



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département :** 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 :** Biologie moléculaire des micro-organismes

Intitulé :

---

La recherche et l'identification des bactéries pathogènes impliquées dans les infections respiratoires au niveau de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine.

---

**Présenté et soutenu par :** GHELLAM RACHA.

**Le :** 30/06/2019

GHELLAM RAYENE.

**Jury d'évaluation :**

**Présidente du jury :** Mme : SEKHRI.N (MCA - UFM Constantine).

**Rapporteur :** Mme : BOUZERAIB.L (MAA - UFM Constantine).

**Co-rapporteur :** Mr : MEZIANI.A (Médecin spécialiste MA en microbiologie médicale).

**Examinatrice :** Mme : MEZIANI.M (MAA- UFM Constantine).

**Année universitaire**  
**2018 - 2019**

## ***Remerciements :***

*Nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.*

*Nous remercions toutes les personnes qui nous ont aidées lors de la rédaction de ce mémoire.*

*Nous voudrions dans un premier temps remercier notre encadreur madame BOUZERAIB,L pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils tout au long de ce travail, nous espérons que ce travail est à la hauteur de ses espérances. Nous remercions également les membres de jury, madame SEKHRI, N, d'avoir accepté de nous faire l'honneur de présider notre jury, et madame MEZIANI, M d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous exprimons également nos sincères remerciements au docteur MEZIANI,A notre Co-encadreur pour son remarquable travail qu'il a accompli dans le cadre d'identification des bactéries impliquées dans les infections respiratoires et tout le personnels du laboratoire de bactériologie de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine pour leur précieuses aide et leurs disponibilités.*

*Par la même occasion, nous ne manquerons pas de remercier infiniment tous les enseignants qui ont contribué à notre formation pendant nos années d'étude.*

## *Dédicaces*

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,*

*A ma sœur RACHA pour ses encouragements permanents, et son soutien moral,*

*A mes chers frères Abdenour, Abderrahim, et mes amis, pour leur appui et leur encouragement,*

*A toute ma famille, mes grandes mères pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infallible,*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

*Ghellam Rayene*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*À mon père*

*Qui m'a permis de réaliser et de réussir mes études, merci pour vos conseils, et vos encouragements, je vous en serai pour toujours reconnaissante.*

*A ma mère*

*Source d'amour, de tendresse et de bien-être, à la lumière de mon existence.*

*A ma sœur et mon binôme Rayene : la personne la plus chère à mon cœur*

*A mes très chers frères*

*Abdenmour et Abderrahim*

*A mes proches, à mes grandes mères et mes cousines*

*Chaima, Lamis, Amira et ilhem*

*A tous mes proches amis*

*Dédicace spéciale à mon oncle Lazher*

*Ghellam Racha*

## Résumé:

Les infections des voies respiratoires sont les principaux types d'infections responsables de décès, environ 3,9 millions par an.

L'infection respiratoire est une affection qui touche l'une des structures composant le système respiratoire, à savoir le nez, les oreilles, la gorge, le larynx, la trachée, les bronches ou les poumons.

Dans notre mémoire nous avons réalisé une étude sur 51 patients hospitalisés et externes d'âge différent à l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine dans une période allant du mois de mars au mois mai 2019. L'examen bactériologique des différents prélèvements (23 crachats, 15 liquides pleuraux, 10 prélèvements distaux protégés, un prélèvement bronchique distal, un prélèvement nasal et un prélèvement de gorge) provenaient des différents services (pédiatrie, réanimation, pneumologie, néphrologie, ORL, médecine interne et chirurgie générale) a permis d'isoler et identifier les bactéries suivantes : *Pseudomonas aeruginosa* (40,625%) , *Staphylococcus aureus*(21,875%), *Acinetobacter sp*(6,25%), *Haemophilus sp* (6,25%), *Staphylococcus à coagulase négatif*(6,25%), *Streptococcus pyogenes du groupe A* (3,125%), *E.coli*(3,125%), *Klebsiella pneumoniae*(3,125%), *Streptococcus α-hémolytique* (3,125%), *Citrobacter freundii*(3,125%), et *Acinetobacter calcoaceticus*(3,125).

Quatre bactéries BLSE sont retrouvées incluant trois souches d'*Acinetobacter* résistantes au Céfotazidime , une souche d'*E.coli* résistante aux bêta-lactamines et sensible à l'Imipénème.

Les enfants sont les plus infectés par les pathogènes respiratoires (65,63%), la catégorie masculine prédomine la catégorie féminine avec un pourcentage de 59,37% contre 40,63%. Ces infections sont parmi les plus fréquentes des infections acquises à l'hôpital et peuvent être prévenues par la vaccination.

**Mots clés :** Infections respiratoires, bactéries pathogènes, pathogénicité, Identification.

## **Abstract:**

Respiratory tract infections are the main types of infections responsible for death, about 3.9 million /year.

A respiratory infection is a condition that affects one of the structures composing the respiratory system, namely the nose, ears, throat, larynx, trachea, bronchi or lungs.

In our thesis we did a study on 51 patients with different age at the Constantine Regional Military Hospital in a period from March to May 2019. The bacteriological examination of the various samples (23 expectoration, 15 pleural fluids, 10 protected distal samples, a distal bronchial sample, a nasal specimen and a throat specimen) came from different departments (pediatrics, resuscitation, pulmonology, nephrology, ENT, internal medicine and general surgery) to isolate and identify the following bacteria: *Pseudomonas aeruginosa* (40.625%), *Staphylococcus aureus* (21.875%), *Acinetobacter sp* (6.25%), *Haemophilus sp* (6.25%), *negative coagulase Staphylococcus* (6.25%), *Streptococcus pyogenes group A* (3.125%), *E. coli* (3.125%), *Klebsiella pneumoniae* (3.125%),  *$\alpha$ -hemolytic Streptococcus* (3.125%), *Citrobacter freundii* (3.125%) and *Acinetobacter calcoaceticus* (3.125%).

Four BLSE bacteria were found, including three strains of *Acinetobacter* resistant to Ceftazidime, one strain of *E.coli* resistant to  $\beta$ -lactams and sensitive to Imipenem.

Children are the most infected by respiratory pathogens (65.63%), the male category predominates the female category with a percentage of 59.37% against 40.63%. These infections are among the most common infections acquired in the hospital and can be prevented by vaccination.

**Keywords:** Respiratory infections, pathogenic bacteria, pathogenicity, identification.

## المخلص:

تعد التهابات الجهاز التنفسي من الأنواع الرئيسية للعدوى المسؤولة عن الوفاة، حوالي 3.9 مليون في السنة، العدوى التنفسية هي حالة تؤثر على احد الهياكل التي تشكل الجهاز التنفسي، وهي الانف و الاذنين ،الحلق،الحنجرة،القصبه الهوائية، الشعب الهوائية أو الرئتين.

في أطروحتنا أجرينا دراسة داخل مستشفى قسنطينة الإقليمي العسكري على 51 مريض مختلف في السن منهم المقيم في المستشفى و منهم الخارجي في فترة ممتدة من شهر مارس 2019 الى شهر ماي 2019، الفحص البكتريولوجي لعينات مختلفة ( 23 نخامة، 15 سائل جنبي، 10 عينات من المناطق المحمية ، وعينة الشعب الهوائية البعيدة، و عينة من الانف ، وعينة من الحلق) آتية من 15 قسم مختلف (قسم طب الأطفال، قسم الإنعاش، قسم أمراض الرئة، قسم أمراض الكلى، جراحة الأنف و الأذن و الحنجرة، قسم الطب الباطني و قسم الجراحة العامة ) سمح بعزل وتحديد البكتيريا التالية :

*Haemophilus sp* (6,25%) , *Staphylococcus à coagulase negatif* (6,25%) ,

*Streptococcus pyogenes groupe A* (3,125%) , *E.coli* (3,125%) , *klebsiella pneumoniae* (3,125%) ,

*Pseudomonas aeruginosa* (40,625%) , *Staphylococcus aureus* (21,875%) , *Acinetobacter sp* (6,25%) ,

*Streptococcus α-hemolytique* (3,125%) , *Citrobacter freundii* (3,125%) و *Acinetobacter calcoaceticus* (3,125%)

تم العثور على 4 أنواع من BLSE منها ثلاث اجناس من *Acinetobacter* مقاومة للCéftazidime و جنس من *E.coli* مقاومة لل  $\beta$ -lactamines و حساسة لل imipenème .

الأطفال هم الأكثر إصابة بمسببات الأمراض التنفسية (65.63%) ، فئة الذكور تسود على فئة الإناث بنسبة 59.37% مقابل 40.63%. هذه الإصابات هي من بين الإصابات الأكثر شيوعًا التي يتم الحصول عليها في المستشفى ويمكن الوقاية منها بالتطعيم

**الكلمات المفتاحية :** التهابات الجهاز التنفسية، البكتيريا المسببة للأمراض، المرضية وتحديد هوية البكتيريا.

## **Table des matières:**

Liste des abréviations .....	I
Liste des tableaux .....	III
Liste des figures .....	III
Liste des annexes .....	IV
Introduction générale .....	1

## **Partie bibliographique**

### Chapitre 1 : L'anatomie de l'appareil respiratoire.

1-L'anatomie de l'appareil respiratoire .....	2
2- Les voies respiratoires .....	3
2-1 Définition .....	3
2-2 L'anatomie des voies respiratoires supérieures .....	3
2-2-1 Le nez .....	3
2-2-2 le pharynx .....	3
2-2-3 le larynx .....	3
2-3 L'anatomie des voies respiratoires inférieures .....	4
2-3-1 Zone de conduction et transition .....	4
2-3-2 Zone respiratoire .....	5
3- Les poumons .....	5

### Chapitre 2 : Les infections respiratoires.

1-Généralité.....	7
2- Définition d'infection respiratoire .....	7
3- les types des infections respiratoires .....	7
3-1 Infection des voies respiratoires supérieures .....	7
3-1-1 La pharyngite .....	8
3-1-2 l'amygdalite .....	9
3-1-3 la laryngite .....	10
3-1-4 la sinusite .....	10
3-1-5 l'épiglottite .....	10

3-2 Infection des voies respiratoires inférieures.....	11
3-2-1 Les formes des infections respiratoires basses .....	11
a-La pneumonie .....	11
b-La bronchite .....	12

Chapitre 3 : les caractéristiques et les facteurs de virulence des bactéries impliquées.

1-Les bactéries responsables des IVR .....	14
1-1- les bactéries à Gram positif .....	14
1-1-1 <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	14
a- Les caractéristiques de <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	14
b-La résistance aux antibiotiques .....	15
c-Les facteurs de virulence de <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	15
1-1-2 <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	15
a- Les caractéristiques de <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	15
b-La résistance aux antibiotiques .....	15
c-Les facteurs de virulence de <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	16
1-1-3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
a- Les caractéristiques de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
b-La résistance aux antibiotiques .....	16
c-Les facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
I-2 les bactéries à Gram négatif .....	17
I-2-1 <i>Haemophilus influenzae</i> .....	17
a- Les caractéristiques de <i>Haemophilus influenzae</i> .....	17
b-La résistance aux antibiotiques .....	17
c-Les facteurs de virulence de <i>Haemophilus influenzae</i> .....	17
I-2-2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	18
a- Les caractéristiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	18
b-La résistance aux antibiotiques .....	18
c-Les facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	18

I-3 Autres bactéries .....	19
I-3-1 <i>Mycoplasma pneumoniae</i> .....	19
a- Les caractéristiques de <i>Mycoplasma pneumoniae</i> .....	19
b-La sensibilité aux antibiotiques .....	19
c-Les facteurs de virulence de <i>Mycoplasma pneumoniae</i> .....	20
2- Les bactéries productrices de $\beta$ -Lactamase à spectre élargie .....	20

## **Partie pratique**

### **Méthodologie**

1- Lieu et période d'étude .....	21
2- Services concernés .....	21
3- Critères d'inclusion .....	21
4- Nature du prélèvement .....	21
5- Les variables étudiés .....	21
6- Matériel et méthodes .....	22
6-1 Matériel .....	22
6-1-1 Instruments et appareillage .....	22
6-1-2 Milieu de culture, réactifs et produits .....	22
6-2 Protocole d'analyse de chaque prélèvement ..... ;:	22
6-2-1 Examen cytobactériologique des crachats .....	22
6-2-2 Examen cytobactériologique des prélèvements de gorge et des prélèvements nasaux.....	23
6-2-3 Examen cytobactériologique du PDP .....	23
6-2-4 Examen cytobactériologique de liquide pleural .....	23
6-2-5 Identification.....	24
6-2-6 Etude de la sensibilité des antibiotiques selon la technique de CLSI .....	24
6-2-7 Détection des BLSE .....	25

## **Résultats**

1-Répartition des patients atteints des infections respiratoires selon le sexe .....	26
2-Répartition des patients atteints des infections respiratoires selon l'âge.....	27
3-Répartition des patients atteints des infections respiratoires selon le service d'hospitalisation .....	28
4-Répartition des résultats positifs selon la nature de prélèvement .....	28
5- Répartition des résultats positifs selon les malades.....	29
6- les bactéries isolées des prélèvements analysés .....	30
7- Répartition des bactéries en fonction des prélèvements.....	31
8- Profil de sensibilité et de résistance des bactéries isolées.....	34
<b>Discussion des résultats</b> .....	36
<b>Conclusion</b> .....	39
<b>Annexes</b> .....	40
<b>Référence bibliographique</b> .....	47

## Liste des abréviations :

AK: Amikacine.  
AMC : Amoxicilline+ac. Clavulanique.  
AMX : Amoxicilline.  
APM : Ampicilline.  
ATM: Aztréoname.  
BLSE :  $\beta$ -lactamase à spectre élargie.  
BMR : Bactéries multi-résistantes.  
C : Chloramphénicol.  
C3G : Céphalosporines de troisième génération.  
CAZ: Ceftazidime.  
CIP : Ciprofloxacine.  
CN: Gentamicine.  
CRO : Ceftriaxone.  
CT : Colistine.  
CTX : Céfotaxime.  
Da : Clindamycine.  
DO : Doxycycline.  
E : Erythromycine.  
ECBC : Examen cytbactériologique des crachats.  
FD : Acide fusidique.  
FOS : Fosfomycine.  
FOX : céfoxitine.  
IMP : Imipénème.  
IVRI : infection des voies respiratoires inférieures.  
IVRS : Infection des voies respiratoires supérieures.  
KZ : Céfazoline.  
LEV : Lévofloxacine.  
NA : Acide nalidixique.  
NET: Nétilmicine.  
OFX : Ofloxacine.  
ORL : oto-rhino-laryngologie.  
OX : Oxacilline.  
P : pénicilline G.  
PBD : prélèvement bronchique distal  
PDP : prélèvement distal protégé.  
PRL: Pipéracilline.  
PT : Pristinamycine  
RD : Rifampicine.  
SARM : Staphylococcus aureus résistante à la Méricilline.  
SGA : Streptocoque groupe A.  
SP : Spiramycine.  
SXT : Triméthoprime-sulfaméthoxazole.  
TE : Tétracycline.  
TEC : Teicoplanine.

TIC: Ticarcilline.

TOB: Tobramycine.

TZP: Pipéracilline-ac. Clavulanique.

VA : Vancomycine.

VRI : Voies respiratoires inférieures.

VRS : Voies respiratoires supérieures.



### Liste des tableaux :

Tableau 01 : Flore bactérienne des voies respiratoires supérieures.

Tableau 02 : Bactéries responsables d'une sinusite aigue ou chronique.

Tableau 03 : les bactéries recherchées dans les pneumopathies nosocomiales et communautaires.

Tableau 04 : Répartition des patients atteints des infections respiratoires selon le service d'hospitalisation.

Tableau 05 : Nombre des bactéries isolées en pourcentage (n=32)

Tableau 06 : répartition des bactéries en fonction des prélèvements.

### Liste des figures :

Figure 01 : l'anatomie de l'appareil respiratoire.

Figure 02 : l'anatomie du pharynx.

Figure 03 : l'anatomie du larynx.

Figure 04 : l'anatomie des VRI.

Figure 05 : l'anatomie des poumons.

Figure 06 : Pourcentage des cas présentant une otite moyenne provoquée par différentes bactéries.

Figure 07 : Répartition des malades atteints des infections respiratoires selon le sexe.

Figure 08 : Répartition des patients atteints des infections respiratoires selon l'âge.

Figure 09 : Répartition des résultats positifs selon la nature de prélèvement.

Figure 10 : Répartition des résultats positifs selon les malades.

Figure 11 : Les différentes bactéries isolées.

Figure 12 : Aspect macroscopique de certaines espèces identifiées.

Figure 13 : test de coagulase de *Staphylococcus aureus*.

Figure 14 : Galerie RapID ONE de *Citrobacter freundii*.

Figure 15 : Antibiogramme d'*E.coli* montrant la synergie entre l'AMC et CRO.

Figure 16 : Résultat positif de test de double disque d'*E.coli* (BLSE).

## **Liste des annexes :**

- Annexe 01 : Procédure de la galerie RapID ONE.
- Annexe 02 : Principes et composants du système RapID ONE.
- Annexe 03 : Le guide de coloration RapID ONE.
- Annexe 04 : Formulaire de rapport de RapID ONE.
- Annexe 05 : Caractéristique d'identification des bactéries isolées.
- Annexe 06 : Principe du test d'agglutination des Streptocoques.
- Annexe 07 : Test de coagulase.
- Annexe 08 : Test de catalase.
- Annexe 09 : Test oxydase.
- Annexe 10 : coloration de Gram.
- Annexe 11 : Composition des milieux de culture.

## Introduction générale :

Avec une mortalité de près de 15 millions chaque année, les maladies infectieuses et parasitaires sont responsables de 26,3% de décès causé par l'ensemble des maladies survenant sur la planète.

Les principaux types d'infections responsables de décès sont les infections respiratoires aiguës, environ 3,9 millions par an [1].

La cause la plus fréquente des infections respiratoires est l'infection virale, L'infection bactérienne peut être ensuite causée par des bactéries favorisées par le déficit immunitaire local créé par les virus. L'être humain étant l'unique réservoir de ces bactéries, leur survie, en tant que pathogènes, dépend de leur diffusion, par voie aérienne, de personne à personne. La bactérie la plus fréquemment retrouvée lors de ces surinfections est *Streptococcus pneumoniae* (Pneumocoque) [2].

Dans cette étude nous nous intéresserons plus particulièrement aux bactéries responsables des infections respiratoires basses et hautes chez des personnes d'âge différent. Ces bactéries colonisent l'arbre respiratoire au niveau qui leur est le plus favorable ; c'est-à-dire correspondant à leurs exigences métaboliques et aux facteurs de virulence sécrétés [2].

Notre étude a pour but :

- D'étudier la prévalence des bactéries impliquées dans les infections respiratoires.
- D'isoler et identifier ces bactéries à l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine.
- Etudier leur sensibilité aux antibiotiques.
- Rechercher les  $\beta$ -lactamases à spectre élargie.

Notre mémoire est divisé en deux parties, la première partie est l'étude bibliographique qui comprend trois chapitres :

- l'anatomie de l'appareil respiratoire.
- les infections respiratoires.
- les caractéristiques et les facteurs de virulence des bactéries impliquées.

La deuxième partie est la partie pratique qui comprend :

- La méthodologie.
- les résultats et discussion.

# Partie bibliographique

# Chapitre 01: l'anatomie de l'appareil respiratoire

## 1-L'anatomie de l'appareil respiratoire :

L'appareil respiratoire humain est composé d'un ensemble de structures permettant la ventilation pulmonaire qui est un processus d'entrée et de sortie de l'air dans les voies respiratoires ceci permet de fournir l'oxygène aux cellules du corps tout en éliminant le dioxyde de carbone.

Le système respiratoire comprend deux parties principales: les voies respiratoires et les poumons. - Figure 1-

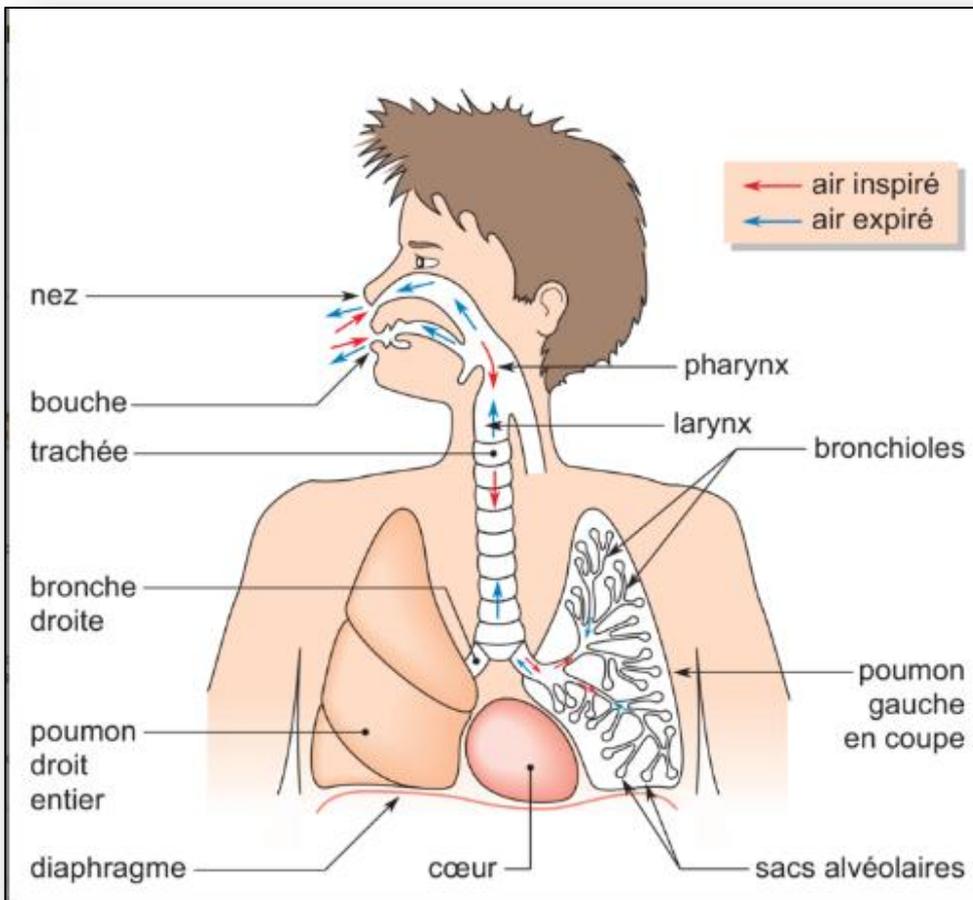


Figure 1 : l'anatomie de l'appareil respiratoire [62]

## **2-Les voies respiratoires :**

### **2-1 Définition :**

Les voies respiratoires ou voies aériennes sont des canalisations permettent le passage de l'air depuis le nez et la bouche vers les poumons et les alvéoles pulmonaires au cours de la ventilation, On distingue les voies respiratoires supérieures (extra thoraciques) et les voies respiratoires inférieures (intra thoraciques) [3].

### **2-2 L'anatomie des voies respiratoires supérieures (VRS) :**

Les VRS comprennent :

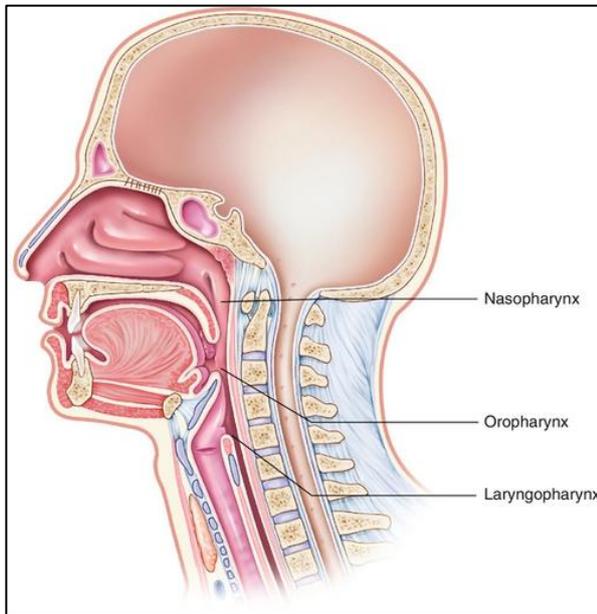
**2-2-1 / le nez :** l'intérieur du nez abrite les cavités nasales, séparées entre elles par le septum nasal et de la cavité orale par le palais. Chaque cavité nasale est tapissée d'une muqueuse qui consiste à réchauffer l'air entrant à la température du corps, à l'humidifier et à filtrer les macroparticules au moyen de poils nasaux et de microparticules au moyen de cils [4, 5].

**2-2-2/ le pharynx :** est un tube musculaire cylindrique d'environ 12 à 14 cm de long, Il est divisé en trois parties : le nasopharynx, l'oropharynx et le laryngopharynx. Le pharynx contient les amygdales qui sont formées de tissu lymphoïde et participent à la lutte contre certaines infections [5, 6]. -figure 2-

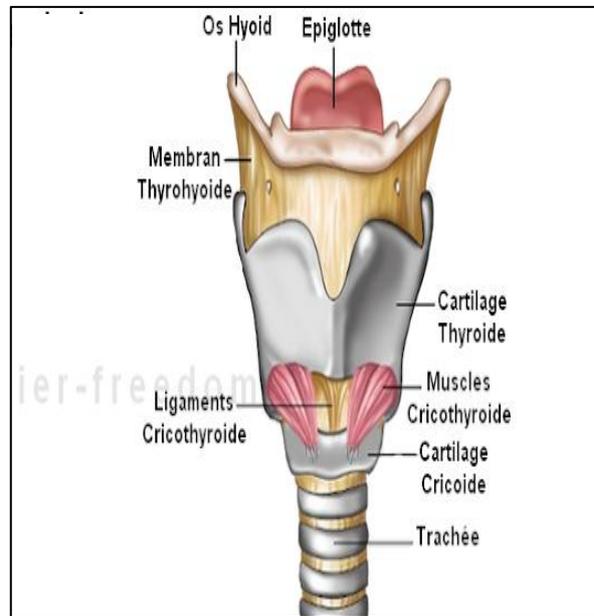
- Le nasopharynx : est la partie supérieure du pharynx, ne sert qu'à la respiration.
- L'oropharynx: il est plus proche de la cavité buccale et laisse passer aussi bien l'air que les liquides. C'est dans l'oropharynx que sont suspendues la luvette et les amygdales.
- Le laryngopharynx : qui constitue la partie caudale du pharynx, est une continuité de l'oropharynx et se prolonge par l'œsophage. Le laryngopharynx est l'endroit où les voies digestives et respiratoires se séparent [7, 4].

**2-2-3/ le larynx:** Intermédiaire entre le pharynx et la trachée. Le larynx se situe après le pharynx, au niveau de la séparation entre les voies aériennes (vers la trachée) et les voies digestives (vers l'œsophage). Il est composé de cartilages dont le plus proéminent est le cartilage thyroïde (pomme d'Adam). L'ouverture de larynx (glotte) est recouverte par

l'épiglotte, qui empêche la nourriture ou les liquides de pénétrer dans les voies respiratoires pendant la déglutition [8,4]. -figure 3-



**Figure 2 :** l'anatomie du pharynx [63].



**Figure 3 :** l'anatomie du larynx [64].

### 2-3 L'anatomie des voies respiratoires inférieures (VRI) :

les VRI comprennent : -figure 4-

#### 2-3-1/ Zone de conduction et transition :

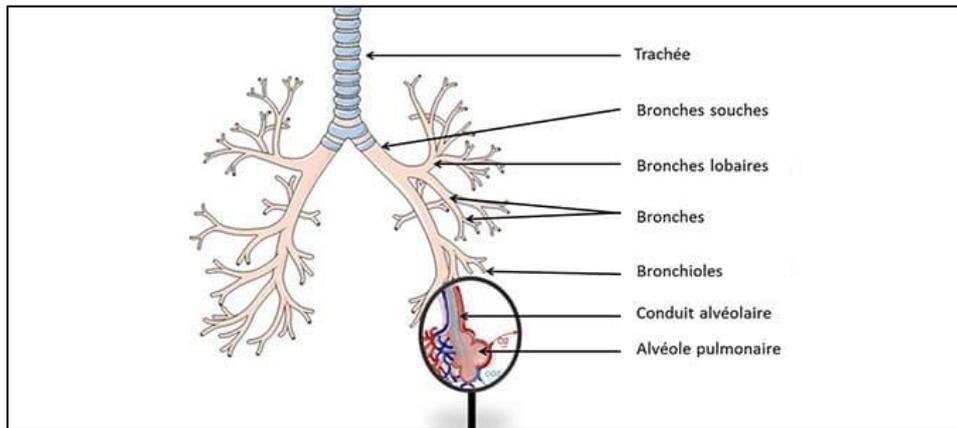
-voies extra pulmonaires (trachée) : c'est un tube musculaire contigu au larynx, débute à la sixième vertèbre cervicale et est entourée d'anneaux cartilagineux en forme de fer à cheval. Elle assure le passage de l'air durant tout le cycle respiratoire, permettant ainsi l'hématose et la phonation : c'est la fonction aérienne de la trachée, La trachée présente aussi une fonction de drainage liée à son appareil mucociliaire autorisant l'élimination des particules inhalées vers le pharynx [5, 9].

-voies intra pulmonaires (bronches) [10] :

- bronches souches : pénètrent dans les poumons et chaque branche souche se divise en bronches de plus en plus petites.
- bronches lobaires et bronchioles assurent le relais au sein des poumons.

**2-3-2/ zone respiratoire [5,10] :**

- Les canaux alvéolaires marquent la transition entre bronchioles, sacs alvéolaires et alvéoles.
- Sacs «alvéolaires» pour former les alvéoles à paroi mince.
- Les alvéoles, une série de sacs interconnectés qui, collectivement, forment la surface d'échange au niveau de laquelle l'oxygène passe de l'air inhalé au sang et le gaz carbonique passe du sang à l'air qui va être expiré.



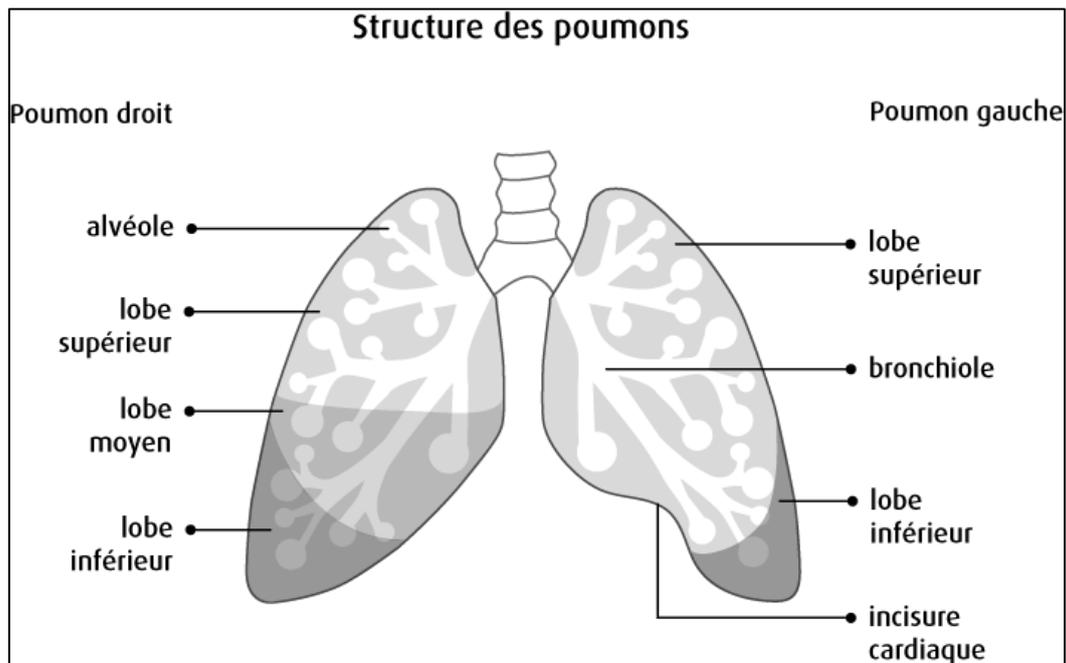
**Figure 4** : l'anatomie des VRI [65]

**3- les poumons :**

Les poumons sont les principaux organes de la respiration. Ils remplissent presque totalement la cage thoracique, la base reposant sur les coupes diaphragmatiques. Ils sont recouverts par la plèvre qui contient une petite quantité de liquide pleural. Cette membrane peut être victime de deux types d'affections : la pleurésie (est une complication fréquente de diverses pneumonie ; elle est caractérisée par une inflammation douloureuse des membranes pleurales.) et le pneumothorax. Les sécrétions pleurales réduisent la friction des poumons pendant la respiration [6, 10, 4].

Les poumons sont divisés en lobes [11] :

- Le poumon gauche : possède une concavité, l'incisure cardiaque, dans laquelle se trouve le cœur, il comprend que deux lobes.
- Le poumon droit : est plus épais et plus large que le poumon gauche. Il est également un peu plus court, le diaphragme étant plus élevé du côté droit afin de laisser place au foie qui se trouve en-dessous, il possède trois lobes : les lobes supérieur, moyen et inférieur. -figure 5-



**Figure 5** : l'anatomie des poumons [66]

# Chapitre 02: les infections respiratoires

## **1-Généralités :**

Le terme infection désigne l'invasion ou la colonisation du corps par des microorganismes pathogènes qui peuvent être des virus ou des bactéries... ; la maladie survient lorsqu'une infection entraîne une modification de l'état de santé [12].

Les maladies infectieuses sont classées selon deux types : infection communautaire qui correspond à un type d'infection qui se propage au sein d'une population regroupée dans un espace relativement restreint et confiné, et infection nosocomiale qui est une infection acquise dans un établissement de soins et n'est ni en incubation ni présente à l'admission du malade. Le délai entre l'admission et le début de l'infection doit être de 48–72 heures pour les infections bactériennes et selon la période d'incubation il peut être plus long dans les infections virales [13, 14].

## **2-Définition d'infection respiratoire :**

Une infection est dite « respiratoire » lorsqu'elle atteint l'une des structures composant le système respiratoire, à savoir le nez, les oreilles, la gorge, le larynx, la trachée, les bronches ou les poumons. Elles sont transmises par contact direct avec les sécrétions respiratoires d'un individu contaminé via des gouttelettes ou aérosols émises lors d'une toux ou d'un éternuement [15].

Les infections des voies respiratoires touchent toutes les tranches d'âge et représentent une cause considérable de mortalité, en particulier chez les patients immunodéprimés. On distingue deux types de ces infections : celles des voies respiratoires supérieures et celles des voies respiratoires inférieures, bien que cette dernière zone soit plus rarement affectée mais généralement de façon plus sévère.

## **3-Les types des infections respiratoires :**

### **3-1 Infection des voies respiratoires supérieures (IVRS) :**

Les IVRS sont des affections aiguës dues à une infection virale ou bactérienne touchant les voies respiratoires supérieures, soit le nez, les sinus para-nasaux, le pharynx, le larynx et l'oreille moyenne.

La cause la plus fréquente des infections respiratoires est l'infection virale dont plus de 200 virus différents sont impliqués, alors que moins de 10% de ces infections sont d'origine bactérienne [16].

Les espèces bactériennes qui colonisent les VRS peuvent devenir pathogènes et elles sont classées comme suit :

-**Tableau 01** : flore bactérienne des voies respiratoires supérieures [58].

Espèces commensales	Espèces potentiellement pathogènes présentes dans la flore commensale
<ul style="list-style-type: none"> <li>-<i>Streptococcus alpha hémolytiques.</i></li> <li>-<i>Streptococcus non hémolytiques.</i></li> <li>-<i>Corynébacteries commensales.</i></li> <li>-<i>Neisseria commensales.</i></li> <li>-<i>Bactéries anaérobies strictes.</i></li> <li>-<i>Staphylococcus coagulase négative</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-<i>Haemophilus influenzae.</i></li> <li>-<i>Streptococcus pneumoniae.</i></li> <li>-<i>Staphylococcus aureus.</i></li> <li>-<i>Streptococcus pyogenes.</i></li> </ul>
Espèces en transit	
<ul style="list-style-type: none"> <li>-Entérobactéries.</li> <li>-<i>Pseudomonas spp.</i></li> </ul>	

Les IVRS prennent généralement la forme d'un rhume ou d'une grippe. Elles sont souvent associées à d'autres affections, telles que la pharyngite, la laryngite, l'amygdalite, sinusite et l'épiglottite.

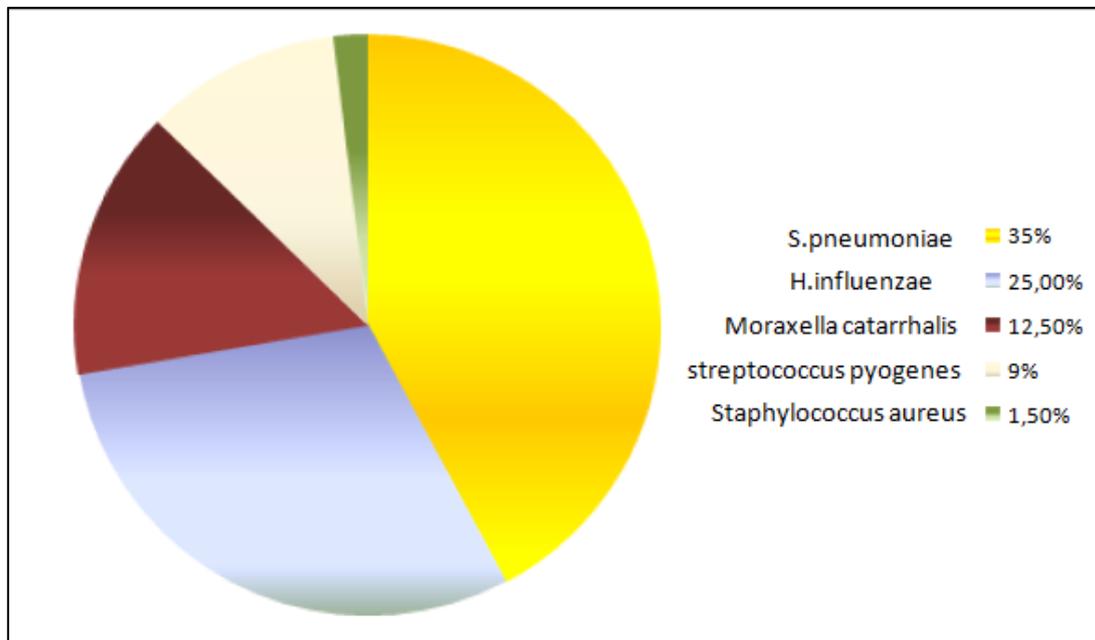
### 3-1-1 la pharyngite :

C'est une inflammation des muqueuses de la gorge aussi appelée angine, dans la plupart des cas, elle est causée par un virus (adénovirus, virus syncytial respiratoire (VRS), para-influenza, influenza), mais elle peut également causée par des bactéries telle que la pharyngite streptococcique qui due à des streptocoques  $\beta$ -hémolytiques du groupe A (SGA), ces bactéries à Gram positif appartiennent toutes à l'espèce *Streptococcus pyogenes*.

Les SGA représente 30-40 % des cas de pharyngite aiguë chez l'enfant. Cette infection touche principalement les enfants entre 3 et 15 ans durant l'hiver et le début du printemps [6, 17].

### 3-1-2 l'amygdalite :

C'est une inflammation des amygdales qui accompagne souvent la pharyngite elle est provoquée par les mêmes micro-organismes responsables de la pharyngite (SGA), les virus représentent en fréquence les premiers agents étiologiques et le streptocoque du groupe A est la première bactérie trouvée. Elle se complique fréquemment d'une infection de l'oreille moyenne, appelée otite moyenne, cette affection est particulièrement fréquente chez les jeunes enfants, elle touche 85% des enfants de moins de 3 ans [12, 18]. Diverses bactéries sont susceptibles d'occasionner une otite moyenne. L'agent pathogène le plus souvent isolé est *Streptococcus pneumoniae* (environ 35% des cas), parmi les autres bactéries souvent responsables, on note les souches non encapsulées d' *Haemophilus influenzae* (20 à 30%), *Moraxella catarrhalis* (10 à 15%), *Streptococcus pyogenes* (8 à 10%) et *Staphylococcus aureus* (1 à 2%) [6]. - figure 6-



**Figure 6** : Pourcentage des cas présentant une otite moyenne provoquée par différentes bactéries

**3-1-3 la laryngite :**

si l'infection touche le larynx, le sujet souffre d'une laryngite, qui réduit sa capacité de parler. Cette dernière affection est causée par une bactérie, telle que *Streptococcus pneumoniae* ou *S. pyogenes*, ou par un virus, et souvent par des micro-organismes des deux types [6].

**3-1-4 la sinusite :**

La sinusite est une complication bactérienne courante des IVRS virales, c'est l'infection d'un sinus par un micro-organisme tel que *Streptococcus pneumoniae* ou *Haemophilus influenzae* se traduit par une inflammation du muqueuse, d'où un abondant écoulement nasale de liquide muqueux [19, 12].

Il existe d'autres espèces bactériennes responsables d'une sinusite aigue ou chronique qui sont mentionnées dans le tableau suivant :

**-Tableau 02 :** Bactéries responsables d'une sinusite aigue ou chronique. [58]

Les bactéries responsables de la sinusite		
	Chez l'enfant	Chez l'adulte
Sinusite aigue	<ul style="list-style-type: none"> <li>-<i>Haemophilus influenzae</i>.</li> <li>- <i>Streptococcus pneumoniae</i>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-idem chez l'enfant plus :</li> <li>-<i>Branhamella catarrhalis</i>.</li> <li>-<i>Staphylococcus aureus</i>.</li> <li>-<i>Streptococcus pyogenes</i>.</li> <li>- les bactéries anaérobies.</li> </ul>
Sinusite chronique	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Autres bacilles à Gram négatif</li> <li>- <i>Prevotella spp.</i></li> <li>- <i>Fusobacterium spp.</i></li> </ul>	

**3-1-5 l'épiglottite :**

C'est la maladie infectieuse des VRS la plus dangereuse (la forme grave de laryngite), soit l'inflammation de l'épiglotte. C'est une maladie à évolution rapide susceptible d'entraîner la mort en quelques heures [12].

L'épiglottite touchait auparavant principalement les enfants et était généralement due à *Haemophilus influenzae* de type B. À présent, en raison de la vaccination à grande échelle,

elle est presque éradiquée chez l'enfant et devient plus fréquente chez l'adulte, la bactérie en cause est *Streptococcus pneumoniae* [20].

### **3-2 Infection des voies respiratoires inférieures (IVRI) :**

Les infections des VRI sont dues à une atteinte par un virus ou une bactérie du parenchyme pulmonaire (pneumonie), des voies aériennes (bronchite) ou d'une combinaison des deux (bronchopneumonie). La plupart des infections respiratoires basses sont des bronchites aiguës (72 %) ; les pneumonies et exacerbations de bronchite chronique représentent respectivement 11 % des malades recrutés. Les infections répétées des VRI sont plus rares, mais représentent un impact de santé publique important. Dans les pays en voie de développement, elles sont la principale cause de mortalité chez les enfants, et sont plus fréquentes chez les personnes âgées et sont à l'origine d'un nombre plus important d'hospitalisations et de décès. [20, 21, 22]

Les IVRI bactériennes sont soit d'origine communautaire qui sont causées par différentes espèces bactériennes telles que : *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila* et *Chlamydia pneumoniae* ; soit d'origine nosocomiale dont 60% des cas sont dues aux bactéries à Gram négatif et dans 40% des cas elles sont dues aux staphylocoques. [23]

#### **3-2-1 Les formes des infections respiratoire basses :**

##### **a/ la pneumonie :**

Le terme pneumonie désigne de nombreuses infections pulmonaires, c'est une inflammation aiguë du parenchyme des VRI causée par un pathogène microbien dont la majorité de ces infections sont d'origine bactérienne ; la pneumonie provoquée par *Streptococcus pneumoniae* est la plus fréquente (environ 60 à 80%). Cependant, la maladie n'apparaît habituellement que chez des individus ayant des facteurs prédisposant comme des infections virales du système respiratoire, une blessure de VRS, l'alcoolisme ou le diabète [24, 6, 25].

La pneumonie provoquée par *Streptococcus pneumoniae* est une pneumonie typique et celle causée par d'autres bactéries comme *Mycoplasma pneumoniae* qui est fréquente chez les jeunes adultes et les enfants (elle constitue environ 20% de tous les pneumonies) ou par des mycètes, des protozoaires ou des virus est appelée pneumonie atypique. Cependant, cette

distinction est de moins en moins nette en pratique [6].

Les pneumopathies nosocomiales en particulier celles acquises sous ventilation mécanique sont les plus fréquentes, avec une incidence variant de 10 à 70 % pour des durées de ventilation dépassant 24 heures. [23]

Les bactéries recherchées dans la pneumopathie communautaire et nosocomiale sont classées dans le tableau suivant :

**-Tableau 03** : les bactéries recherchées dans les pneumopathies nosocomiales et communautaires. [58]

	Les bactéries trouvées
Pneumopathie communautaire	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Streptococcus pneumoniae.</i></li> <li>- <i>Haemophilus influenzae.</i></li> <li>- <i>Branhamella catarrhalis.</i></li> </ul>
Pneumopathie nosocomiale	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Staphylococcus aureus.</i></li> <li>- <i>Pseudomonas aeruginosa.</i></li> <li>- <i>Enterobactéries</i></li> <li>- <i>Acinetobacter baumannii.</i></li> </ul>

La broncho-pneumonie indique que les alvéoles pulmonaires adjacentes aux bronches sont infectées, c'est une espèce de pneumonie qui touche plus les enfants et les personnes âgées [6, 26].

➤ **La tuberculose :**

La tuberculose est une maladie infectieuse causée par *Mycobacterium tuberculosis* aussi appelé bacille de kokh, du nom du médecin qui l'a découverte il ya plus d'un siècle, cette maladie reste un problème de santé mondial énorme [12, 25].

**b/la bronchite :**

Est une infection des bronches, elle est due dans plus de 90% des cas à une infection virale. De nombreux virus peuvent être à l'origine de la bronchite, notamment le rhinovirus ; les bactéries sont rarement impliquées d'emblée dans une bronchite aiguë, seuls

*Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydia pneumoniae* sont impliqués avec certitude dans cette pathologie [27, 28].

Les bactéries surinfectent une bronchite virale. Ces surinfections sont rares chez les personnes en bonne santé, mais elles sont assez fréquentes chez les patients atteints de pathologies respiratoires. Les bactéries généralement impliquées dans ces surinfections sont : *Streptococcus pneumoniae* (pneumocoque), *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa* et moins fréquemment *Staphylococcus aureus* et des entérobactéries [29].

➤ Une forme particulière des bronchites bactérienne (la coqueluche) :

La coqueluche est une forme de bronchite spécifique et hautement infectieuse due à *Bordetella pertussis*, endémique, avec des poussées épidémiques. La coqueluche peut toucher les enfants comme les adultes. Cette maladie est potentiellement grave chez certaines catégories de personnes (nourrissons, femmes enceintes, personnes âgées), voire mortelle chez les nourrissons de moins de 6 mois [30, 29].

## Chapitre 03: les caractéristiques et les facteurs de virulence des bactéries impliquées

Les infections respiratoires bactériennes peuvent être graves et entraîner des complications engageant le pronostic vital. Un diagnostic rapide et précis ainsi qu'un traitement précoce doivent être institués, l'étude de la fréquence des agents susceptibles de causer ce type d'infection et l'examen de leurs sensibilités aux antibiotiques est également importante [2, 31].

De nombreux pathogènes respiratoires sont des bactéries à Gram positif. La plus part des pathogènes respiratoires sont à transmission interhumaine, transportés par les aérosols respiratoires, disséminés par la toux, l'éternuement, la parole ou la respiration [2].

## **1- les bactéries responsables des IVR :**

### **1-1- les bactéries à Gram positif :**

#### **1-1-1 *Streptococcus pneumoniae* :**

##### **a- Les caractéristiques de *Streptococcus pneumoniae* :**

*Streptococcus pneumoniae* est un agent pathogène majeur chez l'homme, provoquant des maladies telles que la pneumonie et la méningite, elle se retrouve dans la flore respiratoire de plus de 40% des individus sains, c'est un micro-organisme à Gram positif se présente sous la forme de cocci agencés par paires ou en courtes chaînettes [32, 2].

Les paires de bactéries sont entourées d'une capsule dense qui les rend résistantes à la phagocytose et qui est la base à la différenciation sérologique des pneumocoques en quelque 83 sérotypes [6].

*Streptococcus pneumoniae* est aéro-anaérobie et sa culture est difficile car c'est un germe fragile, sensible aux variations de pH et de température, il exige des milieux nutritifs enrichis de sang ou de sérum et se présente sous forme de petites colonies transparentes, rondes. Il développe une hémolyse de type alpha avec un verdissement du milieu [11, 33].

Le pneumocoque est une bactérie homofermentaire, catalase et oxydase négative, ses conditions optimales de croissance sont une température de 37°C et une atmosphère enrichie de 5 à 10% de CO<sub>2</sub> [34].

**b- La résistance aux antibiotiques :**

*Streptococcus pneumoniae* est naturellement résistante au mécillinam, l'aztréonam, céftazidime, l'acide nalidixique, la colistine, l'acide fusidique, la pefloxacin et au bas niveau aux aminosides [34].

*Streptococcus pneumoniae* a développé un mécanisme de résistance contre les bêta lactamines, les macrolides, tétracyclines, aminosides, cotrimaxazole, le chloramphénicol et les quinolones [34].

**c- Les facteurs de virulence de *Streptococcus pneumoniae* :**

De nombreux facteurs de virulence sont impliqués dans la pathogénèse. D'une part, la capsule, les protéines de surface (la PspA et la PspC) permettent aux pneumocoques d'échapper au système immunitaire de l'hôte. D'autre part, après la lyse des bactéries par LytA, la pneumolysine, les acides téichoïques, lipotéichoïques et la phosphorylcholine entraînent des réactions inflammatoires souvent délétères pour l'hôte; et grâce à la combinaison d'une activité de facteur de virulence et d'une capacité à échapper aux composants précoces de la réponse immunitaire de l'hôte, cet organisme peut se propager des voies respiratoires supérieures aux régions stériles des voies respiratoires inférieures, ce qui conduit à une pneumonie [35, 36].

**1-1-2 *Streptococcus pyogenes*:**

**a- Les caractéristiques de *Streptococcus pyogenes* :**

*Streptococcus pyogenes*, ou streptocoque du groupe A, est fréquemment isolé du tractus respiratoire supérieur des adultes sains. C'est un cocci à Gram positif, associé en paire et/ou en chaînette, immobile, catalase négative, anaérobie préférentiel aérotolérant, la mise en culture de cette bactérie nécessite un milieu au sang frais et une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>. Après 24h à 48h d'incubation les colonies apparaissent entourées d'un halo clair qui correspond à une hémolyse complète appelée hémolyse β [2, 37, 38].

**b- La résistance aux antibiotiques :**

Les streptocoques sont naturellement résistants à de basses concentrations d'aminosides, les Streptocoques β-hémolytiques sont habituellement sensibles aux Pénicillines [38].

**c- Les facteurs de virulence de *Streptococcus pyogenes* :**

Les différents sérotypes des SGA produisent des enzymes extracellulaires qui dégradent des molécules de l'hôte ; des streptokinases, enzymes activant un facteur sanguin de l'hôte, qui dissout les caillots sanguins ; protéine T permet la fixation de la bactérie aux cellules épithéliales de l'oropharynx ; la capsule et la protéine M permet à la bactérie d'échapper à la phagocytose (la protéine T et M sont des antigènes de structure) ; les toxines ( Erythrogènes A, B et C responsables de l'éruption de la scarlatine, la Streptolysine O et Streptolysine S tuent les leucocytes de l'hôte [25, 37, 38].

**1-1-3 *Staphylococcus aureus* :**

**a- Les caractéristiques de *Staphylococcus aureus* :**

Chez l'homme, *Staphylococcus aureus* est retrouvé à l'état de portage permanent ou intermittent principalement au niveau nasal, c'est un coque à Gram positif non sporulent. Les Staphylocoques produisent tous l'enzyme catalase, mais *S. aureus* est l'un de rares à produire une coagulase, ils sont immobiles, ne possèdent pas de capsule visible au microscope optique sauf pour de très rares souches.

Sur les cultures en milieu solide ils se disposent en amas irréguliers polyédriques alors qu'en milieu liquide ils sont souvent isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courte chaînette [39, 40, 41].

*S.aureus* est un germe aérobie-anaérobie facultatif, halophile qui pousse en présence de forte concentration saline (milieu sélectif de Chapman à 75% de NaCl) [42].

**b- la résistance aux antibiotiques :**

La pénicilline G ne fait actuellement plus partie de l'arsenal thérapeutique contre *S. aureus*, plus de 90 % des souches étant porteuses d'une pénicillinase [39].

L'oxacilline reste active contre ces souches, mais des staphylocoques hospitaliers, et plus récemment communautaires (présents hors de l'hôpital), ont développé une résistance croisée entre les pénicillines M (mécicilline, oxacilline) et les autres  $\beta$ -lactamines par la production d'une protéine [43].

**c- les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* :**

Un grand nombre de toxines et d'enzymes peuvent être excrétées et entraîner une lyse cellulaire spécifique qui sont : hyaluronidase,  $\alpha$  hémolysine, en détruisant la barrière

alvéolo-capillaire, sont en grande partie responsables de la destruction tissulaire, des leucocidines qui détruisent les phagocytes avant qu'ils ne puissent agir [44, 25].

## **1-2 les bactéries à Gram négatif :**

### **1-2-1 *Haemophilus influenzae* :**

#### **a- les caractéristiques d'*Haemophilus influenzae* :**

*Haemophilus influenzae* est un coccobacille à Gram négatif que l'on trouve dans la flore normale des voies respiratoires de porteurs sains, immobile, non sporulé et parfois capsulé, il se présente sous forme de bâtonnet le plus souvent groupé en petits amas, aéro-anaérobie facultatif [45, 6].

*Haemophilus influenzae* ne peut pousser que sur des milieux de culture enrichis au sang cuit qui leur apportent les deux facteurs de croissance indispensables (facteur X et V), les colonies qui apparaissent après 24h de culture à 37°C et en présence de CO<sub>2</sub> sont grisâtres, les souches capsulés donnent souvent des colonies plus grosses [31].

*H. influenzae* possède une catalase, une oxydase, une nitrate réductase et ne produit jamais l'H<sub>2</sub>S, il fermente le Glucose, le Xylose et le désoxyribose [11].

#### **b- la résistance aux antibiotiques :**

Au cours des dernières années, l'apparition des souches résistantes à l'ampicilline fait reconsidérer le traitement des infections à *H.influenzae*. Cette résistance résulte d'une production de β-lactamase inactivant cet antibiotique [31].

Les céphalosporines de deuxième génération ne sont pas inactivées par les β-lactamases, par conséquent, ces antibiotiques sont le plus souvent le médicament d'élection [6].

#### **c- les facteurs de virulence d'*Haemophilus influenzae* :**

Plusieurs composantes bactériennes ont été proposées comme facteurs potentiel de virulence [46] :

- Les pilis permettent l'adhésion aux cellules de la muqueuse nasopharyngée.
- Les immunoglobulines à protéases : une enzyme qui a la propriété de cliver les immunoglobulines humaines de type A.

### **1-2-2 *Pseudomonas aeruginosa* :**

#### **a- les caractéristiques de *Pseudomonas aeruginosa* :**

*Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène opportuniste et responsable d'infections nosocomiales, il contribue également au déclin de la fonction respiratoire chez les patients atteints de mucoviscidose, c'est un bacille fin à Gram négatif, aérobie stricte, non capsulé, mobile, son extrême mobilité est dû à une ciliature polaire en général monotriche [47, 48, 41].

La plupart des espèces poussent sur milieux ordinaires à 37°C après 24H d'incubation à Ph= 7. Les colonies apparaissent souvent dissociées, grandes de taille (1 à 3 mm) à bords irréguliers et ne fermentent jamais le glucose [31].

Les cultures de *P. aeruginosa* dégagent une odeur caractéristique, et produisent le plus souvent des pigments de pyocyanine et de pyoverdine [47].

#### **b- la résistance aux antibiotiques :**

Les bacilles pyocyaniques sont naturellement résistants à des nombreux antibiotiques ; pénicilline, ampicilline, céphalosporines de première génération, kanamycine, chloramphénicol, sulfamides, triméthoprim, tétracyclines. La pipéracilline, la ticarcilline, l'amikacine, la colistine et la gentamicine entre autres sont actifs sur les *Pseudomonas*. La majorité des souches de *P. aeruginosa* produit une  $\beta$ -lactamase à large spectre appelé AmpC qui agit sur plusieurs antibiotiques [31, 47].

#### **c- les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* :**

De la simple colonisation à l'infection invasive, la bactérie exprime une pathogénicité polymorphe qui dépend avant tout de l'état immunitaire, de l'intégrité des barrières cutanéo-muqueuses et de l'efficacité des mécanismes de clairance des patients [48].

La virulence de la bactérie dépend d'un grand nombre de facteurs qui jouent un rôle important dans la colonisation, la survie de la bactérie et l'invasion des tissus, Il existe deux types de facteurs de virulence :

1) les facteurs impliqués dans l'infection aiguë [49,50] :

- Les pilis permettent l'adhésion aux épithéliums.
- L'exotoxine A est une cytotoxine responsable d'une inflammation sévère et d'une nécrose tissulaire.

- L'Elastase B a une activité Protéolytique et responsable d'une Nécrose tissulaire, a des effets anti défenses infectieuses.
- La phospholipase C : est une hémolysine thermolabile à un effet hydrolytique.
- l'exotoxine S a un effet antiphagocytose qui contribue à la résistance aux macrophages. Elle est responsable d'une inflammation et invasion tissulaire.

2) les facteurs impliqués dans l'infection chronique [49] :

- Les sidérophores (pyoverdine et pyochéline), permettent aux bactéries de se multiplier en l'absence de fer libre.
- Une pseudocapsule d'alginate pour les souches isolées chez les patients souffrant de mucoviscidose, qui protège la bactérie de la phagocytose, la déshydratation et des antibiotiques.

### **1-3 autres bactéries :**

#### **1-3-1 *Mycoplasma pneumoniae* :**

##### **a- Les caractéristiques de *Mycoplasma pneumoniae* :**

Les mycoplasmes colonisent chez l'homme les muqueuses respiratoires et les muqueuses génitales, *Mycoplasma pneumoniae* est le seul mycoplasme respiratoire pathogène pour l'homme, il se distingue des bactéries par l'absence de structure de la paroi cellulaire qui rend ces organismes insensibles aux agents antimicrobiens des bêta-lactamines [52, 53].

Les mycoplasmes sont de très petite taille, 300–850 nm, polymorphes, coccoïdes ou filamenteux et ne sont pas colorables par le Gram [52].

*Mycoplasma pneumoniae* est le seul mycoplasme qui réduit en anaérobiose le Chlorure de 2, 3, 5- triphényl tétrazolium, hémadsorbe et hémagglutine les hématies de cobaye et de cheval [54].

##### **b- La sensibilité aux antibiotiques :**

Les macrolides et apparentés sont les antibiotiques de choix pour le traitement des infections respiratoires à *M. pneumoniae* touchant principalement l'enfant [52].

**c- Les facteurs de virulence de *Mycoplasma pneumoniae* :**

- Les toxines : le mycoplasme produit une neurotoxine et une endotoxine.
- Les enzymes: toutes les substances altèrent la membrane cellulaire, passent dans la cellule en même temps que le mycoplasme, détournent à son profit le cholestérol et d'autres nutriments de la membrane de la cellule-hôte, créant ainsi une déplétion vitale [11].

**2- les bactéries productrices de  $\beta$ -lactamase à spectre élargie : (BLSE)**

L'émergence des bactéries multi-résistantes (BMR) est un enjeu majeur de santé publique en France, en Europe et dans le monde. Parmi ces bactéries, les plus fréquentes rencontrées actuellement sont les entérobactéries exprimant une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu (BLSE) [55].

Les BLSE ont émergé peu de temps après l'introduction des céphalosporines de troisième génération (C3G), ils ont la propriété commune de conférer la résistance aux Pénicillines, à la 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> génération de Céphalosporines, à l'Aztréoname (mais non aux Céphamycines et Carbapénème) par hydrolyse de ces antibiotiques [56,51].

partie pratique

méthodologie

## **1- Lieu et période d'étude :**

Notre étude a été réalisée au sein du laboratoire de bactériologie de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine durant une période de trois mois allant du mois de mars au mois mai 2019 ; portant sur les souches bactériennes responsables des infections respiratoires chez différents sujets.

## **2- Services concernés :**

Cinq services hospitaliers ont été concernés par notre étude y compris les externes : Service de pédiatrie, service de pneumologie, service de réanimation, service ORL et service de néphrologie.

## **3- Critères d'inclusion :**

Les critères d'inclusion de notre étude sont les suivants :

Des échantillons analysés provenant des patients, adultes ou enfants des deux sexes, externes et hospitalisés pendant la période d'étude dont les prélèvements sont liés aux infections respiratoires.

## **4- Nature du prélèvement :**

Dans cette période d'étude, 51 échantillons ont été analysés dont le nombre des prélèvements est comme suit : 23 expectorations (crachats) ,10 prélèvements distaux protégés (PDP), 15 liquides pleuraux, 01 prélèvement de gorge, 01 prélèvement bronchique distal (PBD) et 01 Sécrétion nasal.

## **5- Les variables étudiées :**

- Sexe.
- Age
- Service
- Nature de prélèvement
- Bactéries en cause.
- Profile de résistance des bactéries.

## **6- matériel et méthodes :**

### **6-1 matériel :**

#### **6-1-1/ Instruments et appareillage :**

Les boîtes de Petri, les pipettes pasteurs, les Ecouvillons, le Bec Bunzen, le Vortex, les Tubes à essais, le microscope optique, les lames et lamelles, les cellules de numération (Nageotte) et l'étuve.

#### **6-1-2/ milieux de culture, réactifs et produits :**

Les milieux de culture utilisés sont : milieu Chapman, milieu Hektoen, milieu au sang frais, milieu au sang cuit (Chocolat), milieu de Mueller Hinton, disques d'antibiotiques, galeries biochimiques de type RapID ONE, bleu de méthylène, eau physiologique, bleu acétique, violet de gentiane, Lugol, l'alcool, fuschine, l'huile à immersion.

### **6-2 Protocole d'analyse de chaque prélèvement :**

#### **6-2-1/ Examen bactériologique des crachats ECBC :**

Cet examen a pour but de rechercher une infection pulmonaire en effectuant un prélèvement de crachat, il doit être issu de l'arbre respiratoire profond (bronches, bronchioles, alvéoles) ; Le patient doit s'être rincé la bouche avec de l'eau stérile et dès que le prélèvement est obtenu dans un récipient stérile, il doit être rapidement transféré dans le laboratoire de microbiologie.

#### **a/ Examen microscopique direct :**

- Réalisation d'un frotti sur une lame en utilisant un écouvillon.
- Coloration avec bleu de méthylène et observation microscopique après 24 heures ce qui permet d'apprécier la présence de polynucléaires et de cellules épithéliales.

#### **b/ Ensemencement direct sur des milieux de cultures appropriés :**

- Gélose au sang cuit permettant la culture des *Haemophilus* sous CO<sub>2</sub>.
- Gélose au sang frais : c'est un milieu d'isolement enrichi qui permet une bonne croissance des Streptocoques. Il permet, la lecture du caractère hémolytique.
- Le milieu Hektoen : nombreuses bactéries à Gram négatif peuvent se développer sur ce milieu.
- Le milieu Chapman : c'est un milieu sélectif pour *Staphylococcus*.

L'ensemencement se fait en premier lieu par écouvillon d'une partie du milieu puis par une pipette pasteur en appliquant la méthode des quadrans.

Incubation des boîtes à 37°C pendant 24 heures, pour les Gélouses au sang, l'incubation se fait sous CO<sub>2</sub>.

**c/ Incubation de l'échantillon :** incubation à 37°C pendant 30min pour le liquéfier.

**d/ Etape de dilution :** nous avons effectué des dilutions de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-6</sup>, puis ensemencé les dilutions sur les trois milieux (Chapman, gélose au sang cuit et au sang frais).  
Incubation des boîtes à 37°C pendant 24heures.

### **6-2-2/ Examen cytbactériologique des prélèvements de gorge et des prélèvements**

#### **nasaux :**

- Examen microscopique direct sur lame.
- Ensemencement direct sur les quatre milieux de culture (Chapman, Hektoen, Gélose au sang cuit et Gélose au sang frais).
- Incubation à 37°C pendant 24 heures, les géloses au sang sont incubées en anaérobiose.

### **6-2-3/ Examen cytbactériologique du PDP :**

Le PDP est réalisé de façon dirigée sous fibroscopie, l'aspiration des sécrétions de la lumière trachéale et des grosses bronches est indispensable. Il est destiné au diagnostic des pneumopathies chez les patients ventilés.

Les mêmes étapes de l'ECBC sont réalisée sauf nous avons effectué des dilutions de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-4</sup>.

### **6-2-4/ Examen cytbactériologique de liquide pleural :**

La ponction pleurale consiste à introduire une aiguille au niveau des poumons, dans l'espace pleural et à y prélever un échantillon de liquide.

La ponction pleurale est indiquée lorsqu'il existe un épanchement anormal de liquide dans la cavité pleurale.

#### **a/ Examen microscopique :**

- l'ajout d'une goutte de l'échantillon sur une lame et observation microscopique direct

- L'ajout de quelque millilitre de liquide pleural dans un tube à essai.
- L'ajout de deux à trois gouttes du bleu acétique.
- L'énumération des cellules en utilisant la lame Nageotte.

**b/ Ensemencement direct :**

Ensemencement direct sur deux boîtes de pétri contenant la gélose au sang cuit par la technique des quadrans.

**6-2-5/ Identification :**

Un ou plusieurs ré-isolements ont été réalisés, suivi de plusieurs tests comme le test catalase, coagulase, oxydase, coloration de Gram et test d'agglutination.

Certaines espèces bactériennes ont été identifiées par l'utilisation des Galeries de type RapID dont la durée d'incubation est courte, et les autres ont été identifiées en se basant sur les caractères culturels des bactéries.

Les caractéristiques d'identification des bactéries sont notées en Annexes.

**6-2-6/ Etude de la sensibilité des antibiotiques selon la technique CLSI [68]:**

a/ Préparation de l'inoculum :

- A partir d'une culture pure, racler à l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger la pipette pasteur dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF.

b/ Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

c/ Application des disques d'antibiotiques :

- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles.

d/ Incubation : incubation pendant 24h à 37°C.

e/ Lecture :

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories Sensible, Résistante ou Intermédiaire.

La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée:

- Pour les bacilles à Gram négatif non fermentaires :

TIC , PRL,TZP, CAZ, ATM, IMP, CN, TOB, NET, CIP, LEV, CT, RD et AK.

- Pour les Staphylocoques :

P, OX, FOX, SP, DA, PT, TEC, TE, DO, TOB, CN, OFX, FD, C, RD, FOS et E.

- Pour les Streptocoques :

P, AMP, FOX, E, SP, DA, PT, VA, TE, CN, LEV, RD et SXT.

- Pour les *Haemophilus* :

P, AMX, AMC, CTX, CRO, E, TE, DO, CIP, LEV, SXT, C et RD.

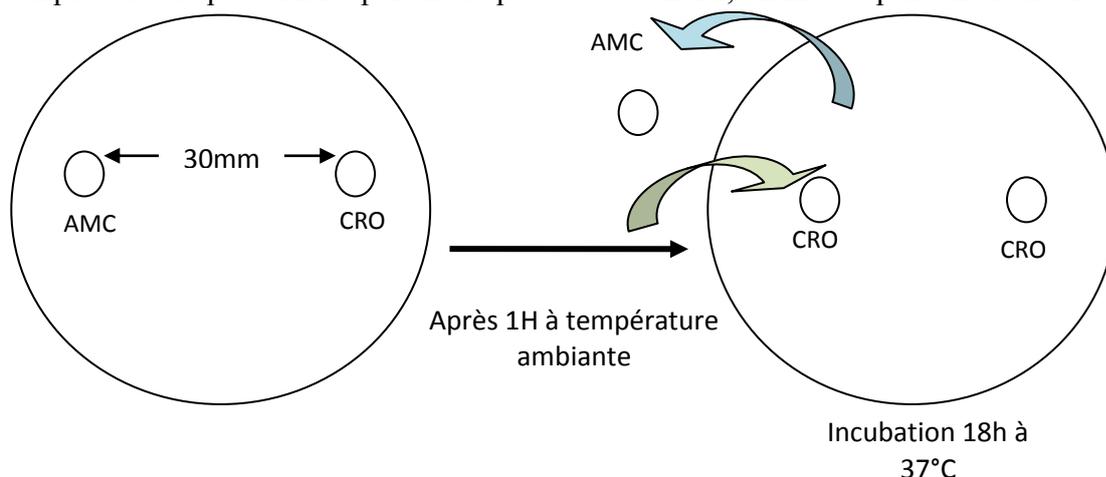
- Pour les Entérobactéries :

AMP, AMX, AMC, TIC, PRL, KZ, CTX, CRO, CN, NA, OFX, CIP, IMP, CT et SXT.

### 6-2-7/ Détection des BLSE :

Les bêta-lactamases à spectre élargie sont mise en évidence par la recherche d'une synergie entre l'acide clavulanique AMC et les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération. En l'absence d'une image de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution de diamètre autour des disques des C3G, leur détection peut être confirmée par le test du double disque (test espagnol), ce test est réalisé en disposant les disques d'AMC et de la C3G choisis à 30 mm de distance, centre à centre.

On laisse diffuser à la température ambiante du laboratoire pendant une heure de temps et on remplace le disque d'AMC par un disque de C3G choisis, on incube pendant 18 heures à 37°C.



Le test est considéré positif quand le diamètre d'inhibition du disque de C3G appliqué après pré-diffusion du disque de l'AMC est supérieur ou égale de 4 à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de C3G [23,67].

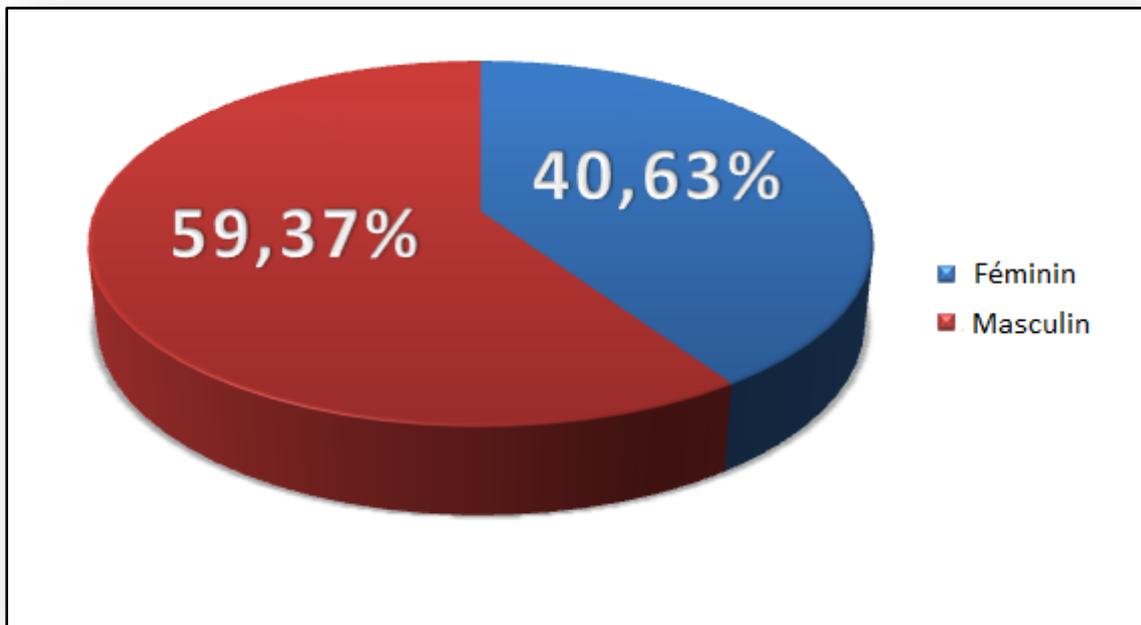
# Résultats

**Résultats :**

Durant la période de notre étude allant du 01/03/2019 au 15/05/2019, nous avons trouvé que parmi les 51 prélèvements, 32 patients ont eu des infections respiratoires.

**1-Répartition des patients atteints des infections respiratoires selon le sexe :**

Les résultats obtenus montrent que parmi 51 prélèvements analysés 30 provenaient du sexe masculin dont on note un taux de positivité plus élevé chez les patients du sexe masculin que chez les patients du sexe féminin, 59,37% (19 malades) contre 40,63% (13 malades) avec un sexe ratio de 1,43. (figure 07)

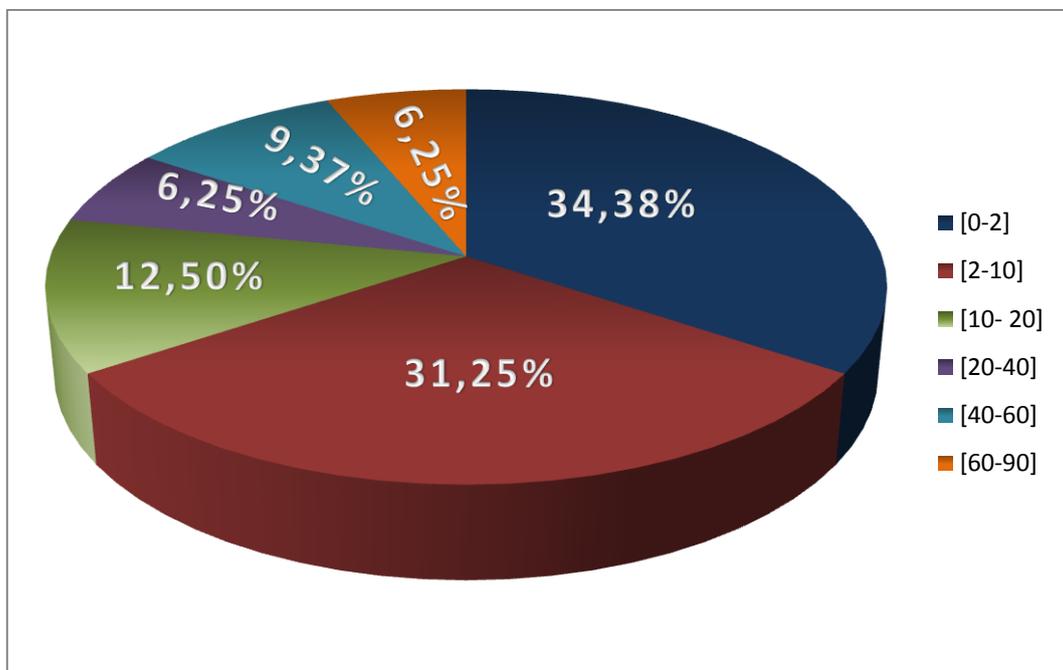


**Figure 07 :** Répartition des malades atteints des infections respiratoires selon le sexe (n=32)

## 2-Répartition des patients atteints des infections respiratoires selon l'âge :

Parmi les 51 prélèvements reçus au niveau du laboratoire nous avons : 11 prélèvements pour la tranche d'âge de 0 à 2 ans, 10 pour 2 à 10 ans, 4 pour 10 à 20 ans, 9 pour 20 à 40 ans, 5 pour 40 à 60 ans et 12 pour les patients de plus de 60 ans.

Nos résultats ont montré que les infections respiratoires sont plus importantes chez les enfants de 0 à 10 ans (65,63%), suivi par les personnes de 10 à 20 ans (12,5%) et elles sont moins importantes chez les personnes d'âge supérieur à 20 ans. (figure 08)



**Figure 08** : Répartition des patients atteints des infections respiratoires selon l'âge (n=32).

### 3-Répartition des patients atteints des infections respiratoires selon le service d'hospitalisation :

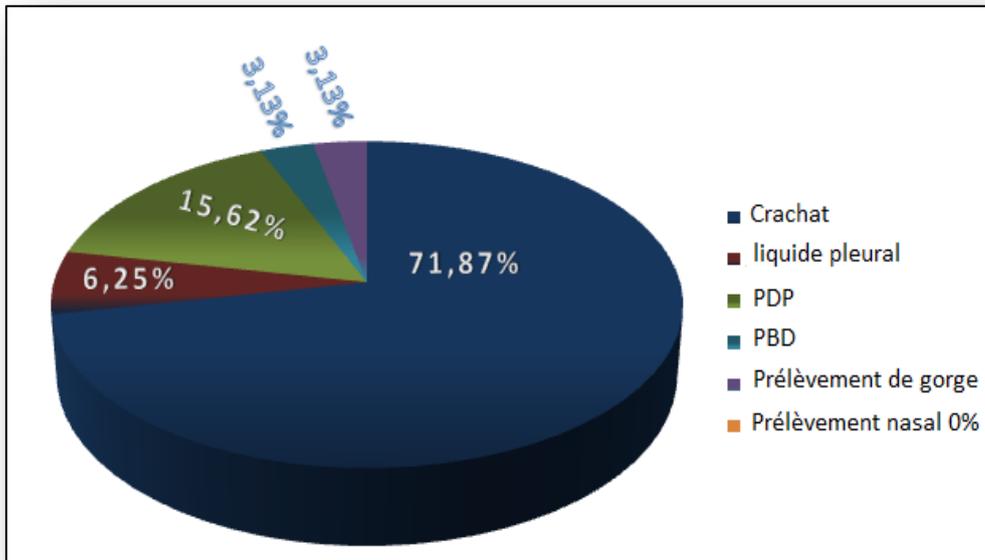
**Tableau 04** : Répartition des patients selon le service d'hospitalisation.

Service	prélèvements		Résultats positifs	
	Total	Négatifs	Nombre	%
<b>pédiatrie</b>	17	0	17	62,96%
<b>réanimation</b>	11	6	5	18,52%
<b>pneumologie</b>	12	8	4	14,82%
<b>Néphrologie</b>	02	2	0	0%
<b>ORL</b>	01	0	1	3,70%
<b>Médecine interne</b>	02	2	0	0%
<b>Chirurgie générale</b>	01	1	0	0%

Les malades provenant du service de pédiatrie ont eu le taux d'infection respiratoire le plus élevé soit 62,96% suivi par le service de la réanimation et les externes (18,52%), ensuite ces infections ont été trouvés avec un pourcentage de 14,82% chez les malades provenant du service de la pneumologie par contre dans les autres services l'infection est moins importante. Notons que cinq prélèvements provenaient des malades externes sont positifs.

### 4-Répartition des résultats positifs selon la nature de prélèvement:

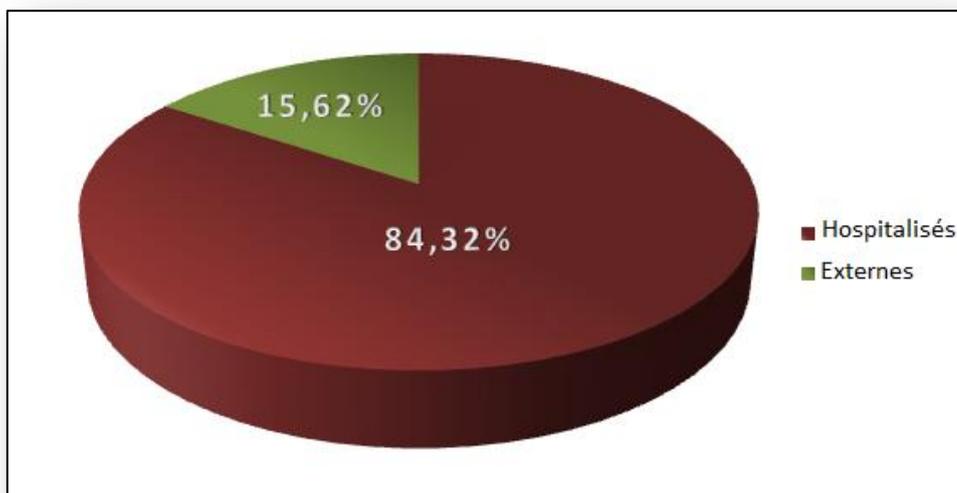
Nous avons noté que la majorité des bactéries responsables des infections respiratoires ont été isolées à partir des crachats avec un taux de positivité de 71,87%, ensuite à partir des PDP (15,62%), suivi des liquides pleuraux (6,25%), tandis que les autres prélèvements (PBD, Prélèvement de gorge et prélèvements nasal) le taux de positivité est moins important avec un pourcentage de 3,13%. (figure 09)



**Figure 9** : Répartition des résultats positifs selon la nature de prélèvement (n=32)

**5-Répartition des résultats positifs selon les malades :**

Sur les 51 malades, 5 sont des malades externes et 46 sont des malades hospitalisés dont le taux de positivité est respectivement 15,62% et 84,32%. (figure10)



**Figure 10** : Répartition des résultats positifs selon les malades.( n=51)

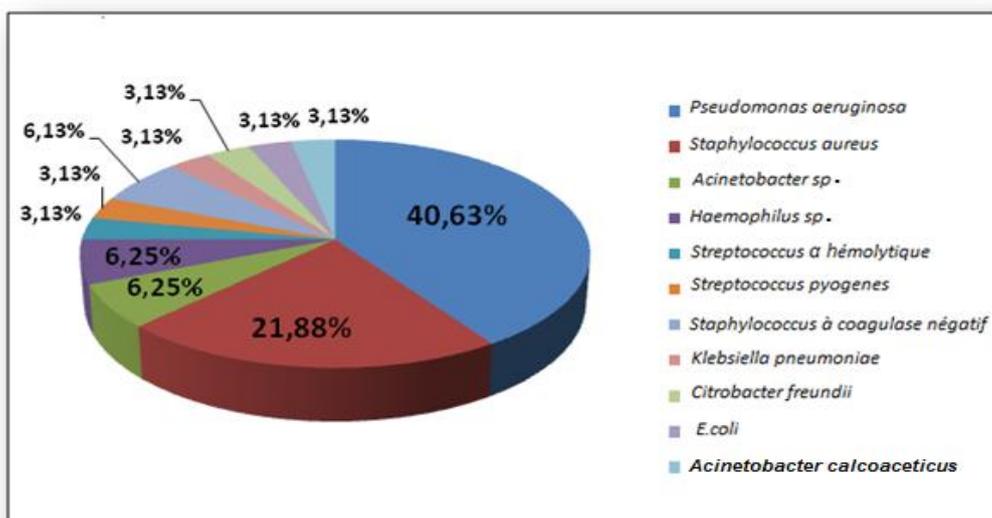
### 6-Les bactéries isolées des prélèvements analysés :

Les bactéries isolées lors de notre étude sont mentionnées dans le tableau suivant :

**Tableau 05** : Nombre des bactéries isolées en pourcentage (n=32)

Bactéries isolées	nombre	pourcentage
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	40,625%
<i>Staphylococcus aureus</i>	07	21,875%
<i>Acinetobacter sp.</i>	02	6,25%
<i>Haemophilus sp.</i>	02	6,25%
<i>Streptococcus a hémolytique</i>	01	3,125%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	01	3,125%
<i>Staphylococcus à coagulase négative</i>	02	6,25%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	01	3,125%
<i>Citrobacter freundii</i>	01	3,125%
<i>E. coli</i>	01	3,125%
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	01	3,125%

L'identification des bactéries isolées à partir des différents prélèvements analysés a montré une prédominance de *Pseudomonas aeruginosa* (40,63%), suivi de *Staphylococcus aureus* (21,87%), *Haemophilus sp.*, *Acinetobacter sp.* et *Staphylococcus à coagulase négative* avec un pourcentage de 6,25%, *Streptococcus a hémolytique*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *E. coli* et *Acinetobacter calcoaceticus* avec un pourcentage de 3,12%.



**Figure 11** : Les différentes bactéries isolées. (n=32)

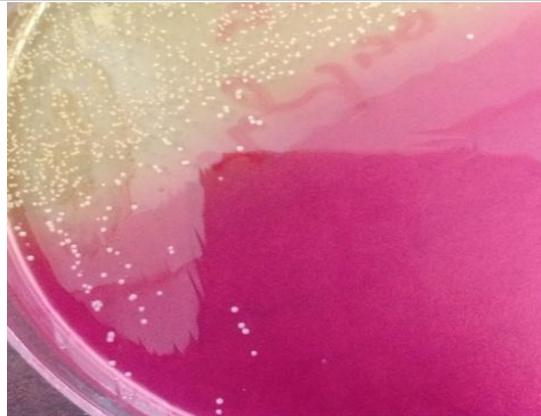
## 7- Répartition des bactéries en fonction des prélèvements :

**Tableau 6** : répartition des bactéries en fonction des prélèvements (n=32).

Bactéries isolées	nombre					
	crachat	Liquide pleural	PDP	PBD	Prélèvement t de gorge	Prélèvement nasal
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	07	0	0	0	0	0
<i>Acinetobacter sp.</i>	0	0	02	0	0	0
<i>Haemophilus sp.</i>	01	0	01	0	0	0
<i>Streptococcus α hémolytique</i>	0	01	0	0	0	0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0	0	0	0	01	0
<i>Staphylococcus à coagulase négative</i>	01	01	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	01	0	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	01	0	0	0
<i>E.coli</i>	01	0	0	0	0	0
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0	0	0	01	0	0

Tout les *Pseudomonas aeruginosa* et les *Staphylococcus aureus* identifiés durant notre étude ont été isolés à partir des crachats avec une prédominance de *Pseudomonas aeruginosa* , une souche d'*Acinetobacter calcoaceticus* a été isolée à partir de PBD, deux souches d'*Acinetobacter sp.*, une souche d'*Haemophilus sp.*, une souche de *klebsiella pneumoniae* et une souche de *Citrobacter freundii* ont été isolés à partir des PDP avec une prédominance d'*Acinetobacter sp.*, Concernant les *Staphylococcus à coagulase négative* : une souche à été isolé à partir des crachats et une souche à partir de liquide pleural, Pour les *Streptococcus* : une souche de *Streptococcus α-hémolytique* à été isolée à partir de liquide pleural et une souche de *Streptococcus pyogenes* a été isolée à partir de prélèvement de gorge.

**-Aspect macroscopique des certaines espèces bactériennes identifiées :**



*Staphylococcus aureus sur Chapman*



*Haemophilus sp sur Gélose au sang frais*



*Pseudomonas aeruginosa sur Hektoen*



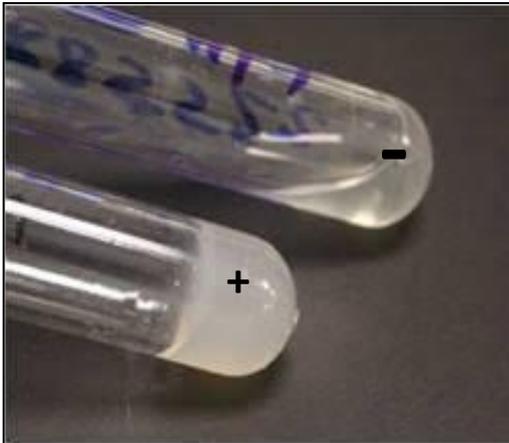
*Citrobacter freundii sur Gélose au sang frais*



*Citrobacter freundii sur Gélose au sang cuit*

**Figure 12 :** Aspect macroscopique de certaines espèces identifiées.

-Test de coagulase :



**Figure 13** : test de coagulase de *Staphylococcus aureus*.

-Galerie biochimique :



Galerie RapID de *Citrobacter freundii*

**Figure 14** : Galerie RapID ONE de *Citrobacter freundii*

### 8- Le profil de sensibilité et de résistance des bactéries isolées :

**Tableau 09** : le profil de sensibilité et de résistance des espèces bactériennes identifiées.

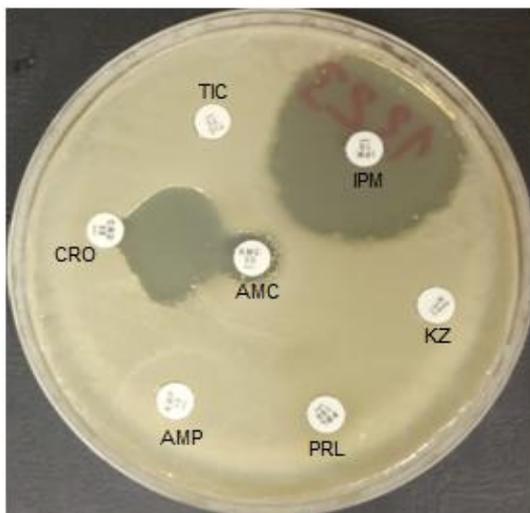
Les espèces bactériennes	Le profil de résistance	
	Sensible (S)	Résistante (R)
<i>Haemophilus sp.</i>	P- AMX- AMC- CTX- CRO- E- TE- DO- CIP- LEV- SXT- C- RD	
<i>Haemophilus sp.</i>	P- AMC-E-TE- DO- CIP- LEV- C- RD	AMX- SXT
<i>E. coli</i>	IMP – CT – SXT	AMP- AMX- AMC- TIC- PRL - KZ- CTX- CRO- CN- NA- OFX- CIP
<i>Staphylococcus aureus</i>	P- OX- FOX- SP- DA- PT- Tec- TE- DO- TOB- CN- OFX- FD -C- RD- FOS	E
<i>Staphylococcus aureus</i>	E- SP- DA- PT- VA- TEC- AK- TOB- CN- OFX- RD- FOS	P- OX- FOX- TE- DO- FD
<i>Staphylococcus aureus</i>	P- OX- FOX- E- SP- DA- PT- VA- TEC- TE- DO- TOB- CN- OFX- FD- C- RD- FOS	
<i>Staphylococcus aureus</i> (04 souches)	OX-FOX-E- SP- DA- PT- VA- TEC- TE- DO- TOB- CN- OFX- FD- C- RD- FOS	P
<i>Acinetobacter sp.</i> (02 souches)	CT- RD	Tic- PRL- TZP- CAZ- ATM- IMP- AK- CN- NET- CIP- LEV- FOS- DO- SXT
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	CT- RD	TIC- PRL-TZP- CAZ- ATM- IMP- AK- CN- NET- CIP- LEV- FOS- DO
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (08 souches)	TIC- PRL- TZP- CAZ- ATM- IMP- CN- TOB- NET- CIP- LEV- CT	RD
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (04 souches)	TIC- PRL- TZP- CAZ- ATM- imp- CN- TOB- NET- CIP- LEV- CT- RD	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	TIC- PRL- TZP- CAZ- ATM- IMP- CN- TOB- NET- CT	CIP- LEV- RD
<i>Streptococcus pyogenes</i> groupe A	P- AMP- FOX- E- SP- DA- PT- VA- TE- CN- LEV-RD-SXT	
<i>Citrobacter freundii</i>	TIC- PRL- CTX- CRO- IMP- AK- CN- NA- OFX- CIP- CT- SXT- C	AMP- AMX- AMC- KZ
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KZ- CRO- IMP- AK- OFX- CIP- CT- SXT	AMP- AMX- AMC- TIC- PRL- CN

Selon les résultats représentés dans le profil de sensibilité et de résistance des bactéries testé aux antibiotiques on note que la majorité des espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont multi-sensibles mais résistante à la Rifampicine (RD).

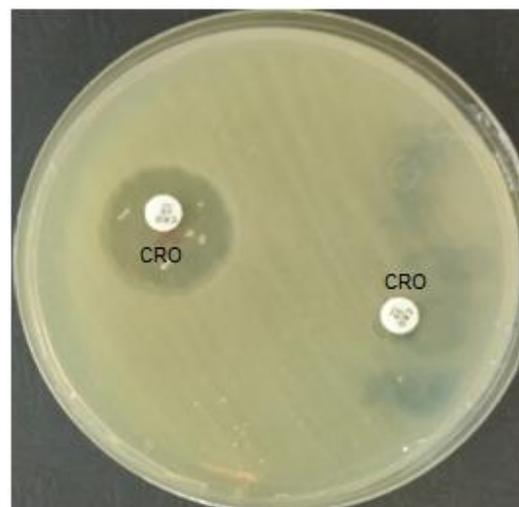
La majorité des espèces étudiées des *Staphylococcus aureus* sont multi sensibles mais résistantes à la pénicilline.

Contrairement à la multi sensibilité des espèces précédentes, les *Acinetobacter* sont multi résistantes aux antibiotiques.

La Production de BLSE se traduit par l'apparition d'une image de synergie entre l'AMC et CRO, Une souche *E. coli* et trois souches d'*Acinetobacter* sont des bactéries productrices de BLSE isolées dans notre étude, elle présente une résistance aux quinolones et les  $\beta$ -lactamines (les céphalosporines). (Figure 15, 16)



**Figure 15** : Antibiogramme d'*E. coli* montrant la synergie entre l'AMC et CRO



**Figure 16** : Résultat positif de test de double disque d'*E. coli* (BLSE)

# Discussion des résultats

**Discussion des résultats :**

Durant notre étude, les prélèvements issus des voies respiratoires inférieures sont les plus reçus au niveau du laboratoire (49 sur 51) dont le pourcentage de positivité est : 71,87% pour les crachats, 15,62% pour le PDP, 6,25% pour le liquide pleural et 3,13% pour PBD. Ces données ne ressemblent pas à celles retrouvées lors d'une étude rétrospective au sein du laboratoire de microbiologie du CHU Ibn Sina de Rabat avec une prédominance des PDP (46,06%), Crachats (12,50%) [57]. Les prélèvements issus des voies respiratoires supérieures sont moins reçus (2 sur 51) car le risque d'infection des voies respiratoires supérieures augmente de façon significative durant la période d'hiver.

Le taux de positivité était plus élevé chez la catégorie masculine (59,73% contre 40,63%), Nos résultats rejoignent ceux de l'étude réalisée au CHU Khellil Amrane de Bejaïa qui ont trouvé aussi un taux plus élevé chez les hommes (56,67%) que chez les femmes (43,33%) [23].

Nos résultats ont montré que les enfants de moins de 10 ans sont les plus touchés et en particulier les petits enfants de moins de 2 ans, cette prédominance des affections respiratoires a aussi été retrouvée et décrite lors d'une étude réalisée au centre hospitalier universitaire Dr Tidjani Damardji de Tlemcen (85%) [11]. Cela est due à la fragilité du système immunitaire, contrairement chez les personnes de 10-40 ans l'immunité est plus forte ; chez les personnes âgées l'infection est liée aux changements anatomiques et physiologiques de l'arbre respiratoire qui surviennent avec l'âge ; le système immunitaire subit une sénescence et l'immunité décline [22].

Dans la présente étude 27 des résultats positifs provenaient des patients hospitalisés, dont la majorité est rencontrée dans le service de pédiatrie (62,96%), suivi par le service de réanimation (18,52%), 14,82% dans le service de pneumologie et 3,70% dans le service d'ORL. Ces résultats sont différents à ceux de l'étude réalisée au CHU Khellil Amrane de Bejaïa (36,67% des cultures positives étaient rencontrées dans le service de réanimation.) [23].

Notre étude a révélé une prédominance de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* avec un pourcentage de 40,625% chez les patients hospitalisés, c'est l'agent causal des infections nosocomiales qui survient principalement chez les patients atteints de troubles d'immunité ou bien chez les patients sous ventilation mécanique. L'infection à *Pseudomonas aeruginosa* est importante car elle est probablement liée à une longue durée d'hospitalisation. Les souches de *Staphylococcus aureus* viennent en deuxième position avec un pourcentage de 21,875%.

L'étude réalisée au CHU Khellil Amrane de Bejaïa a noté une prédominance du genre *Acinetobacter* (23,53%) isolé principalement du PDP (23,53%), suivis de *Staphylococcus aureus* (20,60%), puis *Pseudomonas aeruginosa* avec un pourcentage de 17,65%. Contrairement aux résultats de ces derniers, nous avons noté un faible pourcentage d'*Acinetobacter* (6,25%), nous expliquons cette différence par le manque du nombre de prélèvements de PDP reçus durant l'étude.[23] Le développement d'*Acinetobacter* est influencé par l'hospitalisation prolongée en service de réanimation.

Les bacilles à Gram négatif de la famille des *Enterobacteriaceae* sont un peu plus fréquemment impliqués dans les infections respiratoires basses.

L'étude bibliographique a confirmé que la pipéracilline, la ticarcilline, l'amikacine, la Colistine et la Gentamicine sont les molécules les plus régulièrement actives sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Ces données rejoignent nos résultats dans lesquels nous avons trouvé que les *Pseudomonas aeruginosa* isolés présentent une sensibilité à l'ensemble de Pipéracilline, Ticarcilline, l'Amikacine, la Colistine et la Gentamicine de plus la Pipéracilline-Ac.clavulanique, Ceftazidime, Aztréoname, Imipénème, Tobramycine, Netilmicine, Ciprofloxacine, Lévofloxacine et la Collistine ; Les résultats recensés lors de notre étude sont comparable à ceux retrouvés dans une autre étude réalisé à l'hôpital universitaire Hassan II de Fez [42]. Certaines souches sont sensibles à la Rifampicine par contre la majorité sont résistantes en raison de l'acquisition de la résistance qui est lié à la politique des antibiotiques et son application pratique au sein des services concernés.

Les 7 souches de *Staphylococcus aureus* isolés ont présenté une multi-sensibilité aux antibiotiques, 4 souches sont résistantes seulement à la Pénicilline, une est résistante à l'Erythromycine et d'autre est une SARM qui est résistante à la Pénicilline, Oxacilline,

Céfoxitine, Tétracycline, Doxycycline, Acide fusidique, cette résistance peut être liée à l'admission excessive des antibiotiques.

D'après nos résultats, on a détecté la présence de quatre souches BLSE incluant une souche *E.coli* résistante aux bêta-lactamines et sensible à l'Imipénème, et trois souches d'*Acinetobacter* résistantes aux Céfotaxime.

Conclusion

**Conclusion :**

L'étude réalisée à l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine nous a permis d'isoler et identifier plusieurs bactéries impliquées dans les infections des voies respiratoires inférieures et supérieures, ces infections sont parmi les plus fréquentes des infections acquises à l'hôpital.

Les bactéries identifiées sont : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter sp*, *Haemophilus sp*, *Staphylococcus à Coagulase négatif*, *Streptococcus pyogenes du groupe A*, *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus a hémolytique*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter calcoaceticus*.

La plus fréquente est *Pseudomonas aeruginosa* (40,625%) qui est d'origine nosocomiale, suivi de *Staphylococcus aureus* (21,875%).

Le service de pédiatrie a été largement confronté aux IVR dont les enfants de 0 à 10 ans sont les plus sensibles. (65,63%).

Ces infections ont concerné beaucoup plus le sexe masculin que féminin (59,37% contre 40,63%).

L'efficacité remarquable des antibiotiques a motivé leur utilisation massive et répétée en santé humaine et animale. Cela a créé une pression de sélection sur les populations bactériennes, entraînant l'apparition de souches résistantes.

Pour préserver le plus long temps l'efficacité des antibiotiques disponible, il faut réduire leur consommation et il est préférable d'utiliser un antibiotique ciblé qui aura moins d'effet sur le microbiote et éviter l'utilisation systématique d'antibiotiques précieux (récent ou à large spectre). [59-60]

Le renforcement des mesures d'hygiène et de lutte contre l'infection, notamment la vaccination, peuvent limiter la propagation de micro-organismes résistants et réduire l'utilisation abusive et à mauvais escient des antimicrobiens. [61]

# ANNEXES :

## Annexe 1 : Procédure de la galerie RapID ONE :

FRENCH

### PROCÉDURE

#### Préparation de l'inoculum:

1. Cultiver les organismes à tester en culture pure et effectuer une coloration de Gram et un test d'oxydase avant de les utiliser dans le système.

#### Remarques:

- Seuls les bacilles à oxydase négative, et à Gram négatif doivent être testés sur le système RapID ONE. Les bacilles à oxydase positive doivent être testés sur le système RapID NF Plus.
- Le test d'oxydase doit être interprété avec précaution en cas d'utilisation de croissance bactérienne provenant de différentes géloses contenant des teintures car ces dernières peuvent perturber l'interprétation.

2. Les organismes à tester peuvent être retirés de divers milieux de croissance de gélose sélectifs et non sélectifs. Les types de milieux suivants sont recommandés:

Milieux non sélectifs: gélose trypticase soja avec ou sans 5% de sang de mouton; gélose nutritive.

Milieux différentiels ou sélectifs: gélose de Hektoen; gélose de MacConkey; gélose d'éosine-bleu de méthylène; gélose désoxycholate; gélose Salmonella-Shigella.

#### Remarques:

- Utiliser de préférence des boîtes de culture âgées de 18 à 24 heures pour la préparation de l'inoculum. Les isolats à prolifération lente peuvent être testés sur des boîtes de culture âgées de 48 heures.
- L'utilisation de milieux autres que ceux recommandés peut nuire aux performances du test.

3. À l'aide d'un porte-coton ou d'une anse d'inoculation, suspendre une quantité suffisante de croissance bactérienne prélevée sur la boîte de culture sur gélose dans le liquide d'inoculation (2 ml) RapID afin d'obtenir une suspension d'une turbidité comparable à l'échelle de McFarland n°2 ou un équivalent.

#### Remarques:

- Les suspensions de turbidité nettement inférieure à l'échelle de McFarland n°2 provoquent des réactions aberrantes.

- Les suspensions bactériennes d'une turbidité légèrement supérieure à l'échelle de McFarland n°2 sont sans effet sur les performances du test et sont recommandées pour les cultures souches et les souches destinées au contrôle qualité. Cependant, les suspensions présentant une turbidité très supérieure à l'échelle de McFarland n°2 nuisent aux performances du test.

- Mélanger les suspensions de façon homogène en utilisant, le cas échéant, un agitateur-mélangeur vortex.

- Les suspensions doivent être utilisées dans les 15 minutes suivant leur préparation.

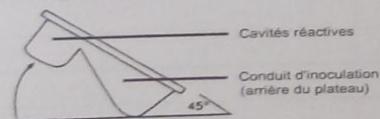
4. Prélever éventuellement une pleine anse de la suspension à tester et inoculer une boîte de culture sur gélose pour en vérifier la pureté et effectuer tout test supplémentaire, le cas échéant. Incuber la boîte de culture pendant 18 à 24 heures à une température comprise entre 35 et 37°C.

#### Inoculation des plaquettes RapID ONE:

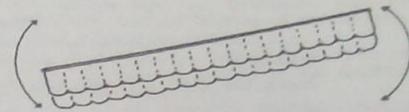
1. Retirer la membrane de la plaquette recouvrant le port d'inoculation en tirant vers le haut et vers la gauche la languette portant la mention « Peel to inoculate ».

2. À l'aide d'une pipette, transférer doucement l'intégralité du contenu du tube de liquide d'inoculation dans l'angle inférieur droit de la plaquette. Reboucher le port d'inoculation en remettant en place la languette précédemment retirée.

3. Après avoir ajouté la suspension, tout en maintenant la plaquette en contact avec une surface plane, écarter la plaquette des cavités réactives en la plaçant à un angle d'environ 45 degrés (voir ci-dessous).

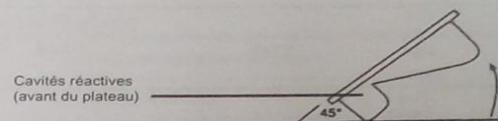


4. Alors qu'elle est toujours penchée, agiter doucement la plaquette pour obtenir une distribution homogène de l'inoculum le long des déflecteurs arrière, comme sur l'illustration ci-dessous.



5. Tout en stabilisant la plaquette en position horizontale (le plus simple est de faire reposer le fond des cavités réactives sur la pailleuse), faire basculer doucement la plaquette vers les cavités réactives jusqu'à ce que l'inoculum s'y écoule depuis les déflecteurs (voir ci-dessous). Tout l'inoculum doit s'évacuer de la partie arrière de la plaquette.

**Remarque:** Si le mouvement de basculement de la plaquette est trop brusque, il se peut que de l'air soit emprisonné au point de jonction de la cavité de test, d'où une restriction de déplacement du liquide.



6. Remettre la plaquette en position horizontale. Le cas échéant, tapoter doucement la plaquette sur la pailleuse pour évacuer l'air emprisonné dans les cavités.

#### Remarques:

- Vérifier que les cavités sont remplies de façon uniforme, sans bulles. De très légères irrégularités de remplissage des cavités sont acceptables et n'affectent pas les performances du test. Si la plaquette comporte des problèmes de remplissage importants, elle doit être jetée et une autre plaquette doit être inoculée.
- Terminer l'inoculation de chaque plaquette destinée à recevoir le liquide d'inoculation avant d'en inoculer de nouvelles.
- L'inoculum ne doit pas rester dans la partie arrière de la plaquette pendant des périodes prolongées avant la fin de la procédure.

#### Incubation des plaquettes RapID ONE:

Mettre à incuber les plaquettes inoculées entre 35 et 37°C dans un incubateur sans CO<sub>2</sub> pendant 4 heures. Pour faciliter la manipulation, les plaquettes peuvent être mises à incuber dans les boîtes d'incubation en aggloméré fournies avec le kit.

#### Évaluation des plaquettes RapID ONE:

Les plaquettes RapID ONE contiennent 18 cavités réactives permettant d'enregistrer 19 résultats de tests. La cavité 18 est bifonctionnelle; elle peut accueillir deux tests différents. Les tests bifonctionnels sont interprétés une première fois avant l'ajout de réactif, ce qui donne un premier résultat, puis la même cavité est examinée à nouveau après l'ajout de réactif pour obtenir un second résultat. Un cadre dessiné autour des cavités 15 à 17 indique quels sont les tests nécessitant le réactif RapID ONE. Le test bifonctionnel n° 18, qui utilise le réactif spot indole RapID, est indiqué par un cadre tracé autour du test nécessitant le réactif.

1. Tout en maintenant fermement la plaquette RapID ONE sur la pailleuse, retirer la membrane recouvrant les cavités réactives en tirant vers le haut et vers la gauche la languette située en bas à droite.
2. Ajouter deux gouttes de réactif RapID ONE dans les cavités 15 (PRO) à 17 (PYR).
3. Lire et interpréter les résultats des cavités 1 (URE) à 18 (ADON), de gauche à droite, conformément au guide d'interprétation du tableau 2. Consigner les résultats dans les cases du formulaire prévues à cet effet, en utilisant le code indiqué au-dessus de la barre pour les tests bifonctionnels.
4. Ajouter 2 gouttes de réactif spot indole RapID dans la cavité n° 18 (ADON/IND).

**Remarque:** Seul le réactif spot indole RapID (R8309002) doit être utilisé. Le réactif indole de Kovacs ou d'Ehrlich ne donne pas de résultats satisfaisants.

5. Patienter au moins 10 secondes et au plus 2 minutes pour permettre le développement de la couleur.
6. Évaluer le résultat de la cavité n°18 (IND). Consigner les résultats dans la case prévue à cet effet sur le formulaire de rapport.
7. Identifier le microcode obtenu sur le formulaire de rapport à l'aide ERIC.

## Annexe 02 : Principes et composants du système RapID ONE.

N° de cavité	Code du test	Ingrédients réactifs	Quantité	Principe	N° dans la bibliographie
1	URE	Urée	0,25 %	L'hydrolyse de l'urée produit des éléments basiques entraînant une hausse du pH et le changement de l'indicateur.	1, 3
2	ADH	Arginine	1,0 %	L'hydrolyse du substrat acide aminé produit des éléments basiques entraînant une hausse du pH et le changement de l'indicateur.	1-3
3	ODC	Ornithine	1,0 %		
4	LDC	Lysine	1,0 %		
5	TET	Thiol aliphatique	0,2 %	L'hydrolyse du composé thiol produit des éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur.	4
6	LIP	Ester d'acide gras	1,0 %	L'hydrolyse de l'ester d'acide gras provoque la libération d'éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur.	3, 4
7	KSF	Aldéhyde de glucose	1,0 %	L'hydrolyse des hydrates de carbone produit des éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur.	3, 4
8	SBL	Sorbitol	1,0 %		
9	GUR	p-nitrophényl-β, D-glucuronide	0,1 %	L'hydrolyse enzymatique du groupement glycoside ou phosphoester aryl substitué incolore entraîne la libération d'o- ou de p-nitrophényl jaune.	1, 3, 4-7
10	ONPG	σ-nitrophényl-β, D-galactoside	0,1 %		
11	βGLU	p-nitrophényl-β, D-glucoside	0,1 %		
12	βXYL	p-nitrophényl-β, D-xyloside	0,1 %		
13	NAG	p-nitrophényl-N-acétyl-β, D-glucosaminide	0,1 %		
14	MAL	Malonate	0,5 %	L'utilisation du malonate produit des éléments basiques entraînant une hausse du pH et le changement de l'indicateur.	1, 3
15	PRO	Proline-β-naphthylamide	0,1 %	L'hydrolyse enzymatique du substrat arylamide entraîne la libération de β-naphthylamine libre qui est détectée par le réactif RapID ONE.	2,7
16	GGT	γ-glutamyl-β-naphthylamide	0,1 %		
17	PYR	Pyrrolidonyl-β-naphthylamide	0,1 %		
18	ADON	Adonitol	1,0 %	L'hydrolyse des hydrates de carbone produit des éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur.	1, 3
18	IND	Tryptophane	0,4 %	L'utilisation du tryptophane provoque la formation d'indole qui est détecté par le réactif spot indole RapID.	1-3

**Annexe 03 : le guide de coloration RapID ONE.**



### RapID™ ONE Color Guide

Test Test Test Test Prueba	Cavity Cavité Kammer-Nr. Pozetto Pocillo	Positive Reactions Réactions positives Positive Reaktionen Reazioni positive Reacciones positivas	Negative Reactions Réactions négatives Negative Reaktionen Reazioni negative Reacciones negativas
URE	1	 	 
ADH	2		
ODC	3	 	   
LDC	4		
TET	5		
LIP	6		
KSF	7		 
SBL	8		
GUR	9		
ONPG	10		
βGLU	11		  
βXYL	12		
NAG	13		
MAL	14		 
ADON	18	 	 
PRO	15		
GGT	16	   	   
PYR	17		
IND	18	  	 

Note: RapID™ Color Guides are intended as an educational aid to be used in conjunction with the Instructions For Use for the product. The reaction colors shown in the charts represent the typical shades of positive and negative colors.

Remarque: les guides de coloration RapID™ sont conçus pour être utilisés comme supports de formation en association avec le Mode d'emploi du produit. Les couleurs de réaction indiquées dans les tableaux représentent les nuances typiques des colorations positives (+) et négatives (-).

Anmerkung: Die RapID™ Farbskalen sind als Lehrmittel bestimmt und zusammen mit der Gebrauchsanweisung für das Produkt zu verwenden. Die in den Tabellen enthaltenen Reaktionsfarben stellen die typischen Farbschattierungen für positive (+) und negative (-) Reaktionen dar.

Nota: le guide ai colori RapID™ sono un supporto formativo da utilizzare in abbinamento alle Istruzioni per l'uso del prodotto. I colori della reazione presenti nelle tavole rappresentano le sfumature tipiche dei colori positivi (+) e negativi (-).

Nota: Las Guías de colores RapID™ han sido concebidas como una ayuda de formación para su utilización con las Instrucciones de uso del producto. Los colores de reacción mostrados en los diagramas representan los tonos típicos de colores de positivo (+) y negativo (-)

Rev. Date 6/04/2010  
Date de rév. 04/06/2010  
Überprüft am: 04.06.2010  
Data rev. 6/4/2010  
Fecha de revisión 4-6-2010

12076 Santa Fe Drive  
Lenexa, KS 66215  
800-255-6730  
www.remel.com

**remel**

Part of Thermo Fisher Scientific

**Annexe 04:** Formulaire de rapport de RapID ONE.

**remel**

**RapID™ ONE**

Report Form

Reference #, No. de référence, Referenz-Nr. \_\_\_\_\_

Date, Date, Datum \_\_\_\_\_

Tech, Tech, Techn. \_\_\_\_\_

Source, Source, Quelle \_\_\_\_\_

Reagent / Réactif / Reagenz	None, Aucun, Keine,													RapID ONE Reagent / Réactif RapID ONE / RapID ONE Reagens			None / Aucun / Keine		RapID Spot Indole	
	Red or violet / Rouge ou violet / Rot oder Violett	Bright Purple or blue / Violacé brillant ou bleu / Leuchtendes Purpur oder Blau			Yellow / Jaune / Gelb									Red Rouge / Rot	Violet, purple, red, or dark pink / Violet, violacé, rouge ou rose soutenu / Purpur, Violett, Rot oder Dunkelrosa			Yellow or very light orange / Jaune ou orange très clair / Gelb oder sehr helles Orange		Brown, black, or purple / Marron, noir ou violacé / Braun, Schwarz oder Purpur
Cavity #, No. cavité / Kammer-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	18	
Test Code / Code du test / Testcode	URE	ADH	ODC	LDC	TET	LIP	KSF	SBL	GUR	ONPG	BGLU	BXYL	NAG	MAL	PRO	GGT	PYR	ADON	IND	OXI
Value / Valeur / Wert	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2
Result / Résultat / Ergebnis																				
Value Total / Total des valeurs / Gesamtwert																				

IDENTIFICATION / IDENTIFICATION / IDENTIFIZIERUNG \_\_\_\_\_



Microcode \_\_\_\_\_  
 REMEL Inc 800-255-6730 Printed in USA 04/12

**Annexe 05 :** Caractères d'identification des bactéries isolées.

Tableau 1 : Les résultats de la galerie RapID ONE.

Bactéries	Tests																			
	URE	ADH	ODC	LDC	TET	LIP	KSF	SBL	GUR	ONPG	BGL	BXY	NAC	MAL	PRO	GGT	PYR	ADON	IND	OXI
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>E.coli</i>	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

- Pour *Pseudomonas aeruginosa* l'identification se fait sur milieu sélectif (Hektoen) dont les colonies sont vertes bleues avec une odeur de jasmin. Cette identification est confirmée par le test oxydase et catalase.
- Pour les Staphylocoques l'identification se fait sur milieu sélectif (Chapman), ils dégradent le mannitol sur Chapman, dont les colonies sont crémeuses, pigmentées (typiquement jaune d'or).
- Pour les *Haemophilus* l'identification se fait sur gélose au sang dont les colonies sont grises. Cette identification est confirmée par la coloration de Gram, le test catalase et oxydase.
- Pour les *Streptocoques* l'identification se fait sur milieu sélectif (gélose au sang), ils donnent de petites colonies grisâtres, translucides, en grain de semoule, entourées d'une zone d'hémolyse totale (hémolyse bêta) pour les streptocoques des groupes A, C, G, tandis que les autres streptocoques donnent une hémolyse partielle (hémolyse alpha) ou pas d'hémolyse du tout.

**Annexe 06** : Principe du test d'agglutination des Streptocoques.

C'est un test rapide au latex permettant la détection qualitative des Streptocoques et l'identification de leur groupe d'après la classification de Lancefield. Les réactifs fournis permettent d'identifier les groupes A, B, C, F et G.

- Déposer une goutte d'un ou de plusieurs latex recouvertes d'anticorps spécifiques du groupe sur le (les) cercle(s) correspondant(s).
- Déposer 1 goutte de la souche à tester à côté de chaque latex.
- Mélanger avec un agitateur différent pour chaque cercle.
- Donner à la carte un mouvement de rotation pendant 1 min.
- Ces particules de latex s'agglutinent fortement en présence de l'antigène homologue alors qu'elles restent en suspension homogène en l'absence de celui-ci.

**Annexe 07** : Test de coagulase.

Etapas pour réaliser le test :

- Ensemencer les bactéries dans un tube contenant du plasma de lapin.
- Placer la gélose dans un incubateur à 37 °C pendant 24 heures.

Résultats possibles :

- Plasma de lapin liquide : La bactérie n'a pas l'enzyme coagulase.
- Plasma de lapin solide : La bactérie a l'enzyme coagulase.

**Annexe 08** : Test de catalase.

Etapas pour réaliser le test :

- Sur une lame de microscope, placer une goutte de peroxyde 3 % (il est important que le peroxyde soit frais).
- Avec l'anse, déposer les bactéries sur la goutte de peroxyde.

Résultats possibles :

- Bulle : La bactérie a l'enzyme catalase.
- Aucune bulle : La bactérie n'a pas l'enzyme catalase.

**Annexe 09** : Test oxydase.

Prélever une colonie avec une pipette pasteur et la déposer sur la zone réactionnelle du support imprégné de tétraméthyle-p-phénylènediamine chlorhydrate (bandelettes ou disques).

Résultat positif : Pourpre/Violet

**Annexe 10** : coloration de Gram.

- Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute, puis rincez à l'eau.
- Mordantage au lugol : étalez le lugol et laissez agir le même temps que le violet de gentiane ; rincez à l'eau.
- Décoloration (rapide) à l'alcool est l'étape la plus importante de la coloration. Rincez abondamment avec de l'eau pour stopper la décoloration.
- Recoloration à la fuchsine. Mettez de l'eau distillée sur la lame et quelques gouttes de fuchsine. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute. Lavez doucement à l'eau. Séchez la lame sur une platine chauffante à 50 °C.
- Observez avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement ×1000).

**Annexe 11** : Composition des milieux de culture.

Hektoen :

Peptone.....	12 g.
Extrait de levure.....	3 g.
NaCl.....	5 g.
Sels biliaires.....	9 g.
Thiosulfate de sodium.....	5 g.
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5 g.
Lactose.....	12 g.
Salicine.....	2 g.
Saccharose.....	12 g.
BBT.....	0,002 g.
Fuchsine acide.....	0,1 g.
Agar.....	14 g.
Eau distillée .....	1 L.

- Chapman :

Peptone.....	11 g.
Extrait de viande.....	1 g.
NaCl.....	75 g.
Mannitol.....	10 g.
Rouge de phénol.....	0,025 g.
Agar.....	15 g.
Eau distillée.....	1L.

- Gélose au sang :

Mélange spécial de peptones.....	23 g.
Amidon.....	1g.
NaCl.....	5 g.
Agar.....	10 g.
Sang de mouton.....	50 ml.
Eau distillée.....	1L.

## Référence bibliographique :

- 01** : Gérard, O., Philippe, S.(2006). << La maîtrise des maladies infectieuses : un défi de santé publique, une ambition médico-scientifique >>. France : EDP science. 440p.
- 02** : Michael, M., John, M.(2007). << Biologie des micro-organismes>>. Paris : pearson education France. (1074)
- 03** : Bienvenu, K( 2015). Prévalence des infections des voies respiratoires supérieures chez les enfants de 0à 15 ans, [en ligne]. Diplôme de graduat : science médicale. Université de kalemie, disponible sur : [https://www.memoireonline.com/09/15/9276/m\\_Prevalence-des-infections-des-voies-respiratoires-superieures-chez-les-enfants-de-0--15-ans16.html](https://www.memoireonline.com/09/15/9276/m_Prevalence-des-infections-des-voies-respiratoires-superieures-chez-les-enfants-de-0--15-ans16.html).
- 04** : Elaine,N.M( 2008). << Biologie humaine : principe d'anatomie et de physiologie>>. Canada : nouveau horizons. 450p
- 05** : Poket dentistry. 8. Anatomy and Physiology of respiration and airway Management [en ligne]. <https://pocketdentistry.com/8-anatomy-and-physiology-of-respiration-and-airway-management/>.
- 06** : Gerard,J.T., Berdell,R.F, Christin,L.C( 2003). << Introduction à la microbiologie>>. Canada: renouveau pédagogique Inc. 945p.
- 07** : Julien,E.pharynx : anatomie, fonction et pathologie. Sainte santé.com [en ligne]( mardi 5 mai 2015). <https://saintesante.com/anatomie/tete-et-cou/anatopathologie-du-pharynx>
- 08** : Passeport santé. Larynx- anatomie,physiologie, douleur, maladie [en ligne] <https://www.passeportsante.net/fr/parties-corps/Fiche.aspx?doc=larynx>
- 09** : Jean,M.P( 1999) Anatomie et physiologie de la trachée.EMC auto-rhino-laryngologie[en ligne]. <https://www.em-consulte.com/article/1336/anatomie-et-physiologie-de-la-trachee>
- 10** : DEE,U,S.( 2007).<< Physiologie humaine : une approche intégrée>>. Paris : Pearson Education France.
- 11** : Larabi,I.,Louadi,Z.( 2015). Les pneumopathies bactériennes chez l'enfant. Mémoire de fin d'étude : medecine. Université ABOUBEKR BEL KAID.Telemcen.82
- 12** : Gerard,J.T., Berdell,R.F., Cristine,L.C.(2007).<< Microbiology: an introduction>>.United States of America: Pearson international edition. 958p
- 13**: HORDE,P. Infection communautaire – Définition. [en ligne]. <https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/44859-infection-communautaire-definition>
- 14**: Lachassine,E.,Letamendia-Rechard,E.,Gaudelus,J.(2004).*Epidémiologie des infections nosocomiales en néonatalogie*.*Archive de pédiatrie*, 11(3),229-233.

- 15** : Paul,S(2005).<< Bactériologie : pour la médecine, la biologie et les biotechnologies>> .Belgique : DUNOD.542p
- 16** : Humair,G.P.,Kaiser,L(2013). Infections de voies respiratoires supérieures (IVRS). [En ligne].[https://www.hugge.ch/sites/interhug/files/structures/medecine\\_de\\_premier\\_recours/documents/infos\\_soignants/ivrs\\_arce.pdf](https://www.hugge.ch/sites/interhug/files/structures/medecine_de_premier_recours/documents/infos_soignants/ivrs_arce.pdf)
- 17** : Charlotte,M.,Verolet,K.M.,Posfay,B.(2016).*Antibiotiques pour traiter la pharyngite à Streptocoque chez les enfants en SUISSE est ce encore utile ?*.*Revue médicale SUISSE*, 12(506),334-337.
- 18** : Mallet, E. (1997). *Etiologie, expression clinique de l'angine. Médecine et Maladies Infectieuses*, 27(4), 418–423.
- 19** : Heikkinen,T., Järvinen, A. (2003). *The common cold. The Lancet*, 361(9351), 51–59.
- 20** : Pósfay Barbe,K.M., Barazzone-Argiroffo,C., Siegrist,C.A.( 2005). *Infections récurrentes des voies respiratoires inférieures de l'enfant : quand et comment les investiguer ?*. *Med Suisse*, 1 (30192)
- 21** : Taytard,A., Daures,J.P.,Arsac,ph.et al.(2001). *Prise en charge des infections respiratoires basses en médecine générale en France. Revue des Maladies Respiratoires*.18,(2), 163.
- 22** : Drieux, L. (2010). *Caractéristiques des infections respiratoires basses chez les sujets âgés. Antibiotiques*, 12(4), 190–196.
- 23** : YAHIAOUI,N.,OURARI,S.(2017). La résistance aux antibiotiques dans les infections respiratoires basses bactériennes en milieu hospitalier cas du CHU Khellil Amrane de Bejaïa.[en ligne] Mémoire de Master : Microbiologie en Secteur Biomédicale et Vétérinaire. Bejaïa : Université A. MIRA – Bejaia, 31p.
- 24** : Le Saux,N., Robinson,J.L(2011).*La pneumonie chez les enfants et adolescents canadiens en santé : des points de pratique pour la prise en charge. Paediatr Child Health*, 16(7), 421-424.
- 25** : Prescott, Harley, Klein et al. (2010). << Microbiologie>>. Italie : De Boeck. (1088 )
- 26** : Didier Lacombe.Comment soigner une broncho-pneumonie [En ligne].  
<https://sante.toutcomment.com/article/comment-soigner-une-broncho-pneumonie-1880.html>
- 27** : MediPedia L'encyclopédie des maladies. Quelles sont les causes de la bronchite aiguë? [En ligne]. <https://fr.medipedia.be/bronchite-aigue/causes/quelles-sont-les-causes-de-la-bronchite-aigue>

- 28** : Péan, Y. (2001). *Épidémiologie bactérienne, réalité de la surinfection bactérienne au cours de la bronchite aiguë de l'adulte sans pathologie respiratoire préexistante. Médecine et Maladies Infectieuses*, 31(4), 206–210.
- 29** : Ooreka santé. Bronchite bactérienne. [En ligne]. [https://bronchite .ooreka.fr/comprendre /bronchite-bacterienne](https://bronchite.ooreka.fr/comprendre/bronchite-bacterienne)
- 30** : Pierre, A., Bernard-Alex, G. (2018). Infections respiratoires aiguës. Diplôme de médecine tropicale des pays de l'océan indien. Institut de Médecine Tropicale : Université de Bordeaux.
- 31** : ELHELLA, N., LAHRECHE, S (2007). Etiologie bactériennes des infections respiratoires aiguës chez les enfants << cas de la région de METLILI >>. Etudes Supérieures en Biologie : Microbiologie. OUARGLA : UNIVERSITE KASDI MERBAH- OUARGLA. 41p.
- 32** : Mitchell, A. M., Mitchell, T. J. (2010). *Streptococcus pneumoniae: virulence factors and variation. Clinical Microbiology and Infection*, 16(5), 411–418.
- 33**: Hecini-hannachi, A (2014). *Streptococcus pneumoniae* dans les infections invasives : identification, résistance aux antibiotiques et sérotypage. thèse de doctorat : Microbiologie. Constantine : université de constantine1, 211.
- 34** : Algoud, M (2018). Concentrations minimales inhibitrices des beta-lactamines de *Streptococcus pneumoniae* en milieu liquide et par la méthode E-test comparaison de méthode, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : pharmacie. Université Aix Marseille, 164.
- 35** : Rieux, V. (2002). *Les facteurs de virulence de Streptococcus pneumoniae. Médecine et Maladies Infectieuses*, 32, 1–12.
- 36** : Kadioglu, A., Weiser, J. N., Paton, J. C., et al. (2008). *The role of Streptococcus pneumoniae virulence factors in host respiratory colonization and disease. Nature Reviews Microbiology*, 6(4), 288–301.
- 37** : DIALLO, T (2010). Typage et prévalence du gène EMM codant pour la protéine M de *Streptococcus pyogenes* : étude BGAS 2000 à Bamako au mali, Diplôme d'état : pharmacie. La Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie : Université de Bamako, 88.
- 38** : Bestandji, I., Madaci, H. (2016). Diagnostic des infections à *Streptococcus sp*, mémoire de Master : Génétique Moléculaire. constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 57.
- 39** : Valour, F., Chebib, N., Gillet, Y. et al. (2013). *Infections broncho-pulmonaires à Staphylococcus aureus. Revue de Pneumologie Clinique*, 69(6), 368–382.

- 40** : JOCELYN BERNIER,L(2015).Prévalence et caractérisation de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthiciline d'origine aviaire au Québec, Mémoire : médecine vétérinaire. Faculté de médecine vétérinaire : université de Montréal, 136.
- 41** : CHIBI,A(2015). Evaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* isolées de CHU Tlemcen, Mémoire de Master : Microbiologie. Tlemcen : UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMEN, 62.
- 42** : DIAKHATE, A.(2011). Infections respiratoires basses nosocomiale d'origine bactérienne : étude bactériologique et sensibilité aux antibiotiques, master : biotechnologie microbienne. Université Sidi Mohammed Ben Abdallah, 94.
- 43** : Dumitrescu, O. Dauwalder, O. Boisset, O. *et al.*(2010). *Résistance aux antibiotiques chez Staphylococcus aureus*, 26(11),943-949.
- 44** : Valour, F., Chebib, N., Gillet, Y. *et al.* (2013). *Infections broncho-pulmonaires à Staphylococcus aureus. Revue de Pneumologie Clinique*, 69(6), 368–382.
- 45** : TIECOURA,B.(2011). Etude de l'infection à *Haemophilus influenzae* type b en 2008 après l'introduction du vaccin anti *Haemophilus influenzae* type b chez les enfants de 0-15 ans hospitalisés dans le service de pédiatrie du CHU GABRIEL TOURE. Thèse de médecine : Médecine. Faculté de Médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie : université mali, 104.
- 46** : SARR, E (2002). Les déterminants de virulence des souches d'*haemophilus influenzae* non b à l'origine d'infection respiratoire, thèse pour diplôme d'état :pharmacie . université Cheikh Anta Diop,48.
- 47** : Christiane, Y.E(2013). Étude épidémiologique de souches de *Pseudomonas aeruginosa* responsables d'infections et de leurs bactériophages pour une approche thérapeutique, thèse de doctorat : science agricole. La commission d'examen : université Paris sud, 239.
- 48**: Bentzmann, S.,Plésiat, P. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: Une virulence complexe. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2011(435), 73–81.
- 49** : Ben Haj Khalifa,A.,Moissenet,D.,Vu Thien, H. *et al.* (2011). Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes et modes de régulations, 69(4),393-399.
- 50**: Berthelot, P., Grattard, F., Mallaval, F. O.,*et al.* (2005). Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie Biologie*, 53(6), 341–348.

**51** : GANGOUE PIEBOJI, J. (2007). Caractérisation des Beta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales, Thèse de doctorat : ès science en biochimie. Université de Liège, 104.

**52** : Bébéar, C.-M. (2007). *Physiopathologie et diagnostic des infections à Mycoplasma pneumoniae*. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 47(7), 438–441.

**53** : Sunder, K., Malay, S. (2010). *Mycoplasma pneumoniae: Clinical features and management*. *Lung India*, 27(2), 75–85.

**54** : GUEYE, N.M. (2002). Données microbiologiques sur Mycoplasma Pneumoniae et Chlamydia Pneumoniae à l'origine d'infections respiratoires basses, [En ligne]. Thèse pour Diplôme d'état : Pharmacie. Université Cheikh Anta Diop De Dakar, 52.

**55** : BOYER CHAMMARD, T.A.P. (2013). Lutte contre les bactéries multi-résistantes en ville : Etat des lieux et moyens mis en œuvre après une hospitalisation, Thèse pour le diplôme d'Etat : médecine. UNIVERSITÉ PARIS DIDEROT - PARIS 7, 90.

**56** : Philippon, A. (2013). *Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE)*. *Immuno-Analyse & Biologie Spécialisée*, 28(5-6), 287–296.

**57** : ZRIYRA, N. (2013). Profil épidémiologique des bactéries responsables des infections respiratoires basses à l'exception des Mycobactéries diagnostiquées au CHU Ibn Sina de Rabat, Thèse de doctorat : pharmacie. Université Mohammed V-Suissi, 128.

**58** : Grosjean, J., Clavé, D., Archambaud, M et al. (2011). << Bactériologie et virologie pratique >>. Belgique : De Boeck. (290)

**59** : Organisation mondiale de la santé bureau régional de l'EUROPE. La résistance aux antibiotiques [en ligne] <http://www.euro.who.int/fr/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/antibiotic-resistance?fbclid=IwAR1KHuMwhBqipm-aj5oCQ0twqSZU0Qnql6Ob4m7amDw69JiXYG2tEwpEjn0>

**60** : Inserm. Résistance aux antibiotiques : Un phénomène massif et préoccupant [en ligne]. [https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/resistance-antibiotiques?fbclid=IwAR0SKTs8cVMKaTHItBfu3acHkzZWDbROmJvxaBbv62rjOBW9nmO\\_AcdqU0](https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/resistance-antibiotiques?fbclid=IwAR0SKTs8cVMKaTHItBfu3acHkzZWDbROmJvxaBbv62rjOBW9nmO_AcdqU0)

**61** : Organisation mondiale de la santé. Résistance aux antimicrobiens [En ligne].  
[https://www.who.int/antimicrobial-resistance/global-action-plan/infection-prevention-control/fr/?fbclid=IwAR2Ybwz02liYnZDLCZvOG6ub4GkxQ\\_rP3GRB\\_WdunXxSeuM0NVDCVIN5ANc](https://www.who.int/antimicrobial-resistance/global-action-plan/infection-prevention-control/fr/?fbclid=IwAR2Ybwz02liYnZDLCZvOG6ub4GkxQ_rP3GRB_WdunXxSeuM0NVDCVIN5ANc)

**62** : Assistance scolaire personnalisée. L'anatomie de l'appareil respiratoire. (2019). [shéma] **IN** : *Anatomie et histologie de l'appareil respiratoire*. Disponible sur :  
[https://www.assistancescolaire.com/eleve/TST2S/biologie/reviser-le-cours/anatomie-et-histologie-de-l-appareil-respiratoire-tst2s\\_bio\\_01](https://www.assistancescolaire.com/eleve/TST2S/biologie/reviser-le-cours/anatomie-et-histologie-de-l-appareil-respiratoire-tst2s_bio_01)

**63** : Pocket dentistry. Nasopharynx, oropharynx, and laryngopharynx. (2010). [Schema] **IN**: *8. Anatomy and Physiology of Respiration and Airway Management*. Disponible sur:  
<https://pocketdentistry.com/8-anatomy-and-physiology-of-respiration-and-airway-management/>.

**64** : Santé et les soins infirmiers. Les cartilages de larynx. (2015). [schema] **IN** : *Anatomie de larynx*. Disponible sur : <https://infirmier-freedom.blogspot.com/2015/05/anatomie-de-larynx.html> .

**65** : Laboratoire français du E-liquide. Schéma des voies respiratoires inférieures, l'arbre bronchique. (2016). [schéma] **IN** : *LES COMPOSÉS ALPHA DICARBONYLÉS ET LEUR UTILISATION EN VAPOLOGIE : CAS DE L'ACÉTOÏNE*. Disponible sur :  
<https://www.lfel.fr/fr/publications-scientifiques/les-composes-alpha-dicarbonyles-et-leur-utilisation-en-vapologie-cas-de-lacetoine/>

**66** : société canadienne du cancer. Structure des poumons. (2019) [shéma]. **IN** : *Les poumons - Société canadienne du cancer*. Disponible sur : <https://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/lung/lung-cancer/the-lungs?region=on>

**67** : Abid,F, Boutefnouchet,N , Dekhil,M, *et al*(2007). *Klebsiella pneumoniae* prodctrice de *beta-lactamase à spectre élargie(BLSE)* isolées dans les hôpitaux de la ville de Annaba, Algérie. *Scientific study and research*, VIII(2), 199-214.

68 : OMS. (2011). Standardisaton de l'antibiogramme à l'échelle nationale : Médecine humaine et vétérinaire. [En ligne]. [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwjDq4X0qaXjAhVKAWMBHVqIAMsQFjAAegQIBRAC&url=http%3A%2F%2Fwww.sante.dz%2Faarn%2Fstand6ed.pdf&usg=AOvVaw34GzbfO-7rxMk\\_iXuPjHrF](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwjDq4X0qaXjAhVKAWMBHVqIAMsQFjAAegQIBRAC&url=http%3A%2F%2Fwww.sante.dz%2Faarn%2Fstand6ed.pdf&usg=AOvVaw34GzbfO-7rxMk_iXuPjHrF)

Année universitaire : 2018/2019

Présenté par : GHELLAM RACHA  
GHELLAM RAYENE

La recherche et l'identification des bactéries pathogènes impliquées dans les infections respiratoires au niveau de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie moléculaire des micro-organismes.

Les infections des voies respiratoires sont les principaux types d'infections responsables de décès, environ 3,9 millions par an.

L'infection respiratoire est une affection qui touche l'une des structures composant le système respiratoire, à savoir le nez, les oreilles, la gorge, le larynx, la trachée, les bronches ou les poumons.

Dans notre mémoire nous avons réalisé une étude sur 51 patients hospitalisés et externes d'âge différent à l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine dans une période allant du mois de mars 2019 au mois mai 2019.

L'examen bactériologique des différents prélèvements (23 crachats, 15 liquides pleuraux, 10 prélèvements distaux protégés, un prélèvement bronchique distal, un prélèvement nasal et un prélèvement de gorge) provenaient des différents services (pédiatrie, réanimation, pneumologie, néphrologie, ORL, médecine interne et chirurgie générale) a permis d'isoler et identifier les bactéries suivantes : *Pseudomonas aeruginosa* (40,625%), *Staphylococcus aureus*(21,875%), *Acinetobacter sp*(6,25%), *Haemophilus sp* (6,25%), *Staphylococcus à coagulase négatif*(6,25%), *Streptococcus pyogenes du groupe A* (3,125%), *E.coli*(3,125%), *Klebsiella pneumoniae*(3,125%), *Streptococcus α-hémolytique* (3,125%), *Citrobacter freundii*(3,125%), et *Acinetobacter calcoaceticus*(3,125).

Quatres bactéries BLSE sont retrouvées incluant trois souches d'*Acinetobacter* résistantes au Céfotaxime, une souche d'*E. coli* résistante aux bêta-lactamines et sensible à l'Imipénème.

Les enfants sont les plus infectés par les pathogènes respiratoires (65,63%), la catégorie masculine prédomine la catégorie féminine avec un pourcentage de 59,37% contre 40,63%. Ces infections sont parmi les plus fréquentes des infections acquises à l'hôpital et peuvent être prévenues par la vaccination.

**Mots clés :** Infections respiratoires, bactéries pathogènes, pathogénicité, Identification.

**Laboratoire de recherche :** laboratoire de bactériologie de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine.

Jury d'évaluation :

**Présidente du jury :** Mme: SEKHRI.N (MCA - UFM Constantine).

**Rapporteur :** Mme : BOUZERAIB.L (MAA - UFM Constantine).

**Co-rapporteur :** Mr : MEZIANI.A (Médecin spécialiste, MA en microbiologie médicale).

**Examinatrice :** Mme : MEZIANI.M (MAA- UFM Constantine).

**Date de soutenance :** 30/06/2019