines, pour constituer de bonne cible Ils agissent en se fixant sur la sous unité 30S, à concentration subthérapeutique, ils entraînent des erreurs de lecture, à dose thérapeutique, ils inhibent l'élongation de la chaîne peptidique en bloquant le complexe d'initiation. En plus en diminuant l'AMP (Adénosine MonoPhosphate) cyclique intracellulaire, ils perturbent la barrière de perméabilité de la membrane cytoplasmique, ce qui conduit à la fuite vers l'extérieur des constituants intracellulaires, les aminosides et les Phenicoles agissent selon ce mode d'action [26].

### **d. Action Sur l'ADN bactérien**

En inhibant la synthèse ou même le fonctionnement des acides nucléiques de différentes façons selon les familles d'antibiotiques soit par :

1. inhibition de la réplication de l'ADN
2. inhibition de la transcription / ARN polymérase
3. diminution de la synthèse des précurseurs nucléotidiques [41].

### **e. Les antibiotiques inhibiteurs du métabolisme intermédiaire**

Par inactivation d'enzymes impliqués dans la synthèse des purines et de certains acides aminés essentiels (**Fig 5**)[20].

## **4. Classification des antibiotiques**

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action.

Les principales familles sont :

#### 4.1. Les $\beta$ lactamines

Le noyau de base est le cycle  $\beta$  lactame. Les antibiotiques de cette famille sont bactéricides. Ils se répartissent en trois groupes :

- Groupe I : il comporte le cycle  $\beta$  lactame et un cyclethiazoline (ex : spectre étroits peni M et peni V),
- Groupe II : il comporte un cycle lactame et un cycledihydrothiazine (ex : spectres larges peni A),
- Groupe III : il comporte un noyau limité au cycle  $\beta$  lactame (ex : **céphalosporines, etc....**)

.En plus de ces trois groupes, il existe des inhibiteurs de  $\beta$ lactamases tels que Augmentin® composé d'amoxicilline et d'acide clavulanique et qui agit sur les bactéries productrices de pénicillinase [12].

#### 4.2. Les aminosides ou aminoglycosides

Ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol. Ce sont des antibiotiques rapidement bactéricides. Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et hémi-synthétiques. Elles sont divisées en trois classes :

- Streptamine
- 2 désoxystreptamine
- Streptidine [12]

#### 4.3. Les Phénicoles

##### 4.3.1. Le chloramphénicol

C'est un antibiotique bactériostatique à large spectre. En Algérie, il est réservé au traitement de la fièvre typhoïde [12].

##### 4.3.2. Thiamphénicol

Le thiamphénicol est très voisin chimiquement du chloramphénicol, son spectre d'action est similaire [12].

#### 4.4. Les tétracyclines

Les tétracyclines sont bactériostatiques, elles pénètrent bien dans les cellules, ces molécules présentent une grande homogénéité. On distingue les cyclines naturelles et les cyclines semi synthétiques [12].

#### 4.4.1. Cyclines naturelles

- Chlortetracycline (Auréomycine®)
- Tetracycline base (Tetracyne ®)

#### 4.4.2. Cyclines semi-synthétiques

- Oxytetracycline (Terramycine®),
- Doxycycline (Vibramycine®),
- Minocycline (Mynocine®) [12].

#### 4.5. Les polypeptides

On distingue 7 groupes : parmi eux :

- Peptides cycliques représentés par la Capréomycine, la Viomycine.
- Glycopeptides représentés par la Vancomycine.
- Glycolipopeptides représentés par la telcoplanine, laramoplanine
- lipopeptides représentés par la Daptomycine (en développement clinique), la Polymyxine (actif sur BGN) [12].

##### 4.5.1. La vancomycine

Le chlorhydrate de vancomycine représente le principe actif et est administré par voie intra - veineuse uniquement. Antibiotique à usage hospitalier [12]

##### 4.5.2. La teicoplanine

La molécule est un acide faible soluble dans l'eau et bien toléré en **IV** et en **IM**. Sa grande lipophilie lui permet une meilleure diffusion tissulaire et un relargage lent. Antibiotique à usage hospitalier [12].

##### 4.5.3. La Polymyxine

Les lipopeptides se caractérisent par une chaîne peptidique à laquelle est fixée une chaîne lipidique.

On distingue : Polymyxine β (Polymyxine®) et la Polymyxine E (Colimycine®) [12].

#### 4.6. Les macrolides

Ce sont des antibiotiques fréquemment utilisés en pratique de ville à cause de leur facilité d'emploi. Ils ont un spectre étroit, et sont parfaitement actifs sur les germes intracellulaires. Ils ont une excellente pénétration tissulaire, les macrolides possèdent un noyau lactone central qui est à la base de leur classification, selon le nombre d'atomes de carbone. Ce sont des molécules lipophiles [12].

#### 4.7. Les quinolones

Plusieurs molécules ont été synthétisées pour exalter le pouvoir antibactérien et améliorer les

Caractéristiques pharmacocinétiques. Schématiquement on peut classer les quinolones sur la base de l'étendue du spectre antibactérien et la nature fluorée ou non du squelette en deux groupes :

- Les quinolones de première génération exemple : L'acide nalidixique : Negram®, L'acide oxolinique : Urotrate®
- Les quinolones de deuxième génération exemple : Ofloxacin : Oflocet, Levofloxacin [12]

#### 4.8. Les rifamycines

Sont constituées d'un macro-cycle et d'un cycle aromatique.

On distingue trois antibiotiques :

- . La Rifamycine **SV** (Rifocine®),
- . La Rifamide et la Rifampicine [12].

**Tableau 1 : Mécanismes d'action des principales familles d'antibiotiques [32].**

Mécanisme d'action	Familles d'antibiotiques
Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	Pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes, daptomycines, monobactames, glycopeptides
Inhibition de la synthèse protéique	Tétracyclines, aminoglycosides, oxazolidonones, streptogramines, kétolides, macrolides, lincosamides
Inhibition de la synthèse de l'ADN	Fluoroquinolones
Inhibition compétitive de la synthèse de l'acide folique (folates)	Sulfonamides, triméthoprime
Inhibition de la synthèse de l'ARN	Rifampine

#### 5. Antibiothérapie

Le choix optimal d'un antibiotique dépend de plusieurs facteurs :

### **5.1. Le Germe**

Les prélèvements bactériologiques doivent impérativement précéder la mise en route d'un traitement antibiotique. Une fois que l'isolement et l'identification de la bactérie sont effectués, il faut procéder à l'étude de la sensibilité aux antibiotiques par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) essentiellement [26].

### **5.2. Le site de l'infection**

Pour qu'un antibiotique soit actif sur un germe, il est essentiel qu'il le rencontre, et de connaître les capacités d'un antibiotique à pénétrer suffisamment et à se concentrer en un site donné [26].

### **5.3. Le terrain**

Le terrain du patient doit également constituer une préoccupation avant la mise en route d'un traitement antibiotique. Il est vrai qu'il y a des états physiologiques facilement contrôlables, mais il existe également des états pathologiques qui peuvent poser de sérieux problèmes dans le choix d'un antibiotique. En effet, certains antibiotiques, en raison de leurs effets toxiques, risquent d'aggraver des tares préexistantes (insuffisance rénale, insuffisance hépatique, SIDA) [26].

### **5.4. Risque écologique**

Parmi les effets indésirables des antibiotiques, il y en a un qui a une importance capitale, c'est la modification de la flore bactérienne normale de l'individu qui peut entraîner la sélection de souches résistantes, non seulement à l'antibiotique administré, mais aussi, en fonction de la nature de la résistance, à d'autres familles d'antibiotiques [26].

### **5.5. Coût**

Devant la consommation importante d'antibiotiques, le coût devient un élément fondamental.

Dans certaines circonstances pour traiter une infection, le prix du traitement peut être multiplié par vingt, à efficacité égale. Cette situation appelle à une sérieuse réflexion pour uniformiser les attitudes thérapeutiques dans le sens où, à efficacité égale, le choix sera donné à la molécule la moins coûteuse [26].



# CHAPITRE 3

## LES BACTERIES MULTIRESISTANTES

### 3. Les bactéries multirésistantes

#### 3.1. Définition

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique.

La multirésistance concerne les bactéries responsables d'infections communautaires à l'exemple des pneumocoques ou les bacilles de la tuberculose et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins. Certaines résistances sont particulièrement importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène. C'est le cas des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (EBLSE) [6].

#### 3.2. Les types de BMR

##### 3.2.1. Hospitaliers

- SARM : *S.aureus* est une des deux principales espèces responsables d'infection nosocomiale. Le développement incontrôlé des épidémies de SARM et les preuves répétées de leur diffusion clonale justifient à eux seuls la mise en place d'un programme de lutte contre les BMR. Les SARM représentent 5 à 10% des bactéries isolées des infections nosocomiales(IN),il sont résistants à toutes les  $\beta$ -lactamines et très souvent résistants aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones [40].
- ESBLE : les entérobactéries dans leur ensemble représentent 35 à 40% des bactéries responsables d'IN. Les EBLSE représentent environ 1% des bactéries isolées des IN. La tendance à la diffusion clonale des EBLSE est bien démontrée. Les souches d'EBLSE principalement *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* et à un moindre degré *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter sp\_* sont résistants à de nombreuses  $\beta$ -lactamines (sauf imipénème), et souvent céphamycines pour les espèces qui y sont naturellement sensibles, et très souvent résistants aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones [40].
- Entérocoque résistante à la vancomycine(ERV) : représentent environ 1% des souches d'entérocoques isolées à l'hôpital. On retrouve principalement :

-*Acinetobacter baumannii* : représentent 2 à 4% des bactéries responsables d'IN, jouent un rôle non négligeable dans certains secteurs hospitaliers (soins intensifs) et sont parfois à l'origine de bouffées épidémiques dans lesquelles la contamination de l'environnement des patients porteurs joue un rôle. Certaines souches épidémiques résistantes à l'imipénème conduisent à des impasses thérapeutiques [40].

-*Pseudomonas aeruginosa* multirésistant : les souches de *P.aeruginosa* résistantes aux  $\beta$ -lactamines (ticarcilline, ceftazidime ou imipénème) ont tendance à être résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. Dans les hôpitaux concernés, ces souches doivent faire l'objet d'une stratégie spécifique, notamment d'une politique de prescription des antibiotiques, et des mesures de contrôle de l'environnement [40].

### 3.2.2. Communautaire

Les BMR communautaire sont des bactéries impliquées dans les infections survenant en dehors d'un établissement de santé, par opposition des BMR hospitaliers. Ces germes sont caractérisés par une probabilité de résistances relativement faibles, les plus fréquentes de ce type de BMR sont les pneumocoques et les bacilles de la tuberculose [1].

- *Streptococcus pneumoniae* : est un pathogène majeur, responsable d'infections communautaires à type de pneumonies, de bactériémies, de méningites, d'otites et de sinusites, la pneumocoque a acquis au cours des cinq dernières décennies de nombreuses résistances à : sulfamides ,tétracyclines, érythromycine, pénicilline et chloramphénicol .La résistance du pneumocoque aux  $\beta$ -lactamines est liée à une modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP). la surveillance de la sensibilité du pneumocoque aux antibiotiques est nécessaire afin d'adapter les recommandations thérapeutiques des infections penumococciques.
- *Bacille de la tuberculose* : Le bacille de la tuberculose peut devenir résistant aux antimicrobiens utilisés pour guérir la maladie, La tuberculose multi résistante (MR) est une tuberculose contre laquelle l'isoniazide et la rifampicine, les 2 antituberculeux les plus puissants, ne sont pas efficaces, La mauvaise gestion du traitement antituberculeux et la transmission interhumaine expliquent la propagation de la tuberculose multi résistante [1].

### 3.3. Localisation des BMR en milieu hospitalier

La propagation des BMR selon les services et leurs particularités est mentionnée au-dessous :

**Tableau 2 : localisation des BMR en milieu hospitalier [19].**

SERVICES	PARTICULARITES
Réanimation, soins intensifs	Forte incidence en BMR car : - prescription importante d'antibiotiques - technicité développée, procédures invasives, charge en soins importante
Services de court séjour : médecine, chirurgie, obstétrique	transferts internes - transferts entre établissements de santé médicaux et sociaux - technicité développée, procédures Invasives
Services de soins de suite et de rééducation	- nécessité de rééducation collective (repas, activités) - poly pathologies
Long séjour, MAS, EHPAD, Psychiatrie, ...	- charge en soins élevée - poly pathologies des patients et troubles du comportement - faible ratio personnel / malade - nécessité de rééducation

# PARTIE II

## LA PARTIE PRATIQUE

# MATERIELS ET METHODES

## **1. Etude prospective**

Notre travail expérimental a été réalisé au laboratoire d'analyses Dr. Bellil, paillasse de bactériologie, situé à El khroub. Durant une période de 15 jours allant du 7 au 23 mai 2016 on a pu colliger divers échantillons pathologiques provenant de sujets d'âges et de sexes différents, hospitalisés à L'Hôpital d'El Khroub et des échantillons prélevés, par nous-mêmes, sur des surfaces du service de médecine interne du même hôpital.

## **2. Matériels et milieux utilisés**

### **2.1. Matériels**

- Microscope optique;
- Bec bunsen;
- Pipettes pasteur;
- Anse de platine;
- Boîtes de Pétri;
- Lames et lamelles ;
- Etuve;
- pinces;
- Ecouvillons ;

### **2.2. Milieux de culture**

#### **2.2.1. Milieux d'isolement**

- Gélose nutritive;
- Gélose Hektoen;
- Gélose Chapman ;
- Gélose au chocolat ;
- Gélose Mueller Hinton ;

#### **2.2.2. Milieux d'identification biochimique et métabolique**

- Milieu TSI;
- Milieu Citrate de Simmons;
- Milieu Liquide Urée Indole ;
- Réactif de Kovax ;

### 2.2.3. Disques d'Antibiotiques

- **$\beta$ -lactamines**

Amoxicilline(AMX), Amoxicilline-acide-clavulanique(AUG), Cefoxitine(FOX), Cefazoline(CZ), Céfotaxime(CTX), Ticarcilline(TIC), Piperacilline(PIP), Nibiol(NI)

- **Aminosides**

Gentamycine(GN), Amikacine(AN)

- **Quinolones**

Ac.nalidixique(NA), Ciprofloxacine(CIP), Pefloxacine(PEF)

- **Autres**

Trimethoprime+Sulfamides(SXT), Colistine(CL)

### 3. Méthodologie

Les échantillons collectés ont été prélevés sur 50 patients, seulement 05 d'entre eux présentaient un résultat positif. Parmi ces derniers quatre (04) sont des échantillons d'urines et un (01) échantillon d'éjaculat.

En plus des échantillons précédents on a rajouté des prélèvements effectués sur certaines surfaces, du service de médecine interne au niveau de l'hôpital d'EL Khroub, il s'agit : passe de porte, chariot des soins.

#### 3.1. Les prélèvements

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignements qui comporte :

- Nom et prénom.
- Age et sexe.

##### 3.1.1. Techniques de Prélèvement

- **Prélèvement de l'urine**

Après lavage hygiénique des mains et toilette soignée des organes génitaux externes et après élimination du premier jet, les urines, de préférence les urines du matin, sont recueillies dans un tube stérile (environ 10 à 20 ml), le tube est fermé hermétiquement et acheminé au laboratoire dans la demi-heure qui suit le prélèvement, si non il est placé dans de la glace [15].



- **Prélèvement de l'éjaculat**

Le prélèvement du sperme est réalisé classiquement après une abstinence de trois jours, mais dans le contexte qui nous intéresse ici, il peut être réalisé sans période d'abstinence, mais après une miction suivie d'une désinfection soignée du gland à l'aide d'un antiseptique et rinçage. Le recueil est effectué dans un flacon stérile à large ouverture.

- **Prélèvements effectués sur des surfaces à l'hôpital**

Les prélèvements ont été effectués au niveau des services de médecine interne comme mentionné plus haut par frottement des surfaces à l'aide d'écouvillons stériles.

### **3.2. L'isolement**

#### **3.2.1. A partir des urines**

Après un examen à l'état frais des urines, on réalise des cultures, à l'aide d'une anse calibrée. On ensemence par des stries bien serrées une goutte d'échantillon sur une gélose nutritive. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Une culture est dite positive lorsqu'on observe une croissance bactérienne et les numérations sont supérieures ou égales à 10<sup>5</sup>bactérie/ml

#### **3.2.2. A partir de l'éjaculat**

L'échantillon de l'éjaculat est placé dans une étuve à 37°C pour qu'il se liquéfie. Après environ une heure on prend à l'aide d'une pipette pasteur une goutte et on l'ensemence par des stries serrées sur les 3 milieux de culture suivants : La gélose Hektoen, la gélose au chocolat, la gélose Chapman, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48 heures. Une culture est dite positive lorsqu'on observe une croissance bactérienne sur les boîtes avec un aspect précis des colonies.

#### **3.2.3. A partir des surfaces hospitalières**

On procède à l'enrichissement des prélèvements dans un bouillon nutritif et incubation à 37°C pendant 24 heures. Un résultat positif est caractérisé par l'apparition d'un trouble. La culture est par la suite réalisée sur la gélose nutritive par des stries serrées suivie d'une deuxième incubation pendant 24 heures pour vérifier la croissance des bactéries.

### 3.3. Purification et identification

Après incubation, on examine l'aspect des colonies ayant poussé sur les milieux de culture et selon la nécessité (si les boîtes contiennent plusieurs types de colonies), on procède à la purification de la souche en réalisant des repiquages successifs (sur le même milieu d'isolement). L'identification des souches est réalisée par l'étude de quelques tests biochimiques dont : Le métabolisme des sucres sur milieu TSI, l'utilisation du citrate sur milieu citrate de Simmons, recherche de l'uréase et la production de l'indole sur milieu Urée indole (mini galerie biochimique).

#### 3.3.1. La galerie biochimique

Les principaux tests biochimiques qu'on a effectués sont :

##### -Recherche de l'utilisation du citrate

Le milieu citrate de sodium (citrate de Simmons) est un milieu solide qui permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie, ce caractère est intéressant pour discriminer les bactéries entre-elles et ainsi de les identifier [ 2].

**Tableau 3:** Recherche de l'utilisation du citrate [2].

Mode d'ensemencement	Caractère recherché	Résultat
-La pente ensemencée par une série longitudinale, réalise à l'anse, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile.  -Ne pas visser le bouchon à fond, afin de permettre les échanges gazeux (en particulier l'élimination du dioxyde de carbone)  -Mettre à l'étuve 24h à 37C°	-utilisation du citrate comme seule source de carbone.	-Le virage de l'indicateur de pH de vert au bleu : il y a une alcalinisation du milieu et la souche est citrate +  -Pas de virage de l'indicateur pH : il n'y a pas eu une alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture (citrate)

### -Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, le saccharose, la production de gaz et d'hydrogène sulfureux (H<sub>2</sub>S) sur milieu TSI

- Le milieu TSI est un milieu semi –incliné
- Le but de ce test est la recherche de plusieurs caractères chimiques [2].

**Tableau 4** : Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, saccharose, production de gaz et d'hydrogène sulfureux (H<sub>2</sub>S) sur milieu TSI [2].

Mode d'ensemencement	Caractères recherchés	Résultat
<p>-Ensemencer abondamment la surface par des stries ou par inondation, puis le culot par simple pique, à l'aide de la même pipette boutonnée</p> <p>-il est important de ne pas oublier de visser partiellement la capsule afin de permettre les échanges gazeux.</p> <p>-Mettre à l'étuve à 37C° pendant 24heures.</p>	<p>-L'utilisation du glucose</p> <p>-L'utilisation du lactose</p> <p>-L'utilisation du saccharose</p> <p>-Production de gaz</p> <p>-production d'H<sub>2</sub>S</p>	<p>-La fermentation des glucides (glucose, saccharose, lactose) provoque une production d'acide qui est détectée par l'indicateur au rouge de phénol, des changements de couleur en résultat, et le milieu vire au jaune en cas de production d'acides, ou en rouge en cas d'alcalinisation.</p> <p>-La présence de bulles et le déplacement du milieu vers le haut signifie qu'il y a production du gaz.</p> <p>-La production d'H<sub>2</sub>S se traduit par un précipité noir.</p>

### -La recherche de l'hydrolyse de l'urée et la production d'indole

Cette recherche est faite sur milieu urée tryptophane, appelé improprement milieu urée Indole, le milieu tryptophane est un milieu synthétique. Ce milieu complexe fournit un ensemble de résultats utiles à l'identification de nombreux germes bactériens [2].

**Tableau 5** : Recherche de l'hydrolyse de l'urée et la production d'indole [2].

Mode d'ensemencement	Caractères recherchés	Résultat
-Dans un tube contenant la suspension bactérienne, on rajoute quelques gouttes du milieu urée-indole -Incuber à 37C° pendant 24heures.	-La présence de l'uréase qui dégrade l'urée sera révélée par un virage de l'indicateur de pH (le rouge de phénol) à sa teinte basique (rouge). -Après addition du réactif de Kovacs, le diméthyl-amino-benzaldhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, produit l'activité de la tryptophanase et forme un composé coloré en rouge.	-Coloration rouge du milieu: uréase (+) pas de virage de couleur en rouge : uréase (-) -Formation d'un anneau rouge indole (+) -Absence de coloration rouge : indole (-)

### 3.3.2. Test de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme standard)

Nous avons testé la sensibilité de toutes les souches identifiées vis-à-vis différents antibiotiques, par la méthode de l'antibiogramme standard, par diffusion sur gélose Mueller Hinton(MH). 3 à 5 colonies sont prélevées et dissociées dans 5ml d'eau distillée stérile. Le milieu MH est ensemencé par stries très serrées en 3 passages en faisant pivoter les boîtes de Petri de 60 °.

Les disques d'antibiotiques sont disposés sur la gélose, manuellement, avec une pince métallique stérile. Les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

La lecture se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition obtenu autour des disques d'antibiotiques à l'aide d'une règle. L'interprétation est en : sensible (S) ou résistante (R) ou intermédiaire (I) (**Fig 6,7**).

# RESULTATS ET DISCUSSION

## Résultats de l'isolement et l'antibiogramme

### 1. A partir des urines

Les résultats de l'isolement, l'identification biochimique et l'antibiogramme obtenus sont représentés dans le **tableau 6**. Les cultures à partir des urines ont permis d'isoler les souches suivantes : *E coli* et *Enterobacter sp*, identifiées par référence au tableau d'identification biochimique, **tableau 7**.

**Tableau 6 : Identification bactérienne et antibiogramme des souches bactériennes isolées à partir des urines.**

Patient s	Caractères cultureux	Galeries biochimiques			Bactéries Isolées	Antibiogramme	
		TSI	Urée-Indole	Citrate de Simmons			
1	Ronde, bombé, opaque, lisse, crémeuse, non pigmentée	Glu : + Sacc /Lac: + H <sub>2</sub> S :- Gaz : +	Urée :-  Indole: +	-	<i>Escherichia coli</i>	Amx : R Aug : R CZ : R Ctx : R Fox : S Tic : R Pip : R GN : S	AN : S Na : S Ni : / Sxt : S CL : S PEF : S CiP : S
2	Opaque crémeuse, lisse brillantes, opaques, d'aspect gras	Glu : + Sacc /Lac: + H <sub>2</sub> S :- Gaz : +	Urée : -  Indole: -	+	<i>Enterobacter sp</i>	Amx : R Aug : R CZ : R Ctx : R Fox : S Tic : R Pip : R GN : R	AN : S NA : R Ni : S Sxt : R CL : S PEF : R CiP : R
3	Ronde, bombé, opaque, lisse, crémeuse, non pigmentée	Glu : + Sacc /Lac: + H <sub>2</sub> S :- Gaz : +	Urée: -  Indole: +	-	<i>Escherichia coli</i>	Amx : R Aug : R CZ : R Ctx : R Fox : R Tic : R Pip : I GN : S	AN : S NA : R Ni : I Sxt : R CL : S PEF : R CiP : R
4	Ronde, bombé, opaque, lisse, crémeuse, non pigmentée	Glu : + Sacc /Lac: + H <sub>2</sub> S :- Gaz : +	Urée :-  Indole: +	-	<i>Escherichia coli</i>	Amx : R Aug : R CZ : R Ctx : R Fox : R Tic : R Pip : R GN : R	AN : R NA : R Ni : R Sxt : R CL : R PEF : R CiP : R

(+) : réaction positive , (R) : résistante , (I) : intermédiaire

(-) : réaction négative , (S) : sensible

**Tableau7** : Tableau d'identification biochimique des entérobactéries [32].

	Escherichia	Citrobacter	Enterobacter	Klebsiella	Serratia	Salmonella	Shigella	Proteus	Providencia
Gluc	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lact	+	+	+	+	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-
indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+
VP (acétoine)	-	-	+	+	+	-	-	-	-
Citr	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+
Mob.	+	+	+	-	+	+	-	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-
PDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+
H <sub>2</sub> S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-

Caractère positif (+), Caractère négatif (-), Caractère variable (+/-).

## 2. A partir de l'éjaculat

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 8 : Identification bactérienne et antibiogramme des souches bactériennes isolées à partir de l'éjaculat.**

Patients	Caractères cultureux	Galeries biochimiques			Bactéries Isolées	Antibiogramme	
		TSI	Urée-Indole	Citrate de Simmons			
5	Ronde, bombé, opaque, lisse, sous forme de nappe	Glu : + Sacc /Lac:- H <sub>2</sub> S : + Gaz : +	Urée : +  Indole :-	+	<i>Proteus sp</i>	Amx :R Aug :R CZ :R Ctx :S Fox :S Tic :S Pip :S GN :S	AN :S NA :R Ni :R Sxt :R CL :R PEF: R CiP :I

### 3. A partir des surfaces hospitalières

**Tableau 9 : Identification bactérienne et antibiogramme des souches bactériennes isolées à partir des surfaces hospitalières.**

Service		Médecine interne						
Prélèvement		Galeries biochimiques			Bactéries trouvées	Antibiogramme		
Caractères d'identification		TSI	Urée-Indole	Citrate de Simmons				
Passe de porte		lisses, bombées, brillantes humides muqueuses filantes	Glu : + Sacc /Lac:d H <sub>2</sub> S :- Gaz : d	Urée :-  Indole :-	-	<i>Klebsiella spp</i>	Amx : R Aug : R CZ : R Ctx :R Fox :S Tic :R Pip :R GN :S	AN :S NA :R Ni :S Sxt :S CL :S PEF: R CiP :R
Chariot de soins		Opaque crémeuse, lisse, brillantes, opaques, d'aspect gras.	Glu : + Sacc /Lac:+ H <sub>2</sub> S :- Gaz : +	Urée :-  Indole :-	+	<i>Enterobacter spp</i>	Amx : R Aug :R CZ :R Ctx :S Fox :R Tic :R Pip :S GN :S	AN :S NA :S NI :I Sxt :S CL :S PEF: S CiP :S



## Discussion

### 1. Etude de l'antibiorésistance des souches isolées à partir des urines

L'infection urinaire est l'infection bactérienne la plus commune. Elle impose un fardeau économique considérable à la société. Cela est en rapport avec la physiopathologie de l'infection urinaire qui est en général ascendante, à cela s'ajoutent des facteurs spécifiques d'uropathogénicité [4].

D'après les statistiques du laboratoire DR Bellil, *E. coli* est de loin le germe le plus fréquemment isolé suivi de *Klebsiella spp* et d'*Enterobacter spp*. Ainsi, *E. coli* possède des adhésines capables de lier la bactérie à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales [7].

La prédominance d'*Escherichia coli* a été mentionnée dans plusieurs études africaines, HOUNTON en 2002 a rapporté un taux de (42,2%) d'*Escherichia coli*, (28,3%) de *Klebsiella pneumoniae*, (7,1%) d'*Acinetobacter spp* et (4.4%) de *Klebsiella oxytoca*. PODIE à son tour rapporté une prédominance de 25.6% d'*Escherichia coli* suivie de 20.8% de *Klebsiella spp* [7].

Autrefois, l'amoxicilline et l'augmentin étaient les molécules les plus utilisées dans le traitement des infections causées par *Escherichia coli*. La sensibilité de cette bactérie à ces deux antibiotiques a beaucoup diminuée.

Notre étude confirme cette observation car les trois souches d'*Escherichia coli* isolées sont résistantes à l'amoxicilline et à l'augmentin. Ce résultat est comparable à ceux de certains chercheurs ; ainsi d'après S. Ben Redjebl et Boutiba-Ben Boubaker (2004-2007), 64.92% des *E. coli* étudiées au cours de ces années sont résistantes à l'amoxicilline [30].

Par contre, d'autres auteurs tels que DE MOUY et Coll. (1997), en 1995 en France ont obtenu un taux nettement plus élevé de souches sensibles à l'amoxicilline [13].

L'étude de la sensibilité de ces souches aux  $\beta$ -lactamines, montre des taux de résistance acquis très élevés à l'hôpital du fait du caractère nosocomial des souches. Cette situation générale est la conséquence de la pression de sélection due au large usage des  $\beta$ -lactamines. De plus, ces résistances acquises du fait de leur déterminisme plasmidique, ont un grand pouvoir de dissémination.

La résistance aux  $\beta$ -lactamines peut être consécutive à 3 mécanismes :

- Altération des porines avec diminution de la perméabilité (bacilles à Gram négatifs).
- Inactivation enzymatiques par les  $\beta$ -lactamases qui ouvre le cycle  $\beta$ -lactame des pénicillines (pénicillinases) .ces enzymes sont extracellulaires et ont un support génétique étant alors chromosomique ou plasmidique (bactérie Gram-).
- Modification des cibles (PBP Penicillin Binding Protein) [7].

Les aminosides (Gentamycine(GN) et Amikacine(AN)) gardent une excellente activité et restent jusque là très actifs sur les entérobactéries et principalement sur *E. coli*. Ces résultats sont très proches de ceux rapportés par PODIE en 1999 et à ceux de Cotonou et BATHILY en 2002 qui ont trouvé respectivement 43.8% et 45% de sensibilité [8].

Pour les Quinolones (PEF, CIP et NA) un taux de résistance élevé est noté pour les souches étudiées notamment pour *E. coli*, Cela peut s'expliquer par l'émergence de mutations de premier niveau de l'ADN gyrase (GyrA) qui confèrent une résistance à l'acide nalidixique chez *E.coli*. La multiplication de telles souches est susceptible de faire le lit de mutations additionnelles à la suite d'une exposition à l'antibiotique et ainsi d'une émergence des résistances aux fluoroquinolones. L'évolution des résistances à l'acide nalidixique et aux fluoroquinolones doit donc être particulièrement surveillée [4].

L'amikacine (AN) est l'antibiotique le plus actif pour traiter les infections urinaires provoqués par les entérobactéries, pour cela il est encore efficace en antibiothérapie chez l'homme.

-Un cas particulier est noté pour le patient 4, l'antibiogramme de la souche d'*E.coli* isolée montre que cette dernière est résistante a tous les antibiotiques testés quelque soit sa famille donc on peut dire que cette souche est : multirésistante

Ce résultat est proches à celui du Dr Johann Pitout, professeur agrégé de pathologie et de microbiologie, Université de Calgary, Alberta qui a trouvé un taux de résistance parmi les souches d'*E.coli* testé élevés envers la pipéracilline-tazobactam, l'amikacine, la ciprofloxacine, la gentamicine, la tobramycine et le triméthoprime-sulfaméthoxazole, ce qui souligne la nature multirésistante des isolats inclus dans l'étude, affirment l'auteur

Les espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* principalement *Escherichia coli* qui produisent de nouvelles bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) sont incriminées dans les infections urinaires. Parmi ces souches d'*E.coli* porteuses de CTX-M – sont actuellement à l'origine d'une pandémie d'infections à *E. coli* multirésistante pour lesquelles peu d'options de traitements sont adoptés, surtout lorsque ces infections sont graves [25].

## 2. Etude de l'antibiorésistance des souches isolées à partir de l'éjaculat

Dans l'échantillon de l'éjaculat, *Proteus spp* est la seule souche isolée. *Proteus mirabilis* est l'espèce la plus fréquemment isolée des prélèvements cliniques, elle est à l'origine d'infections graves et parfois mortelles [36].

Ce germe est transmis par contact sexuel, ou par des pathogènes urologiques banaux. *Proteus spp* est naturellement résistante à la colistine et sensible à toutes les bêta-lactamines (pas de céphalosporinase chromosomique de classe C). Les autres antibiotiques testés sur les bacilles à Gram négatif type Entérobactéries sont habituellement actifs (aminosides, quinolones, cotrimoxazole, chloramphénicol) [35].

Notre souche isolée présente une résistance à la colistine. Ce résultat corrobore parfaitement avec celui de Sougakoff et al. (2004).

Une résistance à la moitié des antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines (Amx, Aug, CZ, NI) à été notée pour cette souche. Il s'agit donc d'une résistance acquise qui peut être due à une mutagénèse ou à un transfert de gènes, résultats relativement éloignés de ceux mentionnés par Kassama et al. (2013) qui confirment la sensibilité à toutes les  $\beta$ -lactamines [23].

Concernant les aminosides, *proteus spp* est naturellement sensible à eux, cette sensibilité est enregistrée vis-à-vis de l'amikacine et la gentamicine dans notre étude. Résultats non conforme aux travaux de Kassama et al. (2013) indiquant 100% de résistance à ces antibiotiques [23].

Le mécanisme de résistance acquise de *proteus spp* est identique à celui décrit précédemment pour *E. coli*.

### 3. Etude de l'antibiorésistance des souches isolées à partir des surfaces hospitalières

*Klebsiella spp* et *Enterobacter spp* sont les souches isolées et identifiées à partir des prélèvements effectués sur des surfaces de passe de porte de chambre d'un malade et de chariot des soins

Les bactéries du genre *Klebsiella* peuvent être transmises d'une personne à une autre, elles sont souvent présentes sur les mains du personnel hospitalier ce qui explique leur existence sur le passe de porte. Conformément aux données de Decré et al en 2000, l'espèce *K. pneumoniae* est plus fréquemment isolée à l'hôpital qu'en communauté [14].

Bien que ces agents pathogènes soient souvent en cause dans les cas de pneumonie et de bactériémie d'origine communautaire, ils causent principalement des infections nosocomiales. On considère que les espèces du genre *Klebsiella* sont endémiques dans les services de néonatalogie, et les éclosions nosocomiales [3].

*Klebsiella pneumoniae* est naturellement résistante aux pénicillines des groupes G et A et à la carbénicilline sous l'effet d'une pénicillinase chromosomique appelée SHV1. Elle est sensible aux autres antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif [26] .

A partir des résultats obtenus, les souches étudiées sont résistantes à l'amoxicilline, la ticarcilline, amoxicilline-acide clavulanique et à la Cefazoline. Il reste donc cefoxitine et céfotaxime de la famille des  $\beta$ -lactamines qui peuvent traiter *Klebsiella spp* et *Enterobacter spp* respectivement.

Une excellente activité est enregistrée pour les aminosides (la gentamycine et l'amikacine) à cause de la grande sensibilité de ses souches face à ces antibiotiques, ces aminosides sont de premiers choix dans le traitement des infections nosocomiales à *Klebsiella spp* et *Enterobacter spp* [2].

Ces résultats sont différents de ceux de Sekhri A en 2011, qui rapportent des taux de Résistance respectivement de 69,23% pour la gentamycine et de 48,07% pour l'amikacine [33].

# CONCLUSION

---

## Conclusion

Les bactéries isolées du milieu hospitalier sont des germes opportunistes. Aujourd'hui, et en raison de leur résistance à une large variété d'antibiotiques, elles sont les agents responsables d'infections nosocomiales sévères et d'épidémies qui peuvent entraîner de grandes difficultés de prise en charge pour les patients, avec des situations d'impasse thérapeutique [28].

Face à cette épidémie qui évolue à bas bruit et constitue une menace majeure pour la santé publique, une mobilisation déterminée et durable de l'ensemble des acteurs impliqués est indispensable.

Dans ce contexte, le but principal assigné à ce travail est basé sur deux aspects : le premier est l'identification de souches isolées à partir d'échantillons provenant du milieu hospitalier et le deuxième est l'étude de la sensibilité des souches isolées vis-à-vis de certains antibiotiques utilisés en thérapeutique.

Sept souches isolées sont retenues pour cette étude. Les résultats de l'identification ont révélés que la fréquence des bactéries responsables d'infections est dominée par la famille des *Enterobacteriaceae* avec *E. coli* au premier rang, suivie d'*Enterobacter Spp* pour les urines et *Proteus spp* pour l'éjaculat. Les deux souches isolées à partir des surfaces hospitalières appartiennent également à la famille des Enterobacteries aux genres *Klebsiella* et *Enterobacter*.

La technique de diffusion en gélose utilisée pour l'étude de la résistance de ses souches a montré que toutes les souches étudiées présentent une résistance vis-à-vis de l'amoxicilline et de l'association amoxicilline + acide clavulanique.

- Les souches *E. coli*, *Klebsiella Spp* et *Enterobacter Spp* sont fortement sensibles à la céfotaxime, la cefoxitine, l'amikacine et la colistine.

- *Proteus spp* qui est naturellement résistante à la colistine s'est avéré résistante à la moitié des antibiotiques de la famille des bêta-lactamines utilisés, nos résultats montrent qu'elle a probablement acquis une résistance vis-à-vis des antibiotiques de cette dernière famille, auxquels elle était naturellement sensible.

- Une souche *E. coli* qualifiée de multirésistante, isolée chez un patient à partir des urines, a été identifiée. Elle présentait une particularité remarquable puisque elle avait résisté à toutes les classes d'antibiotiques testés. Ce cas doit être signalé pour permettre ainsi aux équipes

soignantes de le prendre en charge dans les meilleures conditions et d'éviter la transmission nosocomiale de ce germe qui représente une véritable menace pour la santé publique.

Notre travail reste préliminaire et l'étude des mécanismes de résistance nécessite le recours à des techniques avancées de biologie moléculaire.

En fin, une étude régulière des isolats et la détermination des sensibilités aux antibiotiques semblent être nécessaires pour mieux guider l'antibiothérapie et préserver l'efficacité des antibiotiques.

## Références bibliographiques

[1] **A.Znazen et al. (2004 – 2006)**. Résistance de streptococcus pneumoniae aux antibiotiques en Tunis : étude multicentrique, Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax. Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'enfant, Tunis. Laboratoire de Microbiologie, CHU Charles Nicolle, Tunis.

[2] **Abed. N., Essayd.M.(2015)**. profil de résistance des bactéries à Gram positif et à Gram négatif isolées au niveau du CHU de Constantine, Ecologie Microbienne, Université des frères Mentouri Constantine,16.17.18.19.20.21.22.

[3] **Agence de la santé publique du Canada**[www.santepublique.gc.ca](http://www.santepublique.gc.ca).

[4] **A. Ben Haj Khalifa et al. (Avril 2010)**.Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uropathogènes à l'hôpital universitaire Tahar Sfar De Mehdiia.Revue Tunisienne d'Infectiologie .Vol.4 . N°2. p. 60

[5] **B.Doublet et al.(2012)**.Antibiorésistance et les flux de gènes. Innovations Agronomiques 24 79-90.Disponible sur : <https://www6.inra.fr/ciag/content/download/3807/.../Vol24-6-Doublet.pdf>..

[6] **B.Khiev.B., B. Veber**.Patient BMR + risques de contamination et prévention en pré-hospitalier aux urgences,[http://sofia.medicalistes.org/spip/IMG/pdf/patient\\_BMR\\_risquesde\\_contamination\\_et\\_prevention\\_en\\_pre\\_hospitalier\\_et\\_aux\\_urgences.pdf](http://sofia.medicalistes.org/spip/IMG/pdf/patient_BMR_risquesde_contamination_et_prevention_en_pre_hospitalier_et_aux_urgences.pdf).

[7] **Bakiri. N., Amamra.I .(2009)**.etude de l'antibioresistance de souche d'entérobactéries isolées des eaux polluées et en milieu hospitalier ,Microbiologie général et biologie moléculaire des micro-organisme , Université des frères Mentouri Constantine p1

[8] **Bathily.D( 2001-2002)**Sensibilité aux antibiotiques des bacteries Gram négatif isolées des infections urinaires

[9] **Books.google.com/books?!**I isbn.bacteriologiemédicale:technique usuelles

[10] **Boukhatem. L. (2013)** .Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen, Microbiologie , Université AboubekerBelkaid Tlemcen p10



- [11] **Cattoen.C. 13 février (2015).** Persistance du portage de bactéries multirésistantes après la réanimation. 2 p. Disponible sur : [link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13546-015-1048-4.pdf](http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13546-015-1048-4.pdf)
- [12] **D.Yalaet al.(2001).** CLASSIFICATION ET MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES. Médecine du Maghreb, n°91.
- [13] **De Mouy.D et al .(1997).** les enterobacteries isolées des infection urinaires en pratique de ville etude AFORCOPIBIO.Méd.Mal.Infect. **Vol27**,pp642-645.
- [14] **Decré D et al. (2000).** Surveillance épidémique des souches de *Klebsiellapneumoniae* productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu dans un service de réanimation. Rev Française des laboratoires 320: 31-38
- [15] **Djennane. F et al. (2009).** Examen Cytobactériologique des Urines. Techniques Microbiologiques. Institut Pasteur d'Algérie. 76P.
- [16] **Gerard J. Tortora et al. (2011).** Introduction à la microbiologie .2eme Edition .Québec. Pearson .Edition du renouveau pédagogique INC.420-421 P.
- [17] <https://www.google.dz/#q=antibiogramme>
- [18] **Institut Pasteur.( le 22 mai 2009 )** .Multirésistance aux antibiotiques : pourquoi les bactéries sont si efficaces *Communiqué de presse* Paris.
- [19] **Inter Clin des Hauts Cantons.** Guide pratique de la maîtrise des bactéries multirésistantes aux antibiotiques, [http://cclinsudest.chulyon.fr/Antennes/LR/Documents&outils/Guide\\_BMR.pdf](http://cclinsudest.chulyon.fr/Antennes/LR/Documents&outils/Guide_BMR.pdf).
- [20] **J.Lavigne . Janvier (2007).** EFFETS DES ANTIBIOTIQUES et MÉCANISMES DE RÉSISTANCE, MB7 : Bactériologie, Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes.
- [21] **Joly. B et Reynaud.A.( 2002).** Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic. P 79-80-83.
- [22] **Julie. B. (2014).** Utilisation raisonnées des antibiotiques en élevage porcin, démarche d'accompagnement dans sept élevages, science vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort, 2014, p11

[23] **Kassama. M., Hamadi. S. (2013).** Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à l'établissement hospitalier spécialisé de Constantine. Université Constantine1. 62p.

[24] **Louise. G .PISTES. (2002).** La résistance bactérienne aux antibiotiques Université Laval. .disponible sur :[www.pistes.fse.ulaval.ca/sae/?no\\_version=2055](http://www.pistes.fse.ulaval.ca/sae/?no_version=2055)

[25] **MEDNET** : réseau d'éducation médicale [www.mednet.ca/fr/report/traitement-efficace-des-infections-par-escherich.html](http://www.mednet.ca/fr/report/traitement-efficace-des-infections-par-escherich.html)

[26] **Mehdi. S .(2008).** La fréquence des bactéries multi résistantes à l'hôpital Hassan II de Settat .THESE.[en ligne]. Pour l'obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p.

[27] **Microbiologie Médicale** [http://microbiologiecours.blogspot.com/2012/08/enterobacteries\\_4.html](http://microbiologiecours.blogspot.com/2012/08/enterobacteries_4.html)

[28] **Nouri. M ., Ziadi. C. (2015).** étude bactériologique et résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*. Génétique moléculaire, université des frères mentouri Constantine. P 4

[29] **Organisation mondiale de la santé (OMS) .(16 nov. 2015).** thème de santé .résistance aux médicaments. Disponible sur : [www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/fr/](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/fr/)

[30] **S. Ben Redjeb I., B. Ben Boubake. (2004- 2007).** L'Antibio-Résistance en Tunisie LART.p7

[31] [sante.lefigaro.fr](http://sante.lefigaro.fr)

[32] **Savard. P. (12-2008).** Caractérisation structurale et dynamique de la Beta-Lactamase TEM-1 de la bactérie *Escherichia coli* par RMN liquide. Thèse Doctorat en biochimie. Université Laval,

[33] **Sekhri. A. (2011).** Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Ben Badis de Constantine. Thèse Pour l'obtention du Grade de Docteur en Sciences. Année universitaire: 2010-2011

- [34]Sekhsoukh,Yet *al.*(2008).Frequency and antibiotic susceptibility of bacteria identified in urine.Medicine et maladies infectieuses.**vol.38**,issue6,pp324-327
- [35]Sougakoff. W et *al.* (2004). Fiche technique : *Proteus mirabilis* BLSE. CentreToulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. 51 : 8-543
- [36]Sougakoff. W.,Trystram D. (2003). Résistances aux  $\beta$ -lactamines. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière. p. 31
- [37]Stephanie.F. (2009). Transfert d'un gene de resistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les enterobacteries de la ore intestinale humaine : inuence d'un traitement antibiotique. Medication.Universite Rennes 1.French
- [38]Tagajdid.M.et *al.* .(2008).resistance to fluoroquinolones and third generation cephalosporin of Escherichia coli isolated from urines .Medicine et maladies Infectieuse.Ed.Elsevier Masson
- [39]TPE (Travaux Personnels Encadrés).« s.d.». Les Antibiotiques et leur Avenir:antibiotiques-tpe-by-eca.e-monsite.com
- [40] Vincent. J.( 2000) .Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français : bilan en 2000et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN)
- [41]www.Antibiotique.eu

# ANNEXES

## Annexe 1: Composition des milieux d'isolement

### - Gélose nutritive

Extrait de viande.....	01g
Extrait de levure.....	02g
Peptone.....	05g
Chlorure de sodium.....	05g
Agar.....	15g

Eau distillée : 1000 ml

**pH = 7,4**

### -Gélose Chapman

Peptones.....	11,0g/l
Extrait de viande.....	1,0g/l
Chlorure de sodium.....	75g/l
Mannitol.....	10g/l
Rouge de phénol.....	0,025g/l
Agar.....	15,0g/l

**pH=7, 4**

### -Gélose au chocolat

Peptone trypsique de caséine.....	7,5 g /l
Peptone pepsique de viande.....	17,5 g/l
Amidon de maïs.....	1 g/l
Hydrogénophosphate de potassium.....	4 g /l
Dihydrogénophosphate de potassium.....	1g/l
NaCl.....	1g/l
Hémoglobine.....	10g/l
Agar.....	15g/l

**pH=7, 2**

### - Gélose Hektoen

Protéose-peptone.....	12 g
Extrait de levure.....	03 g
Lactose.....	12 g
Saccharose.....	12 g
Salicine.....	02 g
Citrate de fer III et d'ammonium.....	1,5g
Sels biliaries.....	09 g
Fuchsine acide.....	0,1 g
Bleu de bromothymol.....	0,065 g
Chlorure de sodium.....	05 g

Thiosulfate de sodium.....	05 g
Agar.....	14 g

Eau distillée : 1000 ml

**pH = 7,5**

### **Annexe 2 : Composition du milieu utilisé pour l'antibiogramme.**

#### **- Gélose Mueller-Hinton**

Infusion de viande de bœuf.....	300ml
Peptone de caséine.....	17,5g
Amidon de maïs.....	1,5g
Agar.....	17g

Eau distillée : 1000 ml

**pH = 7,4**

### **Annexe 03 : Composition des milieux utilisés pour l'identification biochimique.**

#### **- Milieu TSI**

Peptones de caséine.....	15g
Peptones de viande.....	05g
Extraits de viande.....	03g
Extrait de levure.....	03g
Chlorure de sodium.....	05g
Lactose.....	10g
Saccharose.....	10g
Glucose.....	01g
Citrate de fer III et d'ammonium.....	0,5g
Thiosulfate de sodium.....	0,5g
Rouge de phénol.....	0,024g
Agar.....	12g

Eau distillée : 1000 ml

**pH = 7,4**

#### **-Milieu Urée Indole**

Urée.....	2,0g
L-tryptophane.....	0,3 g
KHPO <sub>4</sub> .....	0,1 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,1g
NaCl.....	0,5g
Alcool à 95 °C.....	1,0 g
Rouge de phénol à 1 %.....	0,25 g

---

Eau distillé : 100 ml

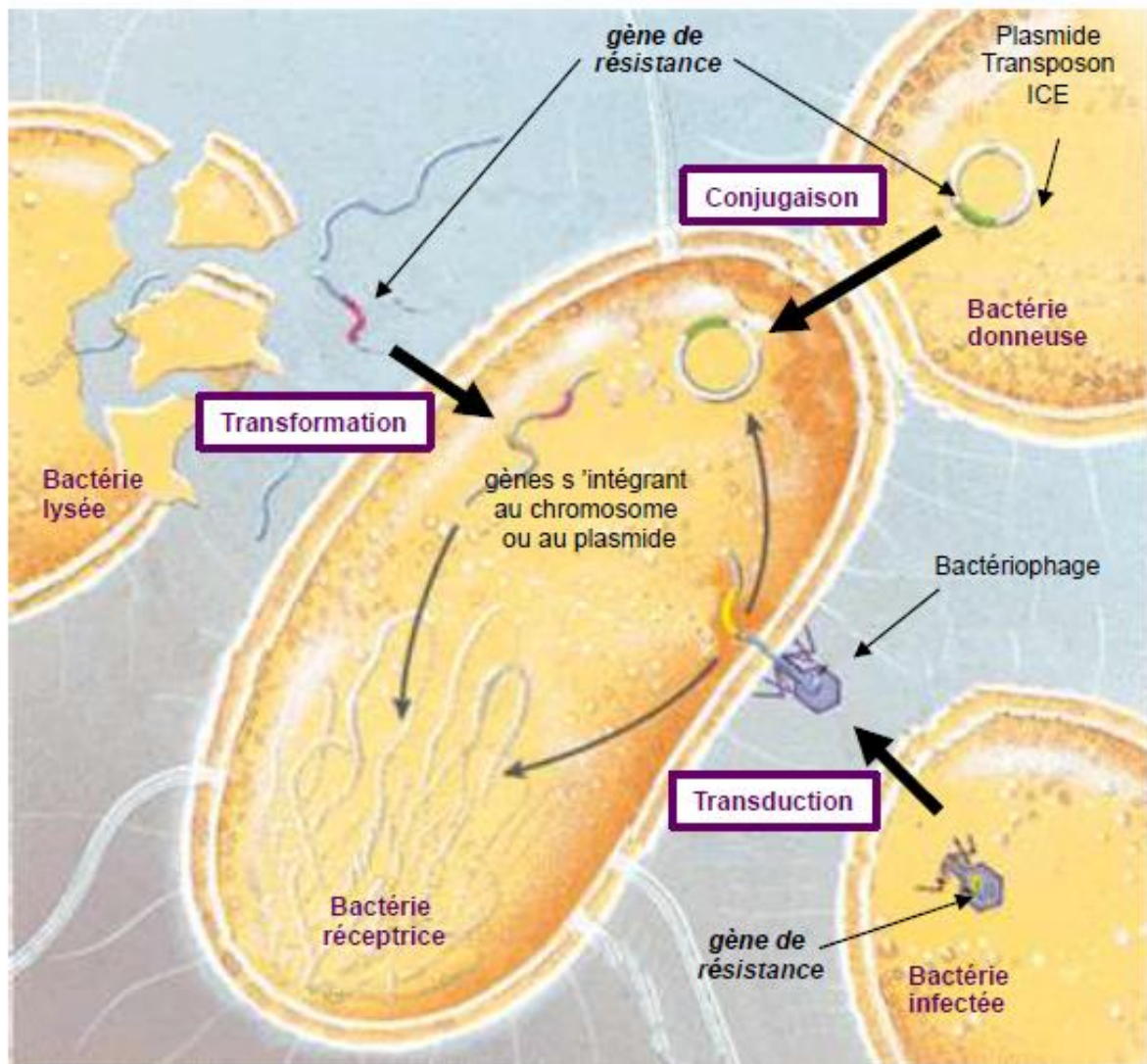
**pH=7**

**- Milieu citrate de Simmons**

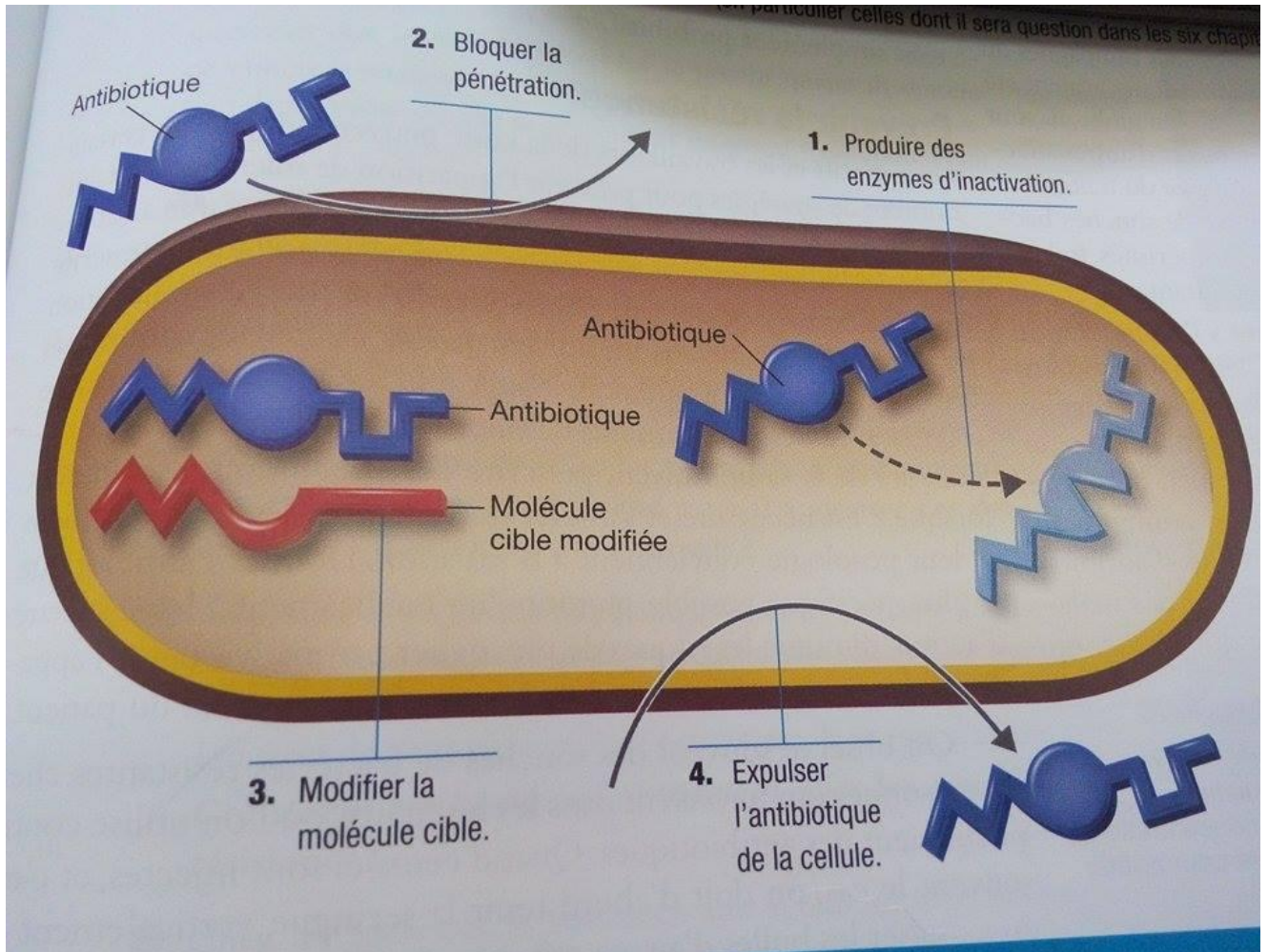
Citrate de sodium.....	02 g
Bleu de bromothymol.....	0,08 g
Chlorure de sodium.....	05g
Sulfate de magnésium.....	0,2 g
Hydrogénophosphate de potassium.....	01 g
Dihydrogénophosphate d'ammonium.....	01g
Agar.....	15 g

Eau distillée : 1000 ml

**pH = 6,9**



**Figure 1.** Diffusion des gènes de résistance aux antibiotiques [37].



**Figure 2.** Les différents mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques [16]



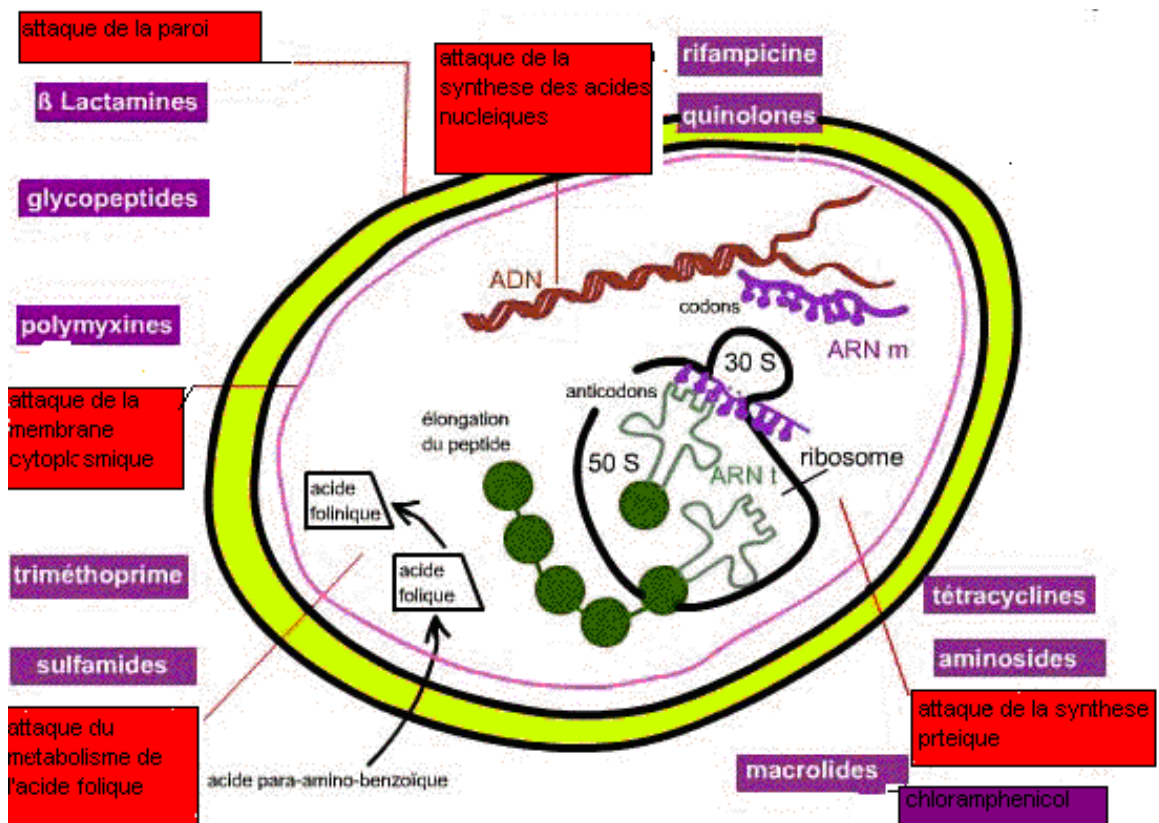
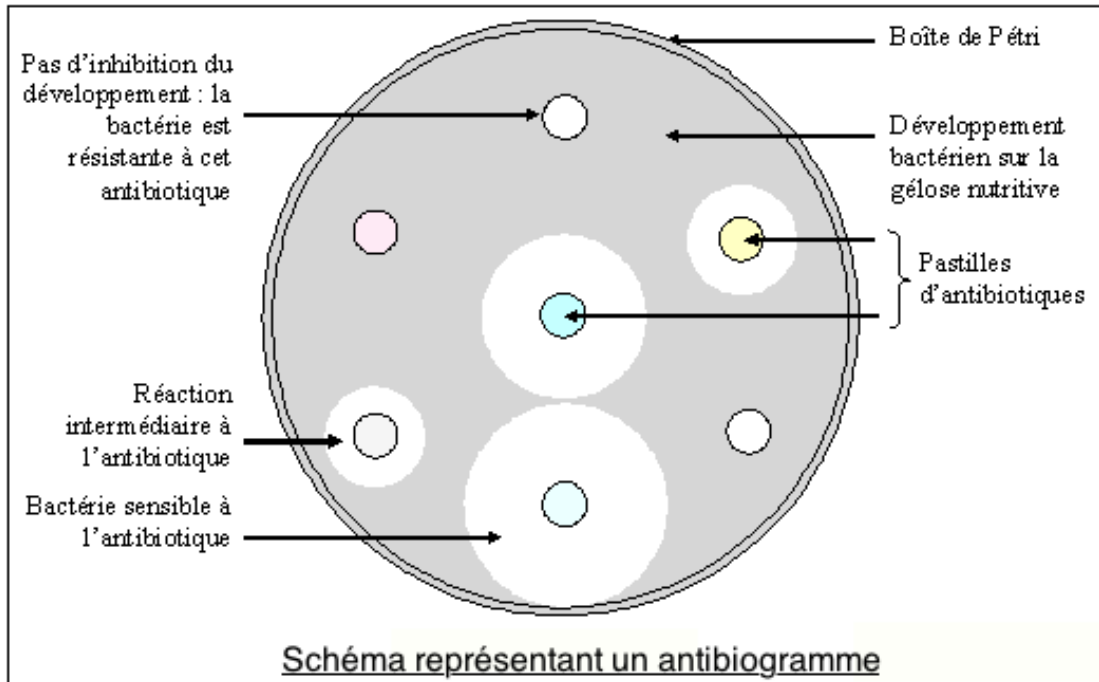
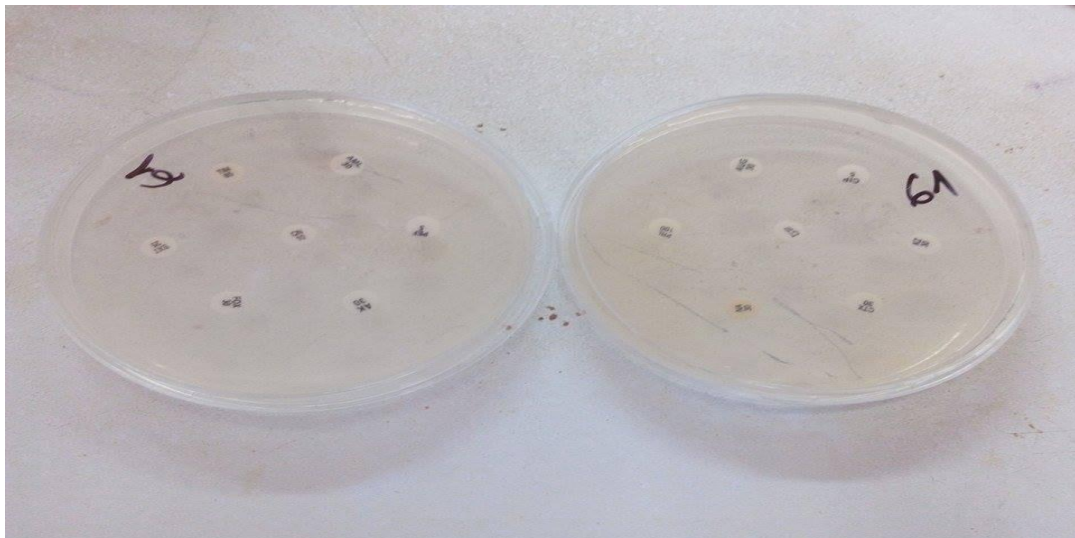


Figure 4: les principales cibles des antibiotiques [39].



**Figure 6:** l'antibiogramme [17].



**Figure 7 :** Disposition des disques d'antibiotiques sur Mueller Hinton



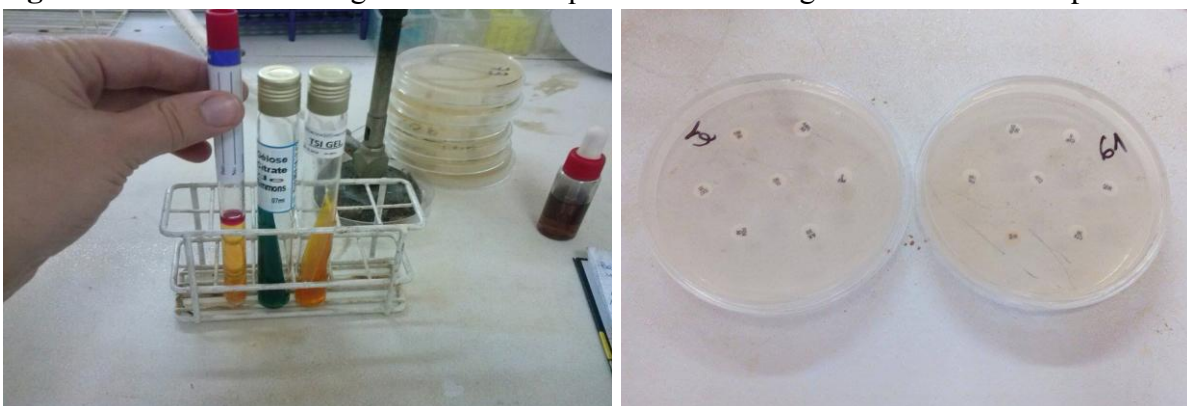
**Figure 8** : Résultats de la galerie biochimique et de l'antibiogramme d'*E. coli* du patient 1



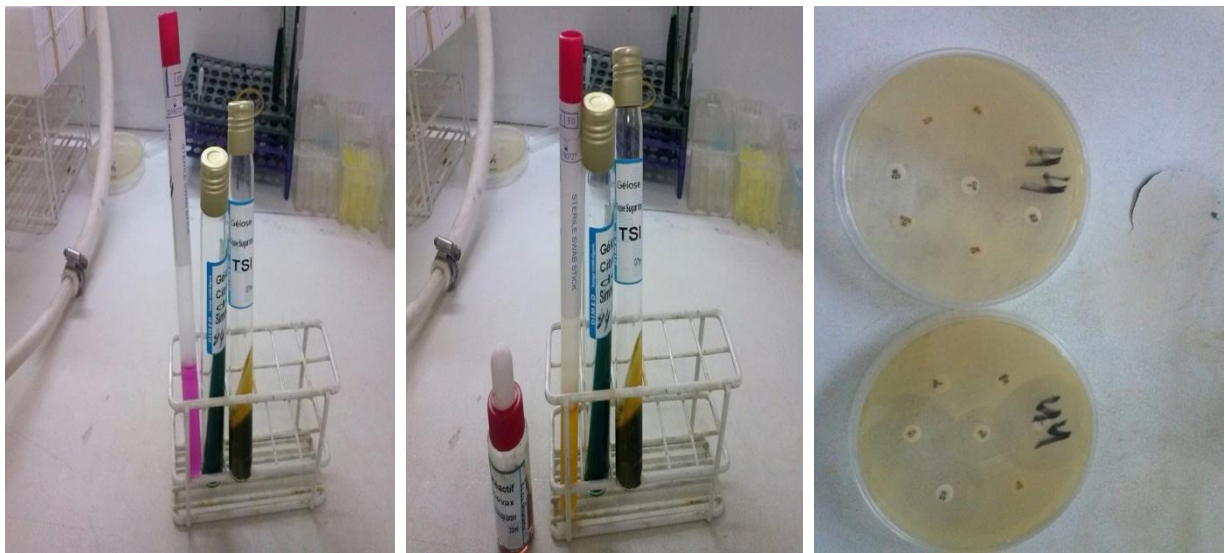
**Figure 9** : Résultats de la galerie biochimique et de l'antibiogramme d'*Enterobacter sp* du patient 2



**Figure 10**: Résultats de la galerie biochimique et de l'antibiogramme d'*E. coli* du patient 3



**Figure 11** : Résultats de la galerie biochimique et de l'antibiogramme d'*E. coli* du patient 4



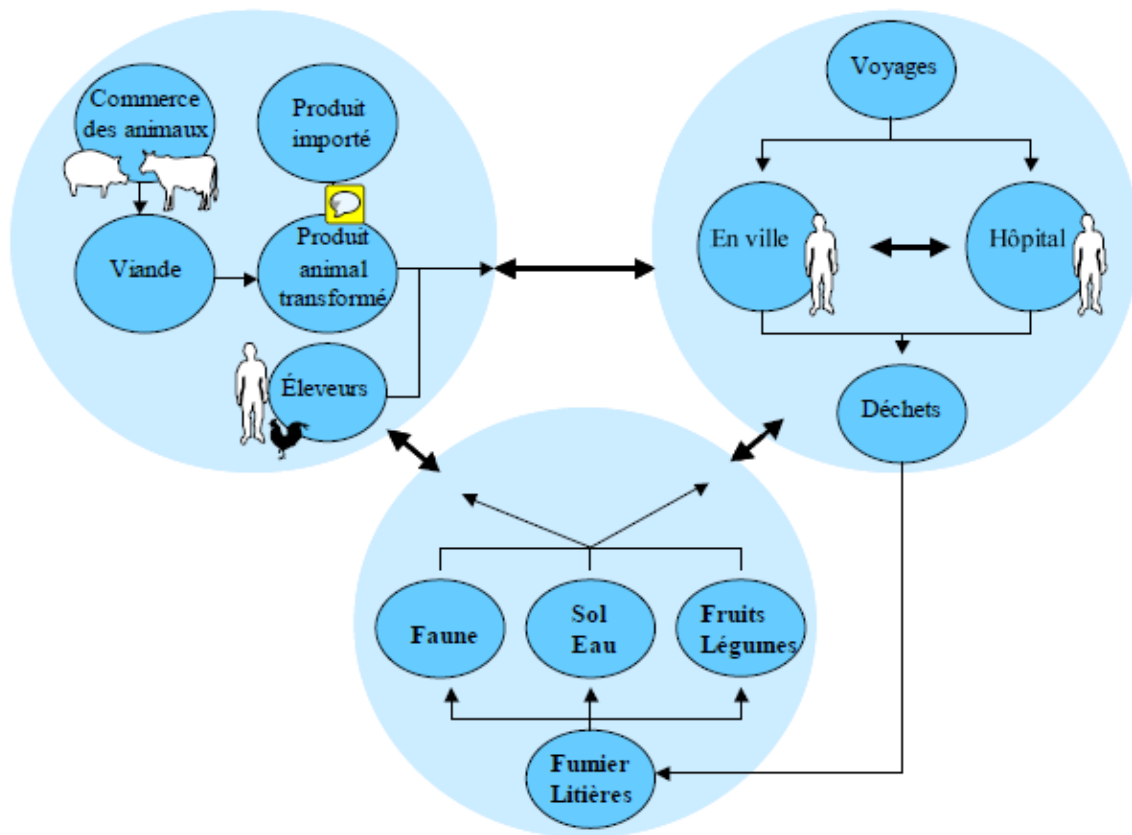
**Figure 12 :** Résultats de Galerie biochimique et antibiogramme de *Proteus sp* du patient 5



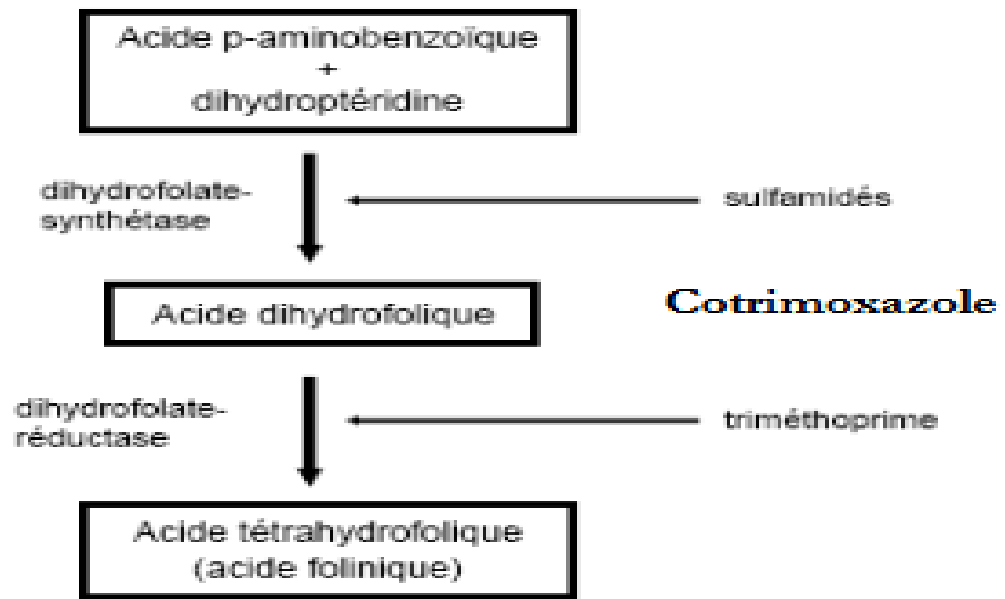
**Figure 13:** Résultats de Galerie biochimique et antibiogramme de *Klebsiella sp*



**Figure14 :** Résultats de Galerie biochimique et antibiogramme *Enterobacter sp*



**Figure 3.** Voies de disséminations potentielles des bactéries résistantes et des gènes de Résistance [11].



**Synthèse des Purines  
et de certains AA**

## Résumé

Notre travail porte sur l'identification et l'étude de la résistance aux antibiotiques de souches bactériennes, isolées du milieu hospitalier.

Cette étude qui a eu lieu au laboratoire Dr Bellil situées El'khroub-Constantine durant une période de 15 jours, nous a permis de collecter 50 échantillons provenant de patients hospitalisés dans l'hôpital d'El'khroub dont 05 positifs (présentent les signes d'une infection). Deux prélèvements effectués sur des surfaces (chariot de soins, passe) du service de médecine interne ont été également retenus.

Les souches identifiées par galerie classique appartiennent toutes à la famille des *Enterobacteriaceae* avec *E. coli* au premier rang, suivie d'*Enterobacter Spp.*, *Proteus spp* et *Klebsiella Spp.*

Les résultats du test de la sensibilité de ses souches à certains antibiotiques utilisés en thérapeutique, confirment l'importance croissante de la résistance et la multirésistance de ses souches aux antibiotiques et surtout aux bêta-lactamines d'où l'importance d'un suivi régulier de cette évolution.

**Mots-clés :** résistance bactérienne, multirésistance bactérienne, antibiotique, bactérie hospitalière, milieu hospitalier.

## **Abstract**

Our work focuses on the identification and study of antibiotic resistance of bacterial strains isolated from hospital.

This study took place in laboratory Dr Bellil in El'khroub Constantine during a period of 15 days, we were able to collect 50 samples from patients hospitalized in the hospital of El'Khroub with 05 positive (showing signs of infection). Two samples taken from surfaces (carriage care, passes) of the internal medicine department were also retained.

The strains identified by conventional gallery all belong to the family Enterobacteriaceae with *E. coli* at the forefront, followed by *Enterobacter spp*, *Proteus spp* and *Klebsiella spp*.

The test results of the sensitivity of these strains to some antibiotics used in therapy, confirming the growing importance of the resistance and the multiresistance of its strains to antibiotics and especially beta-lactam hence the importance of regular monitoring of these developments.

**Key-words:** bacterial resistance; bacterial multiresistance ; antibiotics ; hospital's bacteria



## الملخص

يركز عملنا على تحديد ودراسة مقاومة السلالات البكتيرية المعزولة من المستشفى للمضادات الحيوية. تمت هذه الدراسة في مختبر الدكتور بليل الكائن بالخراب قسنطينة خلال فترة 15 يوم كنا قادرين من خلالها على جمع 50 عينة من المرضى في مستشفى الخروب من بينها 05 حالات ايجابية والتي تظهر عليها أعراض الالتهاب. تم أيضا أخذ عينتين من أسطح عربة العلاج و مقبض الباب التابعة لقسم الطب الباطني.

السلالات المحددة بواسطة la galerie classique كلها تنتمي إلى عائلة السلالات المعوية مع E.coli في الطبيعة

تليها *Enterobacter Spp* و *Proteus spp* و *Klebsiella Spp*.

نتائج اختبار حساسية هذه السلالات لبعض المضادات الحيوية المستخدمة في العلاج تؤكد على الأهمية المتزايدة للمقاومة والمقاومة المتعددة لهذه السلالات للمضادات الحيوية وخصوصا للبيتا لكتامين ، ومن هنا تأتي أهمية الرصد المنتظم لهذه التطورات.

**الكلمات المفتاحية :** المقاومة البكتيرية، المقاومة البكتيرية المتعددة، المضادات الحيوية، بكتيريا المستشفيات

## Etude de la résistance et la multirésistance aux antibiotiques de souches isolées du milieu hospitalier

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes

### Résumé

Notre travail porte sur l'identification et l'étude de la résistance aux antibiotiques de souches bactériennes, isolées du milieu hospitalier.

Cette étude qui a eu lieu au laboratoire Dr Bellil sis El'khroub-Constantine durant une période de 15 jours, nous a permis de collecter 50 échantillons provenant de patients hospitalisées dans l'hôpital d'El'khroub dont 05 positifs (présentent les signes d'une infection). Deux prélèvements effectués sur des surfaces (chariot de soins, passe) du service de médecine interne ont été également retenus.

Les souches identifiées par galerie classique appartiennent toutes à la famille des *Enterobacteriaceae* avec *E. coli* au premier rang, suivie d'*Enterobacter Spp.*, *Proteus spp* et *Klebsiella Spp.*

Les résultats du test de la sensibilité de ses souches à certains antibiotiques utilisés en thérapeutique, confirment l'importance croissante de la résistance et de la multirésistance de ses souches aux antibiotiques et surtout aux bêta-lactamines d'où l'importance d'un suivi régulier de cette évolution.

**Mots clés :** résistance bactérienne, multirésistance bactérienne, antibiotiques, bactéries hospitalières, milieu hospitalier

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire d'analyse Dr : Bellil El'khroub Constantine

Jury d'évaluation :

**Président du jury** : AIT ABDELOUAHEB . N (Maitre assistante - UFM Constantine).  
**Rapporteur** : LEBAD BOULTIFAT . L (Maitre assistante - UFM Constantine).  
**Examineur** : MEZIANI . M (Maitre assistante - UFM Constantine).

**Date de soutenance :** 21/06/2016