



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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

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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**Département : Biologie Appliquée**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**  
**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Filière : Science Biologique**  
**Spécialité : Microbiologie et Hygiène Hospitalière**

Intitulé :

---

***Etude Bactériologique et Epidémiologique des Bactéries  
Multirésistantes au niveau du Service de Réanimation de l'Hôpital  
Militaire Régionale Universitaire de Constantine (HMRUC)***

---

**Présenté et soutenu par : BENMERZOUG NESRINE**

**Le : 15/09/2020**

**BOUKERMA RANDA**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** M<sup>me</sup> OUIBRAHIM A. (Maitre de conférences B – UFM Constantine)

**Rapporteur :** M<sup>me</sup> BETAICHE I. (Maitre de conférences B – UFM Constantine)

**Examinatrice :** M<sup>me</sup> KHELILI K. (Maitre de conférences B – UFM Constantine)

**Maitre de stage :** Mr KHMISSE (Médecin Maître assistant – HMRUC)

***Année universitaire  
2019-2020***

# Remerciements

Avant tout, nous remercions le grand Dieu le tout puissant qui nous a donné la force, le courage, la santé et de nous avoir permis d'arriver à ce stade-là. Et nous voulions qu'il soit fait purement pour son visage.

Nous souhaitant adresser nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Madame **BETAICHE Insaf** Maître de conférences B à l'Université des Frères Mentouri de Constantine on est fiers et très reconnaissantes du grand honneur que vous nous faites en acceptant de nous encadrer. Votre compétence, vos précieux conseils et votre aide durant toute la période du travail et vos qualités humaines suscitent notre grande admiration.

Nous remercions également Dr. **KHELILI Kouatar** Maître de conférences B, enseignante au département de Biologie Appliquée. Pour avoir accepté d'Examiner ce travail.

Nous tenons aussi à remercier profondément les membres du jury, Madame **OUIBRAHIM Amira** qui nous a fait l'honneur de présider notre jury. On remercie Mr **KACEM CHAUCHE N** chef du département de Biologie Appliquée qui nous a acceptées parmi ses étudiants en master. Ainsi à **Mr KHMISSE S.** médecin biologiste à l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine

Enfin nous remercierons toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Nous remercierons s'adressent à tous nos enseignants qui nous a aidés de près ou de loin et **Dr DJOUDI B.** qui n'a pas cessé de nous aider lors de la réalisation de ce modeste travail.

*Nesrine et Randa*

# Dédicace

## Je dédie ce travail

A mon cher *papa*, le premier et le dernier homme de ma vie, qui toujours garni mon chemin avec force et lumière.

A ma très chère *maman*, l'être le plus cher sur terre qui m'a tout donné sans compter elle trouve ici l'hommage de ma gratitude qui si grande qu'elle puisse être, ne sera pas à la hauteur de ses sacrifices et ses prières pour moi.

Puisse Dieu tout puissant vous garder et vous procurer de santé et de bonheur  
A mon grand frère et mon bras droit *Mouloud* qui ne cesse jamais de m'écouter et m'encourager tout au long de mon parcours universitaire, merci pour ta confiance à moi.

A mes très chères soeurs *Ismahane* et *Marwa* et ma belle soeur *Souly*  
A mes très chers frères *Isslem* et *Houssem* et mon beau-frère *Amar*  
Pour leur aide et leur générosité je vous souhaite plein de joie et de succès  
A mes anges : *Iyade*, *Yanisse*, *NourLine* et *Achref*  
Que Dieu vous garde et illumine vos chemins.

A mes chères amis *Anis*, *Narimane*, *Rayane* et *Nesrine* merci pour votre présence à côté de moi merci pour vos encouragements et surtout merci pour les bons moments qu'on avait partagés ensemble

*Nesrine*

# Dédicace

A mes chers parents :

**Maman**, je vous remercie pour m'avoir soutenue, d'avoir cru en moi et pour m'avoir encouragée toutes les années universitaires. Vous m'avez donné tant d'amour qui suffit nourrir la terre entière.

Je vous remercie du fond du cœur pour l'éducation, les principes et les valeurs que vous m'avez transmis. J'espère que j'ai pu vous rendre fiers de moi.

**Papa**, je vous remercie pour la confiance que vous m'avez accordée.

Vous êtes les personnes les plus chères de mon monde, J'espère pouvoir vous rendre une petite de votre amour et de votre générosité.

A mon frère **Mostafa** et mes sœurs **Hadjer** et **Samia**

Mes beaux-frères **Yacine et Mounir**

A mes anges : **Mirale et djad**

Que Dieu vous garde et illumine vos chemins.

A mes chères amis **Narimane, Rayane, Nesrine** et **Marwa** merci pour votre présence à côté de moi merci pour vos encouragements et surtout merci pour les bons moments qu'on avait partagés ensemble

**Randa**

# ***TABLE DE MATIERE***

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
1. Les antibiotiques .....	3
1.1. Définition.....	3
1.2. Caractéristiques .....	3
1.3. Classification.....	4
1.3.1. Les critères de classification .....	4
1.3.2. Sites et mode d'action des antibiotiques.....	4
1.3.2.1. Antibiotiques agissant sur la paroi : (peptidoglycanes).....	4
1.3.2.2. Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique.....	5
1.3.2.3 Antibiotiques agissant sur la synthèse nucléique .....	5
1.3.2.4. Antibiotiques agissant sur la synthèse protéique.....	6
2. La résistance bactérienne .....	7
2.1. Définition de la résistance bactérienne.....	8
2.2. Les types de résistance .....	8
2.2.1. La résistance naturelle .....	8
2.2.2. La résistance acquise .....	8
2.2.2.1. Résistance chromosomique.....	8
2.2.2.2. Résistance extra chromosomique .....	9
2.3 Mécanismes de résistance.....	9
2.3.1. L'inactivation enzymatique .....	9
2.3.1.1. Les bêta-lactamases .....	10
2.3.1.2. Les estérases.....	10
2.3.2. Modification de la cible .....	10
2.3.3. Diminution de la perméabilité.....	11
2.3.4. Pompes à efflux.....	11

2.4. Emergence et sélection de la résistance.....	12
3. Les bactéries multi-résistantes... ..	12
3.1. Définition.....	12
3.2. Types des BMR.....	13
3.3. Les principaux BMR responsables des infections associées aux soins.....	13
3.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
3.3.1.1. Généralité.....	13
3.3.1.2. Situation épidémiologique dans le monde.....	13
3.3.1.3. Situation épidémiologique en Algérie.....	14
3.3.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	14
3.3.2.1. Généralités.....	14
3.3.2.2. Dynamique d'acquisition de souches multi-résistantes.....	15
3.3.2.3. Situation épidémiologique dans le monde.....	15
3.3.2.4. Situation épidémiologique en Algérie.....	16
3.3.3. <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	16
3.3.3.1. Généralités.....	16
3.3.3.2. Dynamiques d'acquisition des souches multi-résistantes.....	16
3.3.3.3. Facteur de virulence.....	16
3.3.3.4. Situation épidémiologique dans le monde.....	16
3.3.3.5. Situation épidémiologique en Algérie.....	17
3.3.4. Les entérobactéries productrices des bêta-lactamase à spectre étendu.....	17
3.3.4.1. Généralités.....	17
3.3.4.2. Situation épidémiologique dans le monde.....	17
3.3.4.3. Situation épidémiologique en Algérie.....	18
3.3.5. Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV).....	18
3.3.5.1. Généralités.....	18
3.3.5.2. Définition des Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV).....	19
a. Facteur de virulence.....	19
b. Risques liés aux Entérocoques résistant à la vancomycine (ERV).....	19
c. Situation épidémiologique dans le monde.....	19

d. Situation épidémiologique en Algérie .....	19
3.4. Les principaux BMR d'origine communautaire .....	20
3.4.1. <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	20
3.4.2. SARM d'origine communautaire .....	20
3.4.3. Bacille de la tuberculose .....	20
4. Les infections nosocomiales en réanimation .....	20
4.1. Définition des IN .....	21
4.2. Les sites d'infection.....	21
4.3. Caractéristiques .....	21
4.4. L'origine des germes en cause .....	21
4.5. Résistance aux antibiotiques des germes impliqués.....	22
4.6. Les conséquences d'IN .....	22
4.6.1. La morbidité .....	22
4.6.2. La mortalité .....	22
4.7. Les précautions standards des infections nosocomiales .....	23
4.7.1. Hygiène des mains.....	23
4.7.2. Port des gants .....	23
4.7.3. Masque.....	23
4.7.4. Tenue professionnelle .....	23

## **Matériel et méthodes**

1. Population de l'étude.....	24
2. Recueil des données .....	24
3. Prélèvements.....	24
3.1. Les analyses cytobactériologiques .....	24
3.1.1. Prélèvement distal protégé (PDP) .....	24
3.1.2. Hémoculture.....	26
3.1.3. Pus et liquides de ponction .....	27
3.1.4. Cathéter.....	29
4. L'identification bactérienne .....	30
4.1. Examen macroscopique .....	30
4.2. Examen microscopique.....	30

4.2.1. L'état frais .....	30
4.2.2. Bleu de Méthylène.....	30
4.2.3. La coloration de Gram .....	31
4.2.4. Identification biochimique après culture .....	31
4.2.4.1. Identification par les Galeries biochimiques miniaturisées .....	31
5. Test complémentaires de l'identification biochimique .....	33
5.1. Test à l'oxydase.....	33
5.2. Test catalase .....	33
5.3. Recherche de la coagulase .....	34
6. Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme ».....	34
6.1. Préparation de l'inoculum.....	34
6.2. Milieu d'ensemencement.....	35
6.3. L'ensemencement.....	35
6.4. Application des disques .....	35
6.5. Choix d'antibiotiques .....	35
6.6. Lecture des résultats .....	36

## **Résultats et discussions**

1. Prélèvement .....	37
2. Identification bactérienne .....	38
2.1. Aspect macroscopique .....	38
2.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	38
2.1.2. <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	38
2.1.3. Les entérobactéries .....	39
2.2. L'aspect microscopique .....	40
2.2.1. L'état frais .....	40
2.2.2. Coloration de Gram .....	41
3. Identification biochimique des souches.....	42
3.1. Test d'oxydase .....	42
3.2. Test de catalase .....	42
3.3. Test de coagulase .....	43

3.4. La galerie API 20 <sup>E</sup> .....	43
4. Détermination du profil d'antibiorésistance .....	44
• <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	45
• Les bactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu.....	46
• <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline.....	46
5. Profil épidémiologique des BMR : étude rétrospective .....	48
5.1. Prévalence globale des BMR .....	48
5.2. Prévalence des BMR selon le prélèvement.....	49
5.3. Prévalence des BMR selon le sexe.....	49
5.4. Répartition des BMR selon l'âge .....	50
5.5. Répartition selon le type d'espèce (BMR) isolé .....	51
5.6. Le profil de résistance des bactéries isolées aux antibiotiques .....	52
5.6.1. Profil de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	52
5.6.2. Profil de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	53
5.6.3. Profil de résistance de <i>Staphylococcus</i> .....	55
5.6.4. Profil de résistance des autres entérobactéries .....	55
5.6.5. Profil de résistance des <i>Enterococcus</i> .....	56
5.7. Taux de multirésistance au sein des espèces.....	57

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>AC</b>	Acide Clavulanique
<b>ADN</b>	Acide Désoxyribonucléique
<b>ADH</b>	Arginine déshydrogénase
<b>AMC</b>	Amoxicilline+AC
<b>AMX</b>	Amoxicilline
<b>AN</b>	Amikacine
<b>ATB</b>	Antibiotique
<b>ATM</b>	Aztréonam
<b>BLSE</b>	Béta-lactamase à spectre Elargi ou Etendu
<b>BK</b>	Bacille de la tuberculose
<b>BMR</b>	Bactérie multi résistante
<b>C</b>	Chlormphénicol
<b>C1G</b>	Céphalosporine de première génération
<b>C2G</b>	Céphalosporine de deuxième génération
<b>C3G</b>	Céphalosporine de troisième génération
<b>CAZ</b>	Ceftazidime
<b>CC</b>	Clindamycine
<b>CIP</b>	Ciprofloxacine
<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>CS</b>	Colistine
<b>CTX</b>	Cefotaxime
<b>E</b>	Erythromycine
<b>ERASR</b>	Réseau d'évaluation Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux
<b>B-ATB</b>	antibiotiques
<b>ERV</b>	Entérocoques résistants à la vancomycine
<b>ESP</b>	Enterococcal surface protein
<b>FOS</b>	Fosfomycine
<b>FQ</b>	Fluoroquinolones
<b>GM</b>	Gentamycine
<b>GN</b>	Gélose Nutritive
<b>H2S</b>	Sulfure d'hydrogène
<b>I</b>	Intermédiaire
<b>IAS</b>	Infection associée au soin
<b>IMP</b>	Imipénème
<b>IN</b>	Infection nosocomiale
<b>KT</b>	Cathéter
<b>L</b>	Lincomycine

<b>LDC</b>	Lysine-Décarboxylase^
<b>MH</b>	Muller-Hinton
<b>NA</b>	Acide nalidixique
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de santé
<b>OXA</b>	Oxacilline
<b>PDP</b>	Prélèvement Distale Protégé
<b>PIP</b>	Pipéracilline
<b>PLP</b>	Protéines liant les Pénicillines
<b>PN</b>	Poly nucléaires
<b>RAISIN</b>	Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales
<b>SARM</b>	Staphylococcus aureus résistante à la méticilline
<b>Sp</b>	Espèce
<b>VA:</b>	Vancomycine



## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01</b> : les antibiotiques ciblant la paroi bactérienne et leur mode d’action... ..	04
<b>Tableau 02</b> : les antibiotiques agissants sur la membrane cytoplasmique et leur mode d’action... ..	05
<b>Tableau 03</b> : les antibiotiques ciblant l’acide nucléique .....	06
<b>Tableau 04</b> : les antibiotiques agissant sur la synthèse protéique... ..	07
<b>Tableau 05</b> : les principaux BMR communautaires et hospitaliers.....	13
<b>Tableau 06</b> : Fréquence d’isolement des EBLSE par espèce bactérienne en Algérie -201... ..	18
<b>Tableau 07</b> : Caractères morphologiques des bactéries à l’état frais... ..	40
<b>Tableau 08</b> : Caractères biochimiques des souches des souches isolées.....	44
<b>Tableau 09</b> : Répartition des souches isolées selon le type de prélèvement.....	44
<b>Tableau 10</b> : Valeurs des diamètres des zones d’inhibition pour ABMR .....	45
<b>Tableau 11</b> : Valeurs des diamètres des zones d’inhibition pour BLSE .....	46
<b>Tableau 12</b> : Valeurs des diamètres des zones d’inhibition pour SARM.....	47
<b>Tableau 13</b> : Répartition des BMR selon la nature des prélèvements durant l’année 2019... ..	49

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01</b> : Mécanisme de l'inactivation enzymatique.....	09
<b>Figure 02</b> : Mécanisme de l'efflux actif.....	12
<b>Figure 03</b> : Pourcentage de souche résistante (SARM) par pays... ..	14
<b>Figure 04</b> : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , pourcentage des souches résistantes à la ceftazidime... ..	15
<b>Figure 05</b> : La galerie biochimique API 20 NE .....	32
<b>Figure 06</b> : Répartition globale des prélèvements .....	37
<b>Figure 07</b> : Aspect d'une culture de <i>Staphylococcus aureus</i> sur le milieu Chapman après 24h, incubation à 37 °C .....	38
<b>Figure 08</b> : Culture d' <i>Acinetobacter</i> sur milieu Hektoen... ..	39
<b>Figure 09</b> : Aspect d'une culture de <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur la gélose nutritive après 24 H d'incubation à 37 °C .....	39
<b>Figure 10</b> : Aspect macroscopique d'une culture d' <i>Enterobacter cloacae</i> sur GN... ..	40
<b>Figure 11</b> : Examen microscopique ( <b>Gx 100</b> ) d'un pus après coloration de Gram.....	41
<b>Figure 12</b> : Résultats de l'oxydase .....	42
<b>Figure 13</b> : Apparition des bulles d'oxygène dans le cas d'une catalase positive... ..	42
<b>Figure 14</b> : Mise en évidence de la coagulase libre chez <i>Staphylococcus aureus</i> .....	43
<b>Figure 15</b> : Résultat de l'identification d' <i>Acinetobacter</i> sp... ..	43
<b>Figure 16</b> : Antibiogramme d'une souche d'ABMR.....	45
<b>Figure 17</b> : Antibiogramme d'une souche de <i>Klebsiella</i> .....	46

<b>Figure 18</b> : Antibiogramme d'une souche de SARM.....	47
<b>Figure 19</b> : Prévalence globale des BMR .....	48
<b>Figure 20</b> : Répartition des BMR selon le sexe .....	50
<b>Figure 21</b> : Répartition des BMR selon l'âge .....	50
<b>Figure 22</b> : Type des BMR isolées.....	50
<b>Figure 23</b> : Répartition des souches d'entérobactéries.....	52
<b>Figure 24</b> : Profil de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	52
<b>Figure 25</b> : Profil de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	54
<b>Figure 26</b> : Profil de résistance de <i>Staphylococcus</i> .....	55
<b>Figure 27</b> : Profil de résistance des entérobactéries .....	56
<b>Figure 28</b> : Profil de résistance des Enterococcus.....	57
<b>Figure 29</b> : Taux de multirésistance au sein des espèces (tous les prélèvements confondus) .....	57



# ***INTRODUCTION***

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections et leur développement a révolutionné le traitement de ces maladies. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et sont devenues résistantes aux antibiotiques. Cette situation apparaît particulièrement préoccupante au milieu hospitalier et le nombre de bactéries résistantes est en croissance permanente ce qui provoque de plus en plus l'émergence de nouvelles résistances (Nouri et Ziadi, 2015).

La multirésistance bactérienne aux antibiotiques est l'image la plus grave de la résistance car elle réduit les possibilités thérapeutiques et se traduit dans la pratique hospitalière par une augmentation de la morbidité et parfois de la mortalité, ainsi qu'une conduite vers l'impasse thérapeutique qui représente un problème primordial (Cosgrove et al., 2003).

Les services de réanimation sont très largement concernés par ce phénomène qui complique notamment la prise en charge des patients admis à cause de leurs pathologies sévères et leur grande fragilité. Bien que les mécanismes conduisant à ces résistances soient multiples, la pression de sélection exercée par l'antibiothérapie massive reste le principal facteur responsable (Piednoir et al., 2000).

L'épidémiologie des infections à BMR varie considérablement d'un service à l'autre, d'un hôpital à un autre et d'une région à l'autre. Actuellement, les BMR qui font l'objet d'une surveillance particulière sont : les entérobactéries sécrétrices de Béta-lactamase à spectre étendu (EBLSE), l'*Acinetobacter baumannii* multirésistant, le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), et le *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant (SFAR et SRLF, 2009).

C'est dans ce contexte que nous avons choisi ce sujet, pour étudier la sensibilité de ces germes (BMR) vis-à-vis quelques antibiotiques. Cette recherche comporte deux parties prospective (de l'année 2020) et rétrospective (de l'année 2019). Elle a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie et parasitologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine « COMMANDO BENBAATOUCHE ABDELALI ». Les objectifs de cette étude visent :

- L'isolement et l'identification des BMR retrouvées dans des prélèvements (des patients du service de réanimation), reçus au niveau du laboratoire de microbiologie et parasitologie.

- La détermination de leurs profils de sensibilité et de résistance aux antibiotiques par antibiogramme.

# ***SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE***

## 1. Les antibiotiques

### 1.1. Définition

Un antibiotique est défini comme toute substance chimique produite par des micro-organismes ayant le pouvoir d'inhiber (action bactériostatique) et/ou même de détruire les bactéries (action bactéricide) (Calhoun et al., 2020). Selon Turpin et Velu (1957) un antibiotique est défini comme :

**"Tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimio thérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des microorganismes ou même de certaines êtres pluricellulaires".**

Ce sont à l'origine des agents antibactériens d'origine :

#### - **Biologique :**

Élaborés par 20% des champignons (*Penicillium...*), 70% proviennent d'actinomycètes microfilaments dont le genre *Streptomyces* est un producteur majeur d'antibiotique exemple les tétracyclines, 10% des bactéries (Non actinomycètes) en particulier des genre *Bacillus* et *Pseudomonas* (Saadaoui, 2008).

#### - **Hemisynthétique :**

D'origine biologique ils ont été modifiés par l'industrie pharmaceutique pour améliorer leurs propriétés.

#### - **Synthétique :**

Ils n'ont aucun équivalent dans la nature exemple des quinolones (Fazern et al., 2016).

### 1.2. Caractéristiques

Les antibiotiques sont caractérisés par :

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

### 1.3. Classification

#### 1.3.1. Les critères de classification

Les antibiotiques ayant une même structure chimique, à l'origine de leur mécanisme d'action se classent dans une même famille. Au sein de cette dernière, les antibiotiques peuvent se différencier par leur spectre d'activité et sont réunis alors dans des groupes. Au sein d'un même groupe, l'activité antibactérienne est identique mais les antibiotiques peuvent se différencier par leurs propriétés pharmacologiques ou leurs tolérances (**Ramdani, 2009**).

#### 1.3.2. Sites et mode d'action des antibiotiques

Quatre grands modes d'action des antibiotiques sont distingués :

##### 1.3.2.1. Antibiotiques agissant sur la paroi : (peptidoglycanes)

Les antibiotiques interférant avec la biosynthèse du peptidoglycane n'auront aucune action sur les bactéries naturellement dépourvues de paroi (exemple des mycoplasmes) (**Dauvergne, 2018**). Le tableau 01 représente les différentes familles d'antibiotiques qui ciblent la paroi et leurs modes d'action.

**Tableau 01** : Les antibiotiques ciblant la paroi bactérienne et leur mode d'action.

Famille	Groupe	Exemple d'antibiotiques	Mode d'action
<b><math>\beta</math>-lactamines</b>	<b>Pénames</b>	Ampicilline Amoxicilline	Agissent sur la synthèse de la paroi bactérienne, le cycle $\beta$ -lactame se lie de manière covalente et irréversible au site actif de l'enzyme qui est responsable de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane et cause son inactivation ( <b>Benmesmoudi, 2015</b> ).
	<b>Pénèmes</b>	Imipenème	
	<b>Oxapénames</b>	Amoxicilline+Acide Clavulanique	
	<b>Céphèmes</b>		
		Céfoxitine	
	<b>Monobactames</b>	Aztréonam	

<b>Glycopeptides</b>		Vancomycine	En bloquant la polymérisation du peptidoglycane par un mécanisme complexe ( <b>Preya et al., 2007</b> ).
<b>Non classé</b>		Fosfomycine	Il agit au début de la synthèse du peptidoglycane aux chaînes glucidiques. Il se fixe de manière covalente sur une enzyme impliquée dans la formation de l'acide N- acétyl-muramique ( <b>Georgea,1985</b> ).

### 1.3.2.2 Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique

En raison de la similitude entre les membranes bactériennes et celles des cellules eucaryotes, seul un nombre restreint de molécules antibiotiques, dans cette catégorie, a trouvé une utilisation en thérapeutique humaine (**Battraud et Willand, 2017**). Le tableau 02 représente les différentes familles d'antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique et leurs modes d'action.

**Tableau 02** : Les antibiotiques agissants sur la membrane cytoplasmique et leur mode d'action.

<b>Famille</b>	<b>Antibiotique</b>	<b>Mode d'action</b>
<b>Polymixine</b>	Polymixine B Colistine	Elles se fixent sur les phospholipides, et perturbent ainsi les transferts transmembranaires de nutriments et inhibent les phosphorylations oxydatives du métabolisme énergétique ( <b>Dauvergne, 2018</b> ).

### 1.3.2.3 Antibiotiques agissant sur la synthèse nucléique

Ces antibiotiques ciblent, particulièrement, les phases de réplication ou de transcription de l'ADN (**Battraud et Willand, 2017**). Le tableau 03 représente les familles qui agissent sur l'acide nucléique ainsi leurs modes d'action.

**Tableau 03** : Les antibiotiques ciblant l'acide nucléique.

Famille	Antibiotique	Mode d'action
<b>Quinolones et Fluoroquinolones</b>	Acide nalidixique,  Ciprofloxacin	Ils agissent sur deux enzymes impliquées dans cette synthèse :  <b>ADN gyrase</b> (cible principale des Bactéries à gram négatif) il forme un complexe ADNgyrase-Quinolones qui vont bloquer la progression de l'ADN polymérase bactérienne au cours de la réplication ( <b>Hooper, 2001</b> ).  <b>ADN topo- isomérase IV</b>  L'interaction entre l'ADN, quinolone et topoisomérase stimule la coupure de L'ADN et inhibe la relégation ( <b>Hooper, 2001</b> ).
<b>Rifamycines</b>	<b>Rifamycine</b>	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARNm par inhibition de l'ARN polymérase ( <b>Krir et al., 2019</b> ).
<b>Nitrofuranes</b>	Nitrofurantoin	Elles agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases) ( <b>Mohammedi, 2007</b> ).

#### 1.3.2.4. Antibiotiques agissant sur la synthèse protéique

Plusieurs familles d'antibiotiques inhibent la synthèse des protéines en agissant préférentiellement soit sur la sous-unité 30S soit sur la sous-unité 50S des ribosomes. Le tableau 04 représente les antibiotiques ciblant la synthèse protéique (**Krir et al., 2019**)

**Tableau 04** : Les antibiotiques agissant sur la synthèse protéique.

<b>Famille</b>	<b>Antibiotiques</b>	<b>Mode d'action</b>
<b>Aminosides</b>	Streptomycine Kanamycine Gentamicine	Ils se fixent sur la Sous unité 30S du ribosome ou ils s'interfèrent avec la synthèse des protéines ( <b>Lambert, 1997</b> ).
<b>Macrolides- Lincosamides- Streptogramines(MLS)</b>	Spiramycine Lincomycine Pristinamycine	Ils agissent au niveau de la S/unité 50S du ribosome. De plus, Ils inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique en formation ( <b>Benoit, 2015</b> ).
<b>Tetracyclines</b>	Oxytetracycline  -Doxycycline  -Glycylcyclines	Ils agissent au niveau de la sous unité 30S du ribosome en inhibant la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, et en empêchant la fixation de l'aminoacyl-ARNt. ( <b>Krir et al., 2019</b> ).
<b>Phénicolés</b>	Chloramphénicol Thiamphénicol	Inhibition de la peptidyl-transférase, en se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien ( <b>Lambert, 1997</b> ).
<b>Oxazolidinones</b>	Linézolide	Ils se fixent sur la sous unité Ribosomale 50S et empêche sa liaison à la sous unité 30S ( <b>Lambert, 1997</b> ).

## 2. La résistance bactérienne

Au cours des dernières années la fréquence est l'ampleur des infections causées par des bactéries résistantes ont augmenté autant en milieu hospitalier quand milieu communautaire (**Conly, 2002**).

## 2.1. Définition de la résistance bactérienne

Une souche bactérienne est considérée résistante à un antibiotique donné, lorsqu'elle est capable de croître en présence de cet antibiotique, à une concentration significativement plus élevée que celle normalement active sur les souches sensibles de cette espèce (Avron, 2001). Dans le domaine médical, une souche bactérienne est considérée résistante si le traitement antibiotique appliqué ne peut permettre d'atteindre une concentration sanguine de l'antibiotique au moins égale à sa concentration minimale inhibitrice (CMI) (Batraud et Willand, 2017).

## 2.2. Les types de résistance

### 2.2.1. La résistance naturelle

Appelée aussi résistance intrinsèque est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce (Debebza, 2015). Elle fait, donc, partie de patrimoine génétique normal du germe cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible ou encore son absence pour l'ATB. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à gram négatif à la vancomycine est naturelle. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique (Dali Ali, 2015).

### 2.2.2. La résistance acquise

Les bactéries peuvent se développer de la résistance à un ATB préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être deux types : Résistance chromosomique (spontanée) et extra chromosomique (Lozniewski et al., 2010).

#### 2.2.2.1. Résistance chromosomique

La résistance chromosomique résulte d'une mutation qu'est peu répandue en clinique (moins de 20% des résistances acquises). Ce type de résistance présente les caractères suivants :

- Spontanées : elles préexistent à l'utilisation de l'antibiotique.
- Stables : elles se transmettent verticalement dans le clone bactérien.
- Spécifiques : elles n'intéressent qu'un antibiotique ou qu'une seule famille d'antibiotiques.

- Rares : le taux de mutation se situe habituellement entre  $10^{-7}$  et  $10^{-8}$  (Muller, 2017).

### 2.2.2. Résistance extra chromosomique

Les résistances extra-chromosomiques sont fréquentes (plus de 80% des résistances acquises), et contagieuses (Lozniewski et al., 2010). Les supports de ces résistances peuvent être des plasmides qualifiés plasmides R ou des transposons acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction. Ces résistances se transmettent horizontalement entre bactéries cohabitantes, même d'espèces différentes (Muller, 2017). Du fait que les plasmides R codent le plus souvent pour plusieurs résistances aux antibiotiques, appartenant à des familles différentes (Debebza, 2015).

## 2.3. Mécanismes de résistance

Les mécanismes principaux qu'utilisent les bactéries pour résister à l'action d'un antibiotique sont de quatre types :

### 2.3.1. L'inactivation enzymatique

C'est un mode de résistance acquis qui consiste à détruire les molécules d'antibiotiques soit à l'extérieur ou à l'intérieur de la bactérie par la production d'enzymes (Touiti, 2016). Cette dernière va modifier le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, et d'empêcher la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et donc provoquer une perte d'activité (figure 01) (Muylaert., 2012).

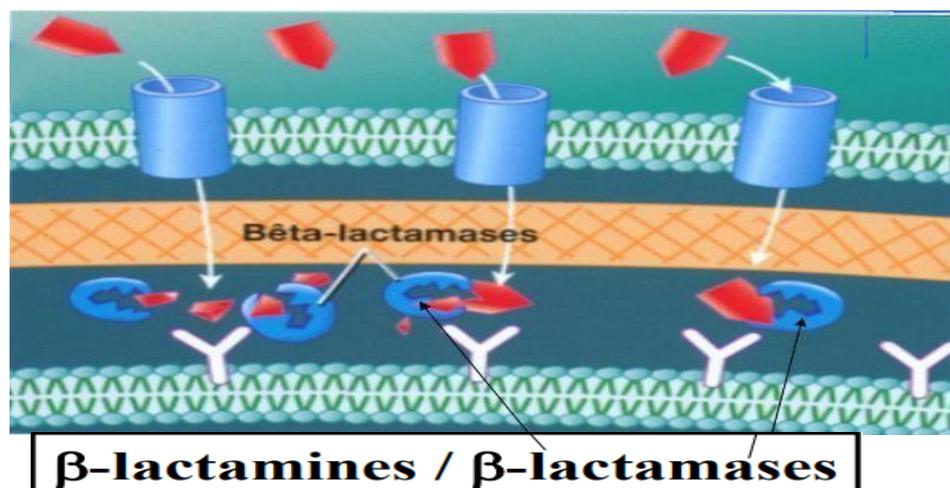


Figure 01 : Mécanisme de l'inactivation enzymatique (Archambaud, 2009).

### 23.1.1. Les bêta-lactamases

Les  $\beta$ -lactamases sont des enzymes hydrolysant les  $\beta$ -lactamines en ouvrant le cycle bêta-lactame et menant à la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique en question (**Ambler, 1991**). Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries Gram négatif (**Georgea, 1985**).

- **Pénicillinase** : hydrolyse La pénicilline. Les gènes codants sont essentiellement des plasmides (SHV-1 produit par *K. pneumoniae* d'origine chromosomique) (**Maamar et al., 2019**).
- **Céphalosporinase** : hydrolyse principalement les céphalosporines, une fois hyperproduites, elles peuvent hydrolyser les céphalosporines 3<sup>ème</sup> génération (C3G) (**Avron, 2001**). Les céphalosporinases de type AmpC sont résistantes aux inhibiteurs des bêta-lactamase (**Bonomo, 2005**).
- **Bêta lactamase à spectre étendu (BLSE)** : Classiquement les BLSE sont définies comme des enzymes capables d'hydrolyser les pénicillines, C1G, C2G, C3G et C4G et l'aztréonam. Elles hydrolysent les C3G (la ceftazidime, le céfotaxime) ou l'aztréonam au moins 10 % plus activement que la pénicilline. Elles n'hydrolysent pas les carbapénèmes et sont inhibées in vitro par les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, tazobactam et sulbactam) (**Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006**).

La majorité des BLSE sont dérivées de mutations ponctuelles dans la séquence génétique codant pour le site actif des  $\beta$ -lactamases TEM-1 et SHV-1.

### 23.1.2. Les estérases

De découverte récente, elles ne sont actives que sur les céphalosporines par hydrolyse de la chaîne latérale, et sont inactives sur les pénicillines (**Ferrari, 2015**).

### 2.3.2. Modification de la cible

Chaque antibiotique agit en se fixant sur une cible précise dans la cellule (comme la liaison des pénicillines sur les PLP) (**Eddayab, 2012**). La présence d'une modification de la cible peut empêcher ainsi la liaison de l'antibiotique. En termes de résistance acquise, on peut observer une modification partielle de la nature de la cible (modification chimique par méthylation), une

modification du nombre (hyperproduction ou suppression de cible), un changement total (nouvelle cible) ou parfois une association de plusieurs mécanismes (Gutmann *et al.*, 2010)

### **2.3.3. Diminution de la perméabilité**

Au sein des bactéries Gram négatives, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées porines (Allali *et al.*, 2015).

La membrane externe de certaines bactéries telles que *Pseudomonas aeruginosa* est moins perméable que celle d'autres espèces, ce qui lui confère un niveau moins élevé de sensibilité aux antimicrobiens. En outre, des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques (Muylaert, 2012). Citons comme exemple, la fosfomycine qui pénètre dans le cytoplasme des bactéries par l'intermédiaire du système de transport des glycérophosphates. Des mutations au niveau de ce système de transport entraînent la résistance à la fosfomycine (Nauciel et Vildé, 2005).

### **2.3.4. Pompes à efflux**

L'efflux actif, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques (figure 2). Ces transporteurs actifs jouent généralement un rôle dans la résistance naturelle, sous l'effet de mutation leur niveau d'expression peut s'augmenter et faire apparaître une résistance acquise pouvant toucher simultanément plusieurs famille d'ATB (Muylaert, 2012). La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (Nauciel et Vildé, 2005).

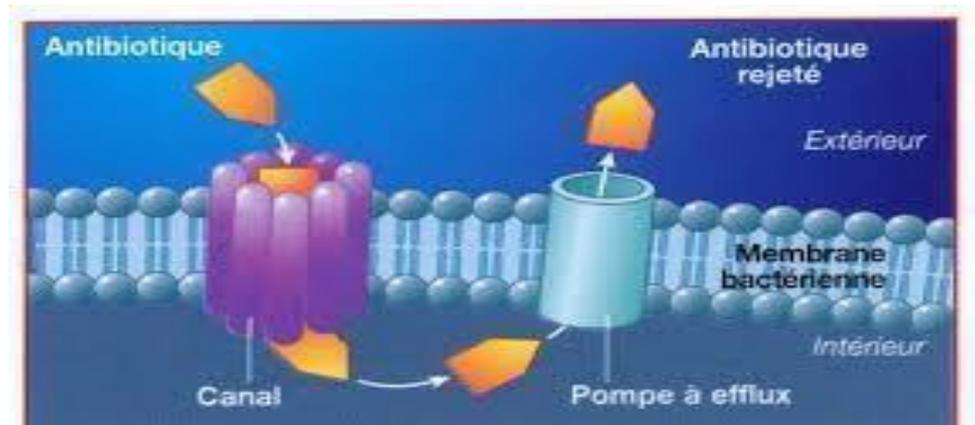


Figure 02 : Mécanisme de l'efflux actif (Archambaud, 2009).

## 2.4. Émergence et sélection de la résistance

L'émergence et la sélection de la résistance aux antibiotiques en population est le résultat d'une combinaison des mécanismes intervenant à plusieurs niveaux : à l'échelle de la bactérie (évolution génétiques des bactéries et acquisition de nouveaux mécanismes de résistance, coût biologique associé à la résistance), à l'échelle de la population bactérienne en interaction avec l'hôte (sélection des souches résistantes après exposition aux antibiotiques, compétition entre les souches, immunité naturelle ou acquise) et à l'échelle de la population d'individus (transmission directe ou indirecte, pression de sélection antibiotique, pression de colonisation) (Clotilde Couderc, 2015).

## 3. Les bactéries multi-résistantes

### 3.1. Définition

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (Dali Ali, 2015).

La multirésistance concerne les bactéries responsables d'infections communautaires à l'exemple des pneumocoques ou les bacilles de la tuberculose et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins. Certaines résistances sont particulièrement importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène. C'est le cas des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (EBLSE) (RAISIN, 2012).

### 3.2. Types des BMR

La multirésistance concerne les bactéries responsables d'infections communautaires (ex : pneumocoques, bacilles de la tuberculose) et les bactéries responsables d'IN (Tableau 05) (Khiev et al., 2010).

**Tableau 05** : Les principaux BMR communautaires et hospitaliers.

Les principaux BMR communautaires	Les principaux BMR hospitaliers
<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Streptococcus pneumoniae</i></li> <li>- <i>Mycobacterium tuberculosis</i></li> <li>- SARM d'origine communautaire</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- SARM</li> <li>- <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> <li>- <i>Acinetobacter baumannii</i></li> <li>- BLSE</li> <li>- Les entérocoques résistants à la vancomycine</li> </ul>

### 3.3. Les principaux BMR responsables des infections associées aux soins

#### 3.3.1. *Staphylococcus aureus*

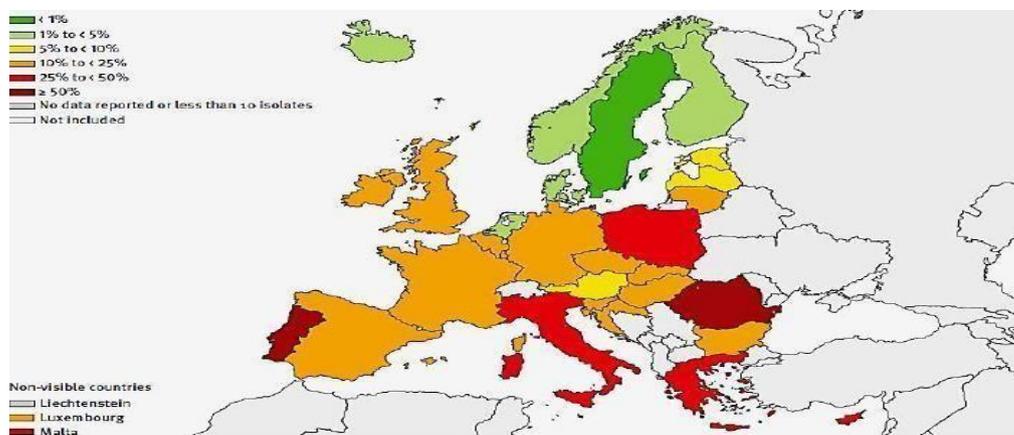
##### 3.3.1.1. Généralité

Est une bactérie sphérique (coque) aérobie anaérobie facultative à Gram positive, très résistante dans le milieu extérieur et peu exigeante en culture. C'est un staphylocoque à coagulase positive, qui est un germe naturellement sensible à toutes les bêta-lactamines. La résistance à la méticilline de *Staphylococcus aureus* est due à l'acquisition d'une nouvelle PLP (Protéines liant les Pénicillines)., la PLP2a pour laquelle les bêta-lactamines n'ont qu'une très faible affinité (Guillemot, 2015 ; Trémolière, 2007 ; Pierrot, 2015).

##### 3.3.1.2. Situation épidémiologique dans le monde

La prévalence à SARM dans le monde est très hétérogène et variable : les services et les conditions de vie de la population concernée :

- Selon le Cadre de surveillance EARS-Net, elle variait de 0% en Islande à 64,5% en Roumanie (ECDSC, 2014). Les pays d'Europe de Nord rapportent généralement des taux de SARM inférieur à ceux de l'Europe de Sud et de Sud-Est (figure 03) (Tacconelli et al., 2018).
- En Amérique de Nord on a rapporté des prévalences allant 36% à 64,4% pour des populations à risque (antécédent d'hospitalisation en soins intensifs...) (Davis, 2007).
- En Afrique la prévalence de SARM varie selon les régions de 10% à 57%, soit en générale une forte prévalence en Afrique noir et une fréquence faible (moins de 10%) dans les pays de Maghreb (Elouenasse, 2008).



**Figure 03 :** Pourcentage de souche résistante (SARM) par pays (En Europe) (Davis, 2007).

### 3313. Situation épidémiologique en Algérie

Selon le 13<sup>ème</sup> rapport d'ERASRB-ATB en 2011, L'analyse globale des données concernant l'espèce *Staphylococcus aureus* aboutit à un pourcentage de résistance à l'oxacilline de 35,37% pour les souches de *S. aureus* d'origine hospitalière et 24,76% pour les souches d'origine externe. Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées en réanimation ont enregistré les taux de résistance les plus élevées à la méticilline 45,75% (REASRB-ATB, 2011).

#### 3.3.2. *Pseudomonas aeruginosa*

##### 3321. Généralités

*Pseudomonas aeruginosa* est un bacille à Gram négatif, aérobie strict, mobile, saprophyte de l'environnement, oxydase positive. Il est capable de se développer jusqu'à 41°C

(Montalegre, 2016). Considéré longtemps comme opportuniste, aujourd'hui est reconnu comme un pathogène nosocomial majeur chez des catégories de patients à haut risque comme les immunodéprimés (Pierrot, 2015). C'est un germe doté de très grandes capacités d'adaptation, l'une de cette capacité originale est la sécrétion d'un biofilm d'alginate, le rende peu accessible aux défenses immunitaires et aux ATB (Dali Ali, 2015).

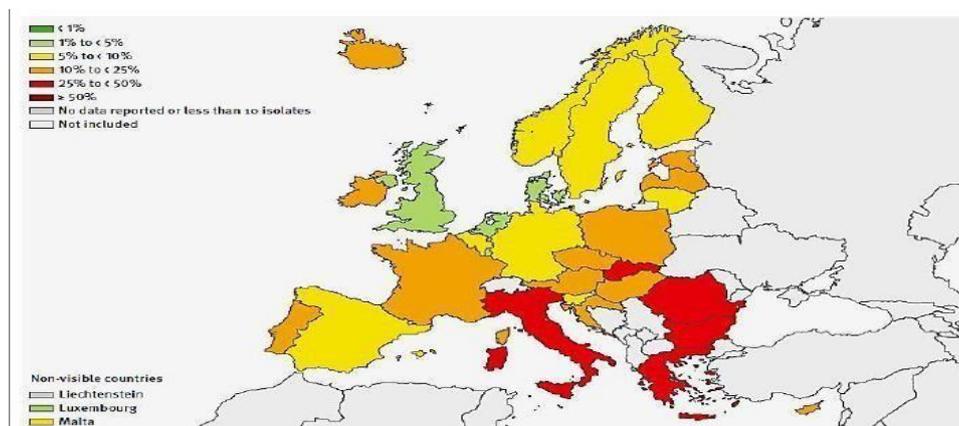
### 3322. Dynamique d'acquisition de souches multi-résistantes

La définition de multi résistance pour une souche de *P. aeruginosa* reste variable :

- Lorsqu'il est résistant à la ceftazidime et aux carbapénèmes ou bien s'il est résistant à tous les antibiotiques couramment utilisés en thérapeutique (bêta-lactamines, aminosides et quinolones) (Montalegre, 2016).
- L'EARS-Net porte sur les cinq principales molécules d'ATB actives sur cette bactérie : tazobactam, ceftazidime, carbapénèmes, aminosides, fluoroquinolones. Les souches résistantes à l'ensemble de ces ATB dites toto-résistantes (EARS-Net, 2014-2017).

### 3323. Situation épidémiologique dans le monde

L'étude du réseau REA-RAISIN en 2012 a repris les principales résistances des bactéries d'intérêt en réanimation en France. Cette étude a trouvé que chez *P. aeruginosa* une résistance à la ceftazidime dans 23,6% des cas contre 26,2% en 2004, et une résistance à l'imipénème dans 23,4% des cas (RAISIN, 2012). En Roumanie la prévalence de *P. aeruginosa* allant jusqu'à 50% (avec seulement 6 souches). Pour Malt et la République de Tchèque a rapporté des prévalences entre 30% et 50% en 2008 (figure 04).



**Figure 04 :** *Pseudomonas aeruginosa*, pourcentage des souches résistantes à la ceftazidime

(Dali Ali, 2015).

### 3324. Situation épidémiologique en Algérie

*P. aeruginosa* résistante à l'imipénème (12.3%), ceftazidime (15.05%), ciprofloxacine (8.57%). Ainsi, On ne relève que 8.93% de *P.aeruginosa* résistante à l'imipénème, parmi les souches de cette espèce isolé en réanimation (**REASRB-ATB, 2011**).

#### 3.3.3. *Acinetobacter baumannii*

##### 3331. Généralités

Les souches du genre *Acinetobacter* sont constituées de coccobacilles à Gram négatif, non fermentantes, immobiles, aérobies strictes, catalase positive et oxydase négative (**Boscher, 2014**).

*Acinetobacter baumannii* est un agent pathogène quasi-exclusivement hospitalier. Il est à l'origine, comme le *Pyocyanique*, de pneumonies chez les patients intubés-ventilés de réanimation médicale, mais aussi d'infections sur cathéters et de septicémies chez les patients immunodéprimés (**Eddayab, 2012**).

##### 3332. Dynamiques d'acquisition des souches multi-résistantes

Les espèces d'*Acinetobacter* sont des bactéries marquées par leur extrême capacité à acquérir des mécanismes de résistance vis-à-vis de la plupart des nouveaux antibiotiques (**Boscher, 2014**).

Le principal mécanisme de résistance aux carbapénèmes est la sécrétion de carbapénémases de type oxacillinases qui peuvent être quasi-spécifiques d'*A. baumannii* (**Demarquilly et al., 1973**).

##### 3333. Facteur de virulence

La présence d'une capsule polysaccharidique favorise la dissémination d'*A.baumannii* dans l'organisme. La capsule rend la surface des bactéries plus hydrophile alors que les souches isolées de dispositifs médicaux présentent une surface plus hydrophobe. La production d'endotoxine existe in vivo et peut être à l'origine d'un choc toxique lors de bactériémie (**Dali Ali, 2015**).

##### 3334. Situation épidémiologique dans le monde

- *A.baumannii* est rarement responsable d'infection associée au soin IAS (0.6% des micro- organismes isolés dans l'enquête nationale de prévalence des IAS, en 2012 )

(**RAISIN, 2012**). Il est plus souvent retrouvé dans le service de réanimation (1,6% des IAS, avec des taux variables selon les sites).

- La Roumanie, la Bulgarie, l'Italie et la Grèce enregistrent les taux de résistance les plus élevés en Europe avec plus de 50% de souches résistantes aux carbapénèmes (**ECDC, 2014**).

### 3.3.3.5. Situation épidémiologique en Algérie

La résistance globale d'*Acinetobacter ssp.* à l'imipénème est de l'ordre de 45,3% (tous secteurs confondus). Le secteur de la réanimation reste toujours en tête à l'instar des années précédentes avec un taux de résistance à l'imipénème de 51,89% (**REASRB-ATB, 2011**).

### 3.3.4. Les entérobactéries productrices des bêta-lactamase à spectre étendu

#### 3.3.4.1. Généralités

Ce sont des bacilles, à Gram négatif. Certaines sont mobiles, d'autres non. Elles portent à leur surface des antigènes dont : Les antigènes O (antigènes de la paroi), Les antigènes H (antigènes flagellaires), Les antigènes K (**Bovin, 2016**).

Certaines entérobactéries produisent des bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) qui ont causé de nombreuses épidémies au niveau local, régional et international, ayant fréquemment comme foyer d'origine les services de réanimation (**Cattoir, 2008**).

#### 3.3.4.2. Situation épidémiologique dans le monde

Les BLSE ont été décrit au début des années 1980 donnant des épidémies dans des secteurs de réanimation en France (*Klebsiella pneumoniae*). Les EBLSE sont maintenant hébergées par de nombreuses entérobactéries : *Escherichia coli* (environ 50% des EBLSE), puis *Enterobacter spp.* et *K. pneumoniae* ; elles sont retrouvées dans le monde entier (**Ambler, 1991**).

La surveillance des EBLSE en Europe est basée essentiellement sur *Klebsiella pneumoniae*, le taux de prévalence de la résistance aux carbapénèmes chez cette bactérie variait en 2008 de 0 à 2 % dans la plupart des pays européens. Cependant quelques pays méditerranéens présentaient des taux variant de 9,7 à 36,6 % (**Bonomo et al., 2005**).

En Grèce, le pourcentage de souches présentant une résistance simultanée aux C3G, fluoroquinolones et aminosides dépasse les 50%. En France, cette dernière varie de 10 à 25%

### 3.3.4.3. Situation épidémiologique en Algérie

Les EBLSE représentaient 30,28% des isolats d'entérobactéries en milieu hospitalier, les données retenues étant celles de 12 laboratoires. Une stabilité du taux est notée par rapport aux précédentes années. La fréquence d'isolement à l'hôpital, des souches BLSE pour chaque espèce bactérienne figure dans le tableau 06 (REASRB-ATB, 2011).

**Tableau 06** : Fréquence d'isolement des EBLSE par espèce bactérienne en Algérie -2011.

Espèce bactérienne	% de souche EBLSE
<i>K. pneumoniae</i>	57,7%
<i>Enterobacter spp.</i>	39,9%
<i>S. marcescens</i>	23,9%
<i>E. coli</i>	17,3%
<i>Proteus spp.</i>	13,1%
<i>Salmonella spp.</i>	1,2%

### 3.3.5. Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV)

#### 3.3.5.1. Généralités

Les entérocoques sont des bactéries Cocci Gram positif, anaérobies facultatifs, catalase négative ubiquitaires, se présentent sous forme de paires ou de courtes chainettes.

Sur le plan phénotypique, les entérocoques ne possèdent pas de caractéristiques qui permettent de les distinguer des autres coques à Gram positif, par ailleurs ces bactéries se caractérisent par la présence de l'antigène du groupe D, fermentation du ribose, croissance à 10°C et à 45°C, croissance en présence de 6,5% de Na Cl, croissance à un pH 9,6 (Quebec, 2012 ; Benoit, 2015).

### 3352. Définition des Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV)

La première résistance plasmidique des entérocoques a été décrite pour la première fois en 1986 chez *E. faecium* et *E. faecalis* (Lambert, 1997).

De ce fait, il existe 6 types de résistance aux Glycopeptides : VanA, VanB, VanC, VanD, VanE et VanG. Seule la résistance de type VanC est intrinsèque, les autres types de résistance sont dits acquis. Pour les types VanA, VanB et VanG, la résistance est inductible et transférable (Benoit, 2015).

#### a. Facteur de virulence :

La cytolytine est le facteur de virulence le plus étudié. La substance agrégant augmente l'adhésion des bactéries aux tissus. Il a été décrit également une protéine de surface nommée Esp (Enterococcal surface protein) qui contribue à la colonisation et à la persistance d'*E. faecalis* dans les voies urinaires et permettrait la formation d'un biofilm protégeant la bactérie (Benoit, 2015).

#### b. Risques liés aux Entérocoques résistant à la vancomycine (ERV)

Le risque de transfert du gène de résistance à la vancomycine à un SARM et donc l'apocalypse tant redouté serait proche (Quebec, 2012).

#### c. Situation épidémiologique dans le monde

La prévalence des ERV représentaient presque 30% des souches d'entérocoques responsables d'IAS en soins intensifs, en 2003 (trois quarts des souches d'*E. faecium* et environ 10% des souches d'*E. faecalis*) (National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS), 2004).

En 2012, l'Irlande a enregistré le taux de résistance le plus élevé en Europe avec un pourcentage de résistance des souches d'*Enterococcus faecium* variant de 25 à 50 % (Isnard, 2017).

#### d. Situation épidémiologique en Algérie

En 2011, un total de 8 souches d'Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV), dont 5 à l'hôpital et 3 en externe, ont été signalés par certains laboratoires du réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux ATB (REASRB-ATB, 2011).

### 3.4. Les principaux BMR d'origine communautaire

Les BMR communautaire sont des bactéries impliquées dans les infections survenant en dehors d'un établissement de santé. Ces germes sont caractérisés par une probabilité de résistances relativement faibles. Les plus fréquentes de ce type de BMR sont les pneumocoques et les bacilles de la tuberculose (**Ramdani, 2009**).

#### 3.4.1. *Streptococcus pneumoniae*

Est un pathogène majeur, responsable d'infections communautaires à type de pneumonies, de bactériémies, etc...Elle a acquis au cours des cinq dernières décennies de nombreuses résistances à : sulfamides, tétracyclines, érythromycine, pénicilline et chloramphénicol. La résistance du pneumocoque aux  $\beta$ -lactamines est liée à une modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) (**Conly, 2002**).

#### 3.4.2. SARM d'origine communautaire

Les souches de SARM « communautaire » ont classés en deux catégories :

- Les souches d'origine hospitalière, acquises par des patients à l'occasion d'une hospitalisation ou lors de soins ambulatoires ; leur profil de sensibilité aux ATB et leurs caractéristiques moléculaires sont comparables aux souches nosocomiales.
- Les souches de SARM réellement communautaires ; comparées aux souches nosocomiales. Elles ont un spectre infectieux et un profil de sensibilité aux ATB différents (**Zetola et al., 2005**).

#### 3.4.3. Bacille de la tuberculose

La tuberculose multi résistante est une tuberculose contre laquelle l'isoniazide et la rifampicine, les 2 antituberculeux les plus puissants, ne sont pas efficaces. La mauvaise gestion du traitement antituberculeux et la transmission interhumaine expliquent la propagation de la tuberculose multirésistante (**Conly, 2002**).

## 4. Les infections nosocomiales en réanimation

La réanimation, « épicerie des bactéries multi-résistantes » ; restera la discipline médicale où les infections nosocomiales sont les plus fréquentes. Cette situation est évidemment due à la conjonction de la fréquence d'utilisation des dispositifs invasifs (**Brun et al., 2005**).

#### 4.1. Définition des IN

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les (IN) peuvent être décrites comme « **Des infections survenant chez un patient au sein d'un hôpital ou d'un autre établissement de santé et chez qui cette infection n'était ni en incubation au moment de l'admission. Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie, et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement** » (OMS, 2008).

#### 4.2. Les sites d'infection

Les quatre sites d'infection Les plus fréquemment concernés sont, par ordre décroissant :

- Le site respiratoire.
- Les infections urinaires.
- Les bactériémies (infections liées aux dispositifs intravasculaires).
- Les infections de site opératoire (**Brun et al., 2005**).

#### 4.3. Caractéristiques

La caractéristique principale des infections nosocomiales observées en réanimation est d'être directement ou indirectement associée aux techniques de suppléance invasives utilisées pour pallier une défaillance vitale, qui nécessitent le plus souvent la mise en place de corps étrangers (ou « dispositifs invasifs » tels que cathéters, sondes, etc...) et ont pour conséquence de court-circuiter les moyens de défense de première ligne que sont la peau, les muqueuses et les sphincters (**RAISIN, 2012**).

#### 4.4. L'origine des germes en cause

Schématiquement, deux voies de contamination sont possibles :

- **La voie endogène** : est à l'origine de la majorité des infections hospitalières. Cela veut dire que les sites normalement stériles sont contaminés puis colonisés par la flore portée par le patient lui-même, à la faveur d'une rupture des barrières de défense (**Brun et al, 2005**).

- **La voie exogène** : est associée à la colonisation, éventuellement suivie d'infection, du patient par des bactéries extérieures, provenant d'autres malades ou de l'environnement (par exemple

(Légionellose), transmises de manière indirecte (aérosols, manu portage, matériels) transmission croisée. Cette voie a une importance relative plus grande en réanimation que dans d'autres secteurs (Lucet et al., 2002).

### 4.5. Résistance aux antibiotiques des germes impliqués

La dernière caractéristique importante des infections nosocomiales en réanimation est d'être souvent due à des bactéries plus ou moins résistantes aux antibiotiques, voire multirésistantes (BMR).

Cela est lié à la grande fréquence de prescription d'antibiotiques dans cette population, pour traiter des infections communautaires ou hospitalières motivant le transfert en réanimation.

Ainsi une étude multicentrique est montrée que près de 7% des malades admis en réanimation porteur de SARM. Ce portage peut être à l'origine de nouvelles transmissions croisées (Lucet et al., 2002).

### 4.6. Les conséquences d'IN

L'infection nosocomiale peut être grave et parfois mortelle. Selon l'OMS, en 2005 plus de 1,4 millions de personnes dans le monde souffrent d'infection nosocomiale (OMS, 2010).

#### 4.6.1. La morbidité

Dans certains pays en développement, la proportion des malades hospitalisés atteints dépasse 25%, tandis que dans les établissements modernes des pays dits développés, seuls 5 à 10% des patients admis dans les services de soins aigus contractent une infection liée aux soins (OMS, 2010). Ce taux peut atteindre 20 % dans les services de réanimation. La réanimation est le service le plus touché avec des taux de prévalence moyens de l'ordre de 30 % (Calabro et al., 1995).

#### 4.6.2. La mortalité

L'infection nosocomiale entraîne une mortalité supplémentaire de 3 % (**Thompson et al., 1992**). Des études menées aux États-Unis suggèrent qu'environ un malade sur 1000 en meurt (**Brun et al., 2005**).

### 4.7. Les précautions standards des infections nosocomiales

#### 4.7.1. Hygiène des mains

La fréquence de la contamination des mains est estimée à 17% après contact avec un patient porteur d'une BMR. Les différentes techniques d'hygiène des mains ont une efficacité différente. Beaucoup d'études ont montré la supériorité de l'utilisation du produit hydro-alcoolique (PHA) par rapport au savon doux (**Sickbert-Bennett et al., 2016**).

#### 4.7.2. Port des gants

Les gants sont utilisés pour prévenir tout contact cutané avec le sang ou des liquides biologiques. Ils doivent être saisis avec des mains propres pour éviter leur contamination le port des gants réduit la transmission d'ERV aux mains des soignants ; cependant, il n'empêche pas complètement la contamination des mains (**Trick et al., 2007**).

#### 4.7.3. Masque

Un masque chirurgical est un dispositif médical (norme EN 14683). Il est destiné à éviter la projection vers l'entourage des gouttelettes émises par celui qui porte le masque. Il protège également celui qui le porte contre les projections de gouttelettes émises par une personne en vis-à-vis. En revanche, il ne protège pas contre l'inhalation de très petites particules en suspension dans l'air (**Manor et al., 2016**).

#### 4.7.4. Tenue professionnelle

La tenue professionnelle remplace la tenue de ville ; elle sert à protéger les professionnels de santé conformément au code du travail.

Les manches des tenues sont courtes pour permettre une bonne technique d'hygiène des mains. Les cheveux sont propres et attachés (**Sickbert-Bennett et al., 2016**).

# ***MATERIEL ET METHODES***

Le travail expérimental, d'une durée d'un mois, a été réalisé au niveau du laboratoire de biologie à l'unité de microbiologie et parasitologie de l'Hôpital Militaire de Constantine « COMMANDO BENBAATOUCHE ABDELALI ». Il s'agit, donc, d'une étude prospective (de l'année 2020) et rétrospective (de l'année 2019) de toutes les bactéries multirésistantes (BMR). Les BMR de l'étude rétrospective ont été analysées à partir des registres de bactériologie du service. L'étude prospective a pour objectif l'isolement et l'identification des bactéries multirésistantes, les plus fréquemment retrouvées dans des prélèvements (2020) provenant du service de la réanimation ; plus, la détermination de leurs profils de résistance aux antibiotiques par antibiogramme. Vu les conditions et les événements passés à l'année 2020, de pandémie du Corona Virus Covid-19, cette dernière partie (antibiorésistance) a été analysée à partir des résultats trouvés dans la littérature.

## **Etude prospective**

### **1. Population de l'étude**

Tous les types de BMR identifiées dans la paillasse de bactériologie quel que soit la nature des produits pathologiques provient de service de réanimation.

### **2. Recueil des données**

Les données ont été recueillies à partir des registres du laboratoire de bactériologie de HMRUC. Les prélèvements concernés par l'étude étaient : Les prélèvements distaux protégés (PDP), Les hémocultures, Les prélèvements sur cathéter (sonde vésical, ECB sonde, sonde vertical, cathéter central...etc.) et les examens de pus.

### **3. Prélèvements**

Au cours de 1 mois de stage 19 prélèvements provenant du service de réanimation ont été analysés au niveau du laboratoire de microbiologie dans la paillasse de bactériologie générale.

#### **3.1. Les analyses cyto bactériologiques**

##### **3.1.1. Prélèvement distal protégé (PDP)**

Ce prélèvement est réservé aux malades intubés en service de réanimation. Prélèvement des sécrétions pulmonaires (à l'aveugle ou guidé par fibroscopie) est un outil permettant le diagnostic des pneumopathies nosocomiales chez le patient ventilé.

- **Technique 1ère étape**

- **Examen macroscopique** : clair, trouble, purulent ou hémorragique. Ajouter 1ml de soluté salé isotonique dans le tube qui contient 3 à 5 cm e la partie distale du cathéter et agiter pour homogénéiser les sécrétions.
- **Examen microscopique** : A partir de l'échantillon, prélever une parcelle purulente, et l'étaler d'une façon homogène sur une lame propre. Laisser la lame sécher avant la coloration au bleu de Méthylène.

La lecture au microscope optique X 100 est effectuée pour la numération des polynucléaires neutrophiles/champ (PN/Champ). De plus, l'absence ou la présence de bactéries (forme, disposition et abondance) doit être notée.

- **Mise en culture**

- **Culture directe** : avant dilution

À partir du prélèvement, déposer une goutte sur chaque milieu et ensemercer en 4 quadrants (Chocolat, Hektoen) ; puis les incuber à 37°C, pendant 24h.

- **Culture indirecte** : avec une dilution

Réaliser des dilutions du prélèvement en eau physiologique de  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ . A partir de chaque dilution ensemercer les boites : 02 gouttes à étaler en 4 quadrants sur les deux milieux Chocolat et Hektoen, Incuber les boites à 37° sous CO<sub>2</sub>.

### 2<sup>ème</sup> étape (lecture et interprétation)

- Si la culture est négative : faire un repiquage et réincuber 24h.
- Si la culture est positive : compter le nombre de colonies identiques dans chaque boite correspondant aux dilutions  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  (nombre de colonies **X** inverse de la dilution **X** 10 = nombre UFC / ml).
- Si le nombre <  $10^3$  UFC, (ne pas procéder à une identification et un antibiogramme).
- Si la flore microbienne est polymorphe, discuter l'éventualité d'identifier des bactéries, pathogènes dont le seuil est >  $10^3$ .

**3<sup>ème</sup> étape** : Lecture des boîtes réincubées

- Si la culture est négative : résultat : numération bactérienne < 10<sup>3</sup> UFC / ml.
- Si la culture est positive : procéder à la méthode d'identification précédente.

**3.1.2. Hémo-culture**

Est un examen bactériologique qui consiste à rechercher la présence de germe dans le sang. L'examen s'effectue lorsqu'on suspecte la présence d'une bactériémie. Il est conseillé de faire le prélèvement au moment des pics de fièvre. Le prélèvement doit être répété trois fois en 24h. Le sang prélevé est introduit dans des flacons spéciaux (Flacon aérobie et un autre anaérobie) (Sékoukoné, 2010).

- **Technique :**

Dès réception au laboratoire, les flacons doivent être incubés à 35-37°C pendant 48h.

**1<sup>ère</sup> étape**

- **Observation macroscopique**

Visé à déceler des signes d'une croissance microbienne, une culture stérile montre en général un dépôt d'hématies recouvert d'un bouillon transparent jaune pâle. La croissance est attestée par : un dépôt flocculeux au-dessus de la couche d'hématies, un trouble uniforme ou situé juste sous la surface, une hémolyse, une coagulation du bouillon.

**2<sup>ème</sup> étape**

- **Culture**

Réalisation d'un repiquage qui se fait en ensemencement de quelques gouttes en 4 quadrants sur les 4 milieux (Chocolat, Hektoen, Sang frais). L'identification de germe est effectuée par la lecture des boîtes, selon l'aspect des colonies sur les différents milieux.

**3<sup>ème</sup> étape**

- **Lecture**

- Si la culture est positive : identifier le germe puis faire un antibiogramme.
- Si la culture est négative : incuber les flacons pendant 8j.

**Après les 8 jours d'incubation :** observer les flacons réincubés.

- Si le résultat est positif : le germe est identifié puis faire un antibiogramme.
- Si le résultat est négatif : absence de germes.

### 3.1.3. Pus et liquides de ponction

Généralement, la réponse immunitaire aux microorganismes essentiellement aux bactéries de l'hôte se fait par des cellules appelées polynucléaires neutrophiles. Lorsque ceux-ci meurent et s'agglomèrent, cela forme du pus qui peut être liquide ou exsudat, mais généralement épais, jaune ou blanchâtre (**Qebibo et al., 2014**). On distingue deux sortes de pus : le pus superficiel (escarre, ulcère, furoncle, etc...) et le pus profond (ostéomyélite, spondylodiscite, d'origine digestive, etc...). Par ailleurs, quel que soit l'origine du pus, il peut être septique ou aseptique (**Qebibo et al., 2014**). Les liquides de ponction reçus au laboratoire sont : liquide pleural, liquide péritonéal, liquide d'ascite, liquide péricardique, liquide de ponction articulaire ou synovial, ou kystes.

Le prélèvement doit être réalisé si possible avant toute antibiothérapie, après désinfection soigneuse de la peau pour éviter toute contamination par la flore commensale cutanéomuqueuse au niveau du site de ponction, il peut se faire également en per opératoire. La quantité doit être suffisante à 2 à 5 ml (**Talhata et al., 2002**).

Les prélèvements sont recueillis dans 02 tubes :

- Un tube avec anticoagulant pour l'étude cytologique.
- Un tube sec stérile pour la culture.

- **Technique.**

#### 1ere étape

- **Appréciation macroscopique** : citrin, transparent, trouble ou purulent ou hémorragique.
- **Examen microscopique** : Il se fait sur le liquide de contenu dans le tube avec anticoagulant
- Étude quantitative :

Numération des leucocytes / mm<sup>3</sup> en cellules de Nageotte. Cette numération est impossible si le liquide est coagulé, et elle est difficile si le liquide est hémorragique.

- Étude qualitative :

Après centrifugation du liquide faire un frottis, puis le colorer au bleu de Méthylène : numérotation des PN, de lymphocytes et observation de la présence ou l'absence de bactéries.

- S'il y a une présence de bactéries, faire un autre frottis qui sera coloré au Gram.

### 2ème étape

- **Culture**

- Bactéries aérobies :ensemencer le prélèvement provenant dans un tube sec stérile, en 4 quadrants sur la gélose nutritive et chocolat, puis incubé à 37° en aérobiose sous CO<sub>2</sub>.
- Bactéries anaérobies :ensemencer le prélèvement sur gélose au sang frais préparée le jour même et sur bouillon d'enrichissement qui sera incubé pendant 04 jours, mais jusqu'à 15 jours pour la recherche les germes exigeants, (ou 04 semaines, cas de *Brucella*).

### 3ème étape :

- **Lecture des boîtes**

- Si la culture est négative ; réincuber les boîtes.
- Si la culture est positive ; identifier le germe + antibiogramme.

- **Lecture des boîtes réincubées**

- Si la culture négative : culture directe négative,
- Si la culture positive : identification de germe + antibiogramme.

L'observation du bouillon d'enrichissement se fait tous les jours. En cas de trouble, faire un repiquage sur milieu chocolat puis une incubation pendant 48 heures. Si la culture est positive après enrichissement une identification plus un antibiogramme seront effectués.

**La lecture des boites anaérobies se fait au 3ème et 5ème jour.**

- Si la culture négative : absence de bactéries anaérobies.
- Si la culture positive : on passe à l'identification et l'antibiogramme.

**3.1.4. Cathéter**

Le cathéter est un tube de longueur variable, de calibre millimétrique, flexible ou rigide, en métal, verre, gomme, caoutchouc ou matière plastique. Il est destiné à être introduit dans un canal, un conduit, un vaisseau ou un organe creux pour l'explorer, injecter un liquide ou vider une cavité (Cherrabi, 2016).

- **Les cathéters veineux centraux (CVC)**

Le cathétérisme veineux central consiste en l'introduction dans le système veineux d'un cathéter long donnant accès à la jonction système cave / oreillette droite. Le cathéter est implanté par voie percutanée ou chirurgicale (Combe et al., 2001).

- **Les cathéters veineux périphériques (CVP)**

Le cathétérisme veineux périphérique consiste en l'introduction dans le système veineux D'un cathéter court par voie transcutanée (Lolom et al., 2009).

- **Technique**

**1ère étape**

1ml d'eau physiologique est ajouté dans le tube de KT (cathéter) puis bien l'agiter. Par la suite, des dilutions en eau physiologique de l'ordre de  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  sont préparées. Deux gouttes de chaque dilution sontensemencées sur gélose nutritif, chocolat, hektoen, chapman et gélose au sang (4 quadrants). En fin, les boites sont incubées à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 18h- 24 h.

**2ème étape**

Effectuer une 1ère lecture à 24 heures :

- Si la culture est négative : réincuber les boites pendant 48heures.
- Si la culture est positive : compter le nombre de colonies identiques /boites.
- Si la numération  $<10$  colonies (boite de  $10^{-2}$ ) : ne pas faire l'identification et l'antibiogramme.
- Si la numération  $>10^3$  UFC/ml ( $\geq 1$  colonie ;  $10^{-3}$ ,  $\geq 10$  col,  $10^{-2}$ ) : identifier le germe et réaliser un antibiogramme.
-

### 3<sup>ème</sup> étape

Lecture des boîtes réincubées

- Si la culture est négative, donner le résultat : numération bactérienne  $<10^3$ UFC/ml
- Si la culture est positive, on procède l'identification de la 2<sup>ème</sup> étape.

## **4. Identification bactérienne**

### **4.1. Examen macroscopique**

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. D'après **Thoma et al. (1970)**, les éléments d'identification macroscopiques sont : la forme, l'odeur, la couleur, la consistance des colonies et le virage des milieux de cultures sélectives utilisés (**Larpent-Gourgaud et al., 1997**).

### **4.2. Examen microscopique**

#### **4.2.1. Etat frais**

C'est une méthode rapide qui consiste à observer entre lame et lamelle une goutte de suspension bactérienne à l'objectif 40, préparée avec de l'eau physiologique. Les bactéries sont vivantes, on peut alors déterminer la forme, l'arrangement et la mobilité des bactéries (**Joffin et al., 2006**).

#### **4.2.2. Bleu de Méthylène**

La coloration au bleu de Méthylène est une coloration très simple qui permet d'observer les bactéries, mais aussi la détection de certaines cellules sanguines (polynucléaires neutrophiles, lymphocytes). Elle permet de renseigner sur : la forme des bactéries, la taille, le mode de regroupement.

- **Technique**
- Réaliser un frottis et le fixer.
- Recouvrir la lame de bleu de méthylène phéniqué, 1 à 2 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Sécher la lame entre 2 feuilles de papier Joseph.
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.

### 4.2.3 La coloration de Gram

La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries à Gram négatif qui apparaissent roses et les bactéries à Gram positif qui apparaissent violettes. Cette différence de coloration est liée à des différences de nature de la paroi bactérienne. Elle permet de renseigner sur : le type Gram + ou Gram -, la forme des bactéries, la taille et le mode de regroupement.

- **Technique**

La coloration de gram se déroule en plusieurs étapes qui se succèdent et consistent à :

- Fixer le frottis à la flamme d'un bec bunsen.
- Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet, laisser agir une minute (violet de gentiane).
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau.
- Recouvrir la préparation de Lugol, laisser agir une minute.
- Rejeter le Lugol puis laver à l'eau.
- Décolorer à l'alcool 95°.
- Rincer à l'eau courante et recouvrir la lame de solution de fuchsine diluée, laisser agir quelques secondes.
- Rejeter la fuchsine, lavée abondamment, égoutté, sécher entre deux feuilles de papier buvard propres (**Joffin et al., 2006**).

**NB** : Les réactifs utilisés dans la coloration de gram sont présentés dans (**Annexe 2**)

- **Lecture**

Lire à l'objectif x100 à l'aide de l'huile à immersion. Deux types de cellules peuvent être observés : les bactéries à Gram négatif (avec couleur rose) et les bactéries à Gram positif (en violet).

### 4.2.4. Identification biochimique

#### 4.2.4.1 Galerie biochimique miniaturisée API 20E

Le système API (Appareillage et Procédé d'identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification d'une certaine

de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries (**Guenoune, 2009**). Elle comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée (Figure 05). Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (**Annexe3**) et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.



**Figure 05 : Galerie biochimique API 20E (Houam et al., 2018).**

- **Technique**
- **Préparation de l'inoculum**

Après le développement de la bactérie en colonies isolées sur milieu gélosé, la suspension bactérienne est préparée comme suit : Introduire quelques millilitres d'eau distillée stérile (avec une pipette Pasteur) dans un tube stérile, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé et puis réaliser une suspension bactérienne faible (opacité 0.5 sur l'échelle Mc Ferland).

- **Le remplissage de la galerie API 20E**

La suspension bactérienne est introduite dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette. Pour l'inoculation ; il faut remplir, à l'aide d'une pipette Pasteur, les cupules des tests CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne. Pour les autres tests, les microtubes (et non les cupules) sont remplis avec la création d'une anaérobiose. Pour les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S les cupules sont remplies par l'huile de vaseline stérile.

- **L'incubation**

La galerie est incubée à une température de 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Identification**

La lecture de quelques tests, nécessite l'addition des réactifs :

- Pour le test TDA, l'ajout d'une goutte du réactif TDA.
- Pour le test indole, l'ajout d'une goutte de réactif de Kovacs.
- Pour le test VP, l'ajout d'une goutte des réactifs VP1 et VP2.
- Pour le test GLU et après la lecture du résultat on peut déduire la présence du nitrate réductase en ajoutant une goutte des réactifs NR1 et NR2 (Annexe3).

## 5. Test complémentaires de l'identification biochimique

### 5.1. Test à l'oxydase

Ce test est fondé sur la production bactérienne de l'enzyme « cytochrome oxydase » (plus précisément « La phénylène-diamine-oxydase ») qui entre dans les chaînes respiratoires aérobies et comporte le cytochrome C (Rongvaux-Gaïda et Piton-Malleret, 1992). Cette recherche s'effectue sur un papier filtre d'oxydase prête à l'emploi ; imprégné de N-Diméthyle paraphénylène diamine. A l'aide d'une pipette pasteur, une colonie de la bactérie à identifier et écraser sur le papier.

- **Lecture**

La présence d'une cythochrome oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration rouge virant rapidement au violet très foncé. A l'inverse, si la couleur du papier ne change pas, la souche est donc oxydée négatif.

### 5.2. Test catalase

Il permet la détection de l'enzyme « catalase » qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



Ce test s'effectue sur une lame porte objet propre. Une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée (à 10 volumes=1 mol/l) à l'aide d'une pipette Pasteur.

- **Lecture**

La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène.

### 5.3. Recherche de la coagulase

La mise en évidence de la coagulase libre permet la différenciation des espèces du genre *Staphylococcus*. En effet, seule l'espèce *Staphylococcus aureus* peut posséder cette enzyme qui joue un rôle important dans le pouvoir pathogène de la bactérie.

La coagulase est une enzyme capable de coaguler le plasma du lapin, recueilli sur anticoagulant *in vitro* (Sesques, 1994). 0.5 ml de plasma oxalaté est introduit dans un tube à hémolyse stérile puis additionné de 0.5 ml d'une suspension bactérienne préparée à partir d'une culture pure de la souche à étudier, le mélange est incubé à 37 °C pendant quatre à cinq heures.

L'observation d'un niveau de coagulation quelconque du plasma ou l'apparition d'un caillot signifie la présence de l'enzyme coagulase.

### 6. Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme »

L'antibiogramme standard est un test *in vitro* de sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques par la technique de diffusion sur milieu gélosé. C'est une technique rapide basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration de l'antibiotique obtenu après sa diffusion à partir du disque. La croissance bactérienne s'arrête lorsque les bactéries sont en contact avec la concentration minimale d'inhibition autour du disque d'antibiotique. Il a pour but de :

- Guider le clinicien dans le choix d'un antibiotique pour traiter une infection bactérienne.
- Exploiter les données pour la surveillance des résistances bactériennes aux antibiotiques.
- Orienter la prescription d'antibiotique (Joffin et al., 2006).

### 6.1. Préparation de l'inoculum

La densité de l'inoculum bactérien est un élément primordial. La suspension cellulaire doit

être préparée dans de l'eau physiologique stérile à partir d'une culture jeune et pure sur milieu d'isolement approprié. Elle doit être ajustée à l'aide d'un photomètre ou par comparaison avec un étalon d'opacité (échelle de McFarland « MF »). L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable. L'antibiogramme par diffusion est réalisé avec une suspension calibrée à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm contenant environ  $10^8$  bactéries par ml (Marcel, 2005).

### 6.2. Milieu d'ensemencement

Le milieu d'ensemencement utilisé est le Muller-Hinton (agar). La gélose MH, est coulée en boîtes de Pétri sur épaisseur de 4mm, puis séchée. L'ajout de 5 % de sang au milieu (MH) est nécessaire pour les bactéries exigeantes.

### 6.3. Ensemencement

L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum. Il est réalisé par écouvillonnage ou par inondation de telle façon à avoir après incubation des colonies distinctes mais jointives. Le protocole du travail doit se réaliser comme suit :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum et l'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum le liquide.
- 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. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de gélose.

### 6.4. Application des disques

Après avoir laissé les boîtes sécher 10 min, les disques d'antibiotiques sont déposés à l'aide d'une pince stérile, en appuyant légèrement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu. Les boîtes sont laissées ensuite à une température ambiante pendant 15 min pour une bonne diffusion des antibiotiques dans le milieu gélosé. L'incubation est faite, par la suite, à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

### 6.5. Choix d'antibiotiques

Chaque type de BMR a une certaine gamme d'antibiotiques testés. Les tests sont réalisés comme suit :

- Les antibiotiques testés lors de la réalisation de l'antibiogramme des entérobactéries sont : Ampicilline (AMP), Amoxicilline (AMX), Amoxicilline–acide clavulanique (AMC),

Ticarcilline (TIC), Pipéracilline (Pi), Céfazoline (CZ), Céfotaxime (CTX), Céftriaxone (CRO), Imipénème (IMP), Amikacine (AK), Gentamicine (GM), Acide nalidixique (NA), Ciprofloxacine (CIP), Colistine (CT), Triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT), Fosfomycine (FOS).

- Les antibiotiques testés lors de la réalisation de l'antibiogramme des bacilles à Gram négatif non fermentaires :

Ticarcilline (TIC), ticarcilline-acide clavulanique (TCC), Aztéonam (ATM), Céfotaxime (CAZ), Céfpirome (CPO), Imipénème (IMP), Gentamicine (GN), Tobramycine (TM), Amikacine (AN), Colistine (CS), Ciprofloxacine (CIP), Fosfomycine (FOS), Rifampicine (RD), Pipéracilline (Pip), Céfépime (FEP).

- Les antibiotiques testés lors de la réalisation de l'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*: PénicillineG (PG), Oxacilline (OXA), Cefoxitine (FOX), Gentamicine (GN), Tobramycine (TB), Kanamycine (K), Erythromycine (E), Spiramycine (SP), Lincomycine (L), Vancomycine (VA), Ampicilline (AMP), Clindamycine (CC), Amoxicilline acide Clavulanique (AMC), Triméthoprime-Sulfaméthoxazole (STX), Tétracyclines (TE), Chloromphénicol ©, Fosfomycine (Fos), Ac. fusidique (FA), Acide nalidixique (NA), Amikacine (AN),

### 6.6. Lecture des résultats

Après l'incubation des boîtes à la température recommandée, les diamètres des zones d'inhibition seront mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse. Les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Petri fermée. Les diamètres des zones d'inhibition mesurés seront comparés aux diamètres critiques donnés par les instances en vigueur Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) afin de classer la bactérie dans l'une des catégories Résistant, Intermédiaire, Sensible.

## Etude rétrospective

L'étude statistique est représentée à partir d'une étude rétrospective réalisée sur une période de 1 an (2019) par des données obtenues des registres de réception au niveau du laboratoire. Un total de 38 bactéries (BMR et non BMR) sont étudiées. La multirésistance bactérienne est évaluée selon la nature des prélèvements, la nature de germe, le sexe, l'âge le profil de résistance des bactéries et le taux des BMR.

# ***RESULTATS ET DISCUSSION***

Ce travail s’inscrit sur la recherche des Bactéries multirésistantes (BMR) au niveau du service de réanimation à l’Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). Ce service se considère comme un épicode des bactéries multi-résistantes à cause de l’utilisation fréquente des dispositifs invasifs des patients immunodéprimés, et la surconsommation des antibiotiques. Une étude prospective (en 2020) et autre rétrospective (en 2019) ont été réalisées dans une période d’un mois de stage.

L’objectif de cette recherche s’articule sur l’identification morphologique (macroscopique et microscopique) et biochimique (galerie API 20E, tests complémentaires) de BMR retrouvées dans différents prélèvements reçus au niveau du laboratoire de bactériologie à l’Hôpital Militaire (HMRUC). La détermination de leurs profils de résistance aux antibiotiques se fait par des tests d’antibiogramme. Vu la pandémie du COVID 19 dans la période de stage, ce dernier test a été analysé à partir des résultats trouvés dans la littérature.

## 1. Prélèvements

La période de stage (allant du 09 février au 12 mars 2020), 19 prélèvements sont recueillis dont le nombre le plus élevé se représente dans PDP 63% (12), suivi par des prélèvements des cathéters 21% (4), puis le prélèvement de pus 16% (3). La figure suivante représente les différents taux de prélèvements.

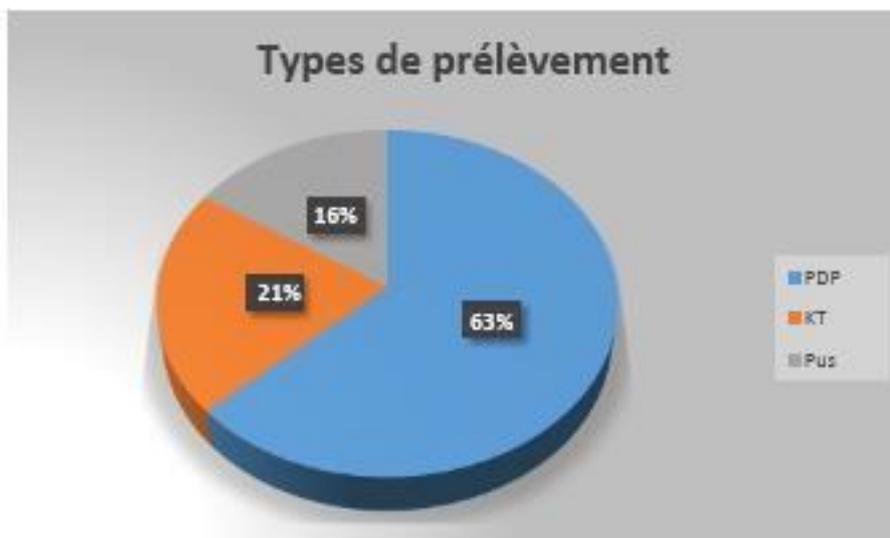


Figure 06 : Répartition globale des prélèvements.

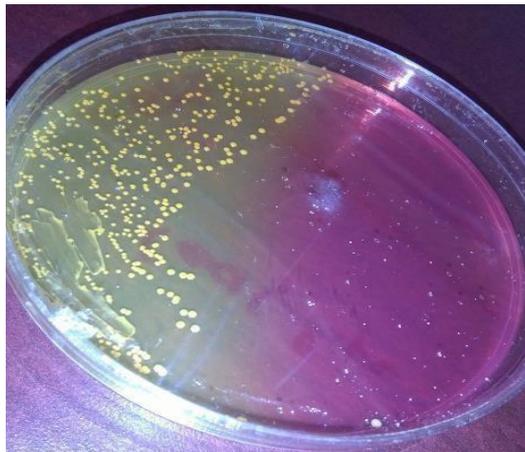
## 2. Identification bactérienne

### 2.1. Aspect macroscopique

A partir de différents prélèvements, l'isolement des souches sur les milieux ; Chocolat, Gélose au sang frais, Hektoen, Chapman et gélose nutritive, a permis d'examiner la morphologie des colonies en fonction de la forme, la taille, l'aspect, la couleur des colonies et parfois même l'odeur qu'on peut s'orienter vers un groupe bien déterminé de bactéries. De ce fait, les principales espèces trouvées dans les différents échantillons sont décrites ci-dessous

#### 2.1.1. *Staphylococcus aureus*

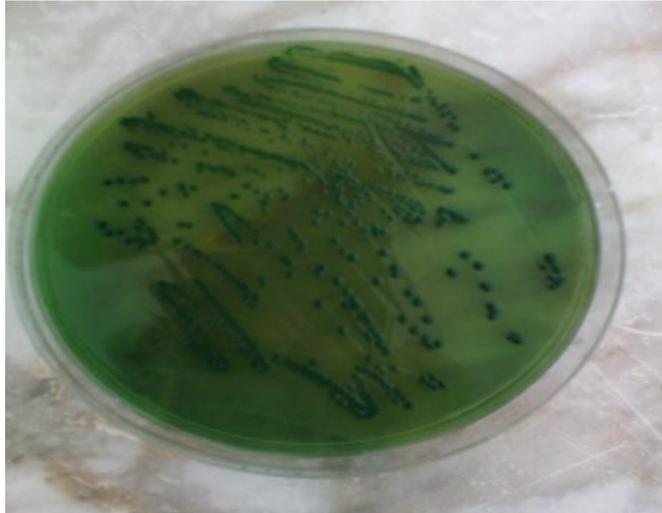
Après 24 heures d'incubation sur le milieu Chapman, les colonies apparaissent lisses, rondes, bombées, brillantes, opaques, de 1 mm de diamètre. Elles se pigmentent habituellement en jaune doré (aureus), parfois en jaune citron (Figure 07). La plupart des souches de *S. aureus* fermentent le mannitol et font virer le milieu du rouge au jaune orangé, parfois elles apparaissent avec une teinte blanche porcelaine.



**Figure 07 :** Aspect d'une culture de *Staphylococcus aureus* sur le milieu Chapman après 24h, incubation à 37 °C.

#### 2.1.2. *Acinetobacter baumannii*

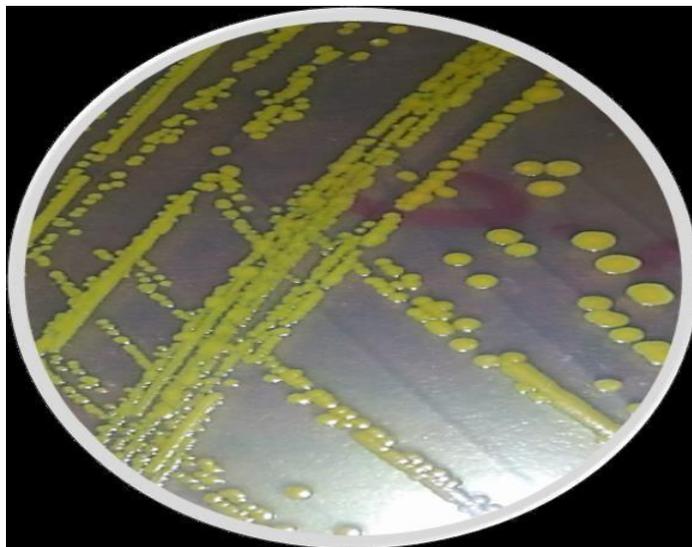
Sur Hektoen, les colonies d'*Acinetobacter* apparaissent petites, lisses, arrondies, circulaires, convexes ayant une coloration bleu-vert (absence de la fermentation du lactose) dégageant une odeur caractéristique (Figure 08).



**Figure 08 :** Culture d'*Acinetobacter* sur milieu Hektoen (Alal et Hadbi, 2018).

### 2.1.3. Les entérobactéries

Certaines colonies se présentent sous une forme muqueuse, grosse, bombée opaque et crémeuses par exemple *Klebsiella pneumoniae* (Figure 09), d'autres colonies sont incolores, rondes régulière ou irrégulière par exemple Enterobacter. Leur diamètre est compris entre 1 et 2,5mm.



**Figure 09 :** Aspect macroscopique d'une culture de *Klebsiella pneumoniae* sur la gélose Nutritive après 24h d'incubation à 37 °C (Soufi et al., 2019)



**Figure 10 :** Aspect macroscopique d’une culture d’*Enterobacter cloacae* sur GN (Badri et Necib, 2016)

## 2.2. L’aspect microscopique

### 2.2.1. L’état frais

L’observation des cellules à l’état frais indique que certaines souches sont mobiles et d’autres sont immobiles. Le tableau 07 représente les caractères morphologiques des bactéries à l’état frais

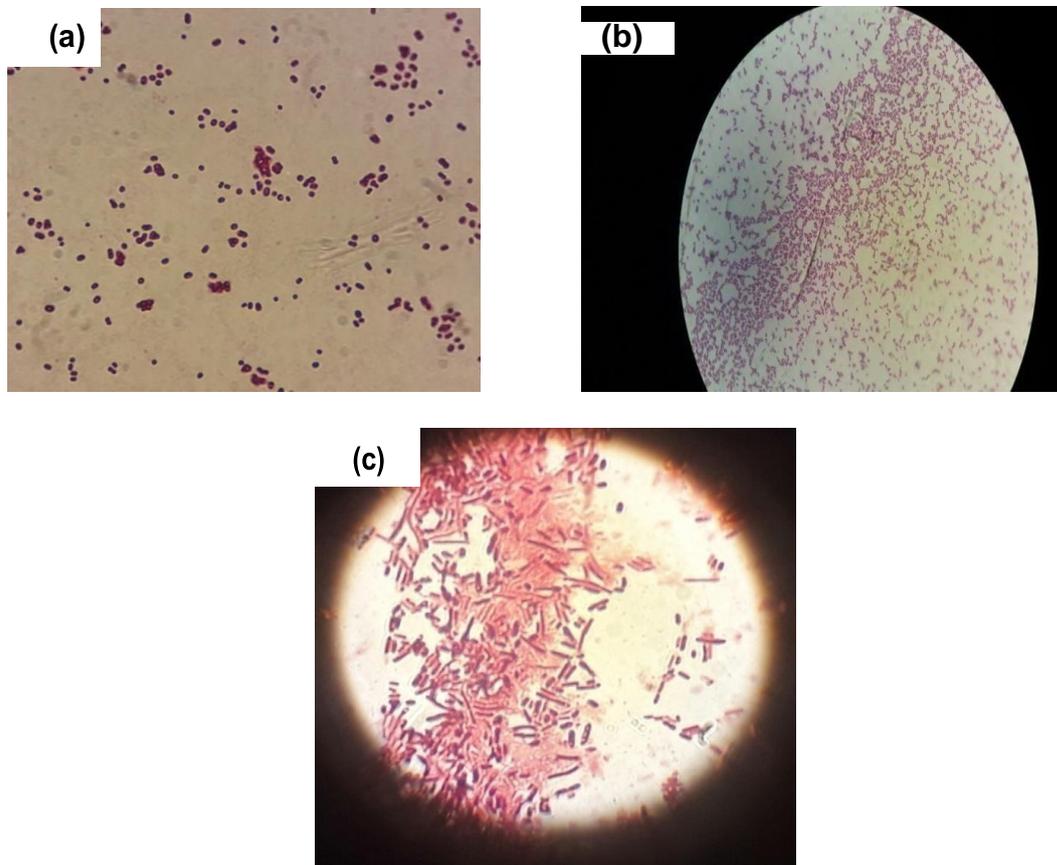
**Tableau 07 :** Caractères morphologiques des bactéries à l’état frais.

Bactérie	Observation
• <i>S.aureus</i>	Immobile
• <i>A. baumannii</i>	Immobile
• Entérobactéries	Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles ( <i>klebsiella pneumoniae</i> )
• <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Mobiles, se déplaçant en ligne droite grâce à un flagelle polaire généralement unique
• Entérocoques	Non mobile

### 2.2.2. Coloration de Gram

L'observation microscopique après coloration de Gram nous a révélé la présence de différentes formes bactériennes. Les bactéries à Gram positif resteront violettes alors que les bactéries à Gram négatif seront teintées en rose. La présence de bacilles à Gram négatif nous indique la présence des entérobactéries tel que le genre, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* ou de bacilles à Gram négatif non fermentaires (BNF) tel que *Acinetobacter baumannii*.

La présence des Cocci à Gram positif en amas, en diplocoques ou en chaînette, de longueur variable indique la présence probable des bactéries du genre *Staphylococcus* (figure 11).



**Figure 11** : Examen microscopique d'un pus après coloration de Gram (Gx100).

**(a)** : Coccobacilles à Gram négatif d'*Acinetobacter baumannii*, **(b)** : Cocci Gram positive *Staphylococcus aureus*, **(c)** : Bacille Gram négative *Klebsiella pneumoniae* (Alal et Hadbi, 2018 ; Bouhafs et al., 2018).

### 3. Identification biochimique des souches

#### 3.1. Test d'oxydase

Grace à ce test nous avons pu faire la distinction entre les bactéries à oxydase positive qui donnent une coloration rose violacée (Figure 12). Cela s'explique par l'oxydation du réactif comme chez *Pseudomonas aeruginosa*, par contre les bactéries à oxydase négative restent incolores ce qui indique que la bactérie n'est pas capable d'oxyder le N-diméthyl paraphénylène diamine comme chez les entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae*, *citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*) et *Acinetobacter* sp.



**Figure 12 :** Résultats de l'oxydase.

A gauche : Oxydase positive ; A droite : Oxydase négative

#### 3.2. Test de catalase

Dans cette étude, nous avons pu distinguer les bactéries à catalase négative et les bactéries à catalase positive par la formation des bulles de gaz. Cela indique que les bactéries possèdent l'enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène pour libérer l'O<sub>2</sub> comme chez *Staphylococcus aureus* et les entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae*, *citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*) (figure13). Dans le cas échéant, pas de formation des bulles d'oxygène, la bactérie ne possède pas donc l'enzyme de catalase.



**Figure 13 :** Apparition des bulles d'oxygène dans le cas d'une catalase positive.

### 3.3. Test de coagulase

La réaction est considérée comme positive lorsque le plasma est coagulé, ce qui nous a permis de confirmer que la bactérie de résultat positif appartient à l'espèce *Staphylococcus aureus* (figure 14).



**Figure 14 :** Mise en évidence de la coagulase libre chez *staphylococcus aureus*.

### 3.4. La galerie API 20E

La galerie API20 E est un test biochimique d'identification des bactéries à Gram négatif. Elle se compose de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés pour la mise en évidence d'enzymes ou de fermentation de sucres. Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui réhydrate les substrats. Les résultats des réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par un changement de couleur spontané ou révélé par l'addition de réactifs). La figure 15 représente un exemple de résultat d'identification d'*Acinetobacter* sp. Par la galerie API 20E.



**Figure 15 :** Résultat de l'identification d'*Acinetobacter* sp.

Sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées sont notées, ainsi que pour les tests nécessitant l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (**Annexe 3**) et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification (apiweb). Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1, 2 et 4) est indiquée pour chacun. A l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondant aux tests positifs sont rajoutés. On obtient un nombre à 7 chiffres qui sert de code d'identification (**Annexe 4**). Le tableau 08 représente les caractères biochimiques des souches isolées des différents prélèvements cités au paravent.

**Tableau 08 :** Caractères biochimiques des souches (Bactérie Gram -) isolées.

	ONPG	H2S	LDC	ODC	ADH	Urée	TDA	IND	CIT	VP	Gaz	Glu	Lac	Mobilité
<i>Klebsiella</i>	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Acinetobacter</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
<i>Enterobacter</i>	+	-	-	V	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+
<i>Citrobacter</i>	+	+/-	-	V	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+

(+): test positive, (-): test negative, v: test variable

Les résultats évocateurs pour les quatre souches isolées sont la positivité du lactose, Glucose et le Citrate et la négativité pour l'Indole et TDA. Pour les souches *Acinetobacter*, *Enterobacter* et *Citrobacter*, un résultat négatif est obtenu pour les tests Gaz, Urée et LDC, et un résultat positif est obtenu pour *Klebsiella* (**Annexe 5**).

En récapitulatif, de l'étude réalisée au laboratoire nous avons pu isoler et identifier 11 souches bactériennes qui sont représentées dans le tableau suivant.

**Tableau 09 :** Répartition des souches isolées selon le type de prélèvement.

Prélèvement	Souche bactérienne
<ul style="list-style-type: none"> <li>PDP</li> </ul>	<i>A.baumannii</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> 2 <i>staphylococcus aureus</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Pus</li> </ul>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>KT</li> </ul>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus coagulase négatif</i>

#### 4. Détermination du profil d'antibiorésistance

Les tests de sensibilité aux antibiotiques représentent la dernière étape de diagnostic microbiologique, ils permettent de dresser le profil de résistance d'une souche bactérienne.

Le principe consiste à déposer des disques de papier imprégné d'une concentration connue d'antibiotique, qui se réalise par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton ensemencé par la bactérie à étudier.

Cette partie du mémoire a été rédigée à partir de plusieurs résultats, de recherche scientifique, trouvés au préalable.

Les diamètres critiques sont définis pour chaque antibiotique par le Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). Selon le travail rédigé par **Amhal (2017)**,

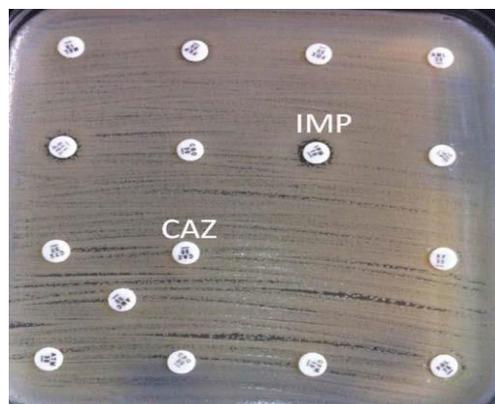
Des profils d'antibiorésistance de quelques souches bactériennes de type BMR sont décrites ci-dessous.

- *Acinetobacter baumannii*

La multirésistance d'*Acinetobacter baumannii* est constatée devant toute diminution des diamètres critiques ou des CMI à la Céfotazidime (17mm) ou à l'Imipénème (13mm), suivant les recommandations établies par le CASFM. Il s'agit souvent de souches multirésistantes aux antibiotiques notamment aux aminosides et aux fluoroquinolones (Tableau 10, figure 16).

**Tableau 10** : Valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour ABMR (CASFM-6.3)

Type d'antibiotique	TIC	TCC	PIP	CAZ	ATM	IMP	AN	GM	TM	CIP	FOS	RA	CS
Diamètre de zone d'inhibition (mm)	14	14	17	17	15	13	15	13	12	15	16	16	17
Sensibilité d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	R	R	R	R	R	R	I	I	R	R	S	S	S



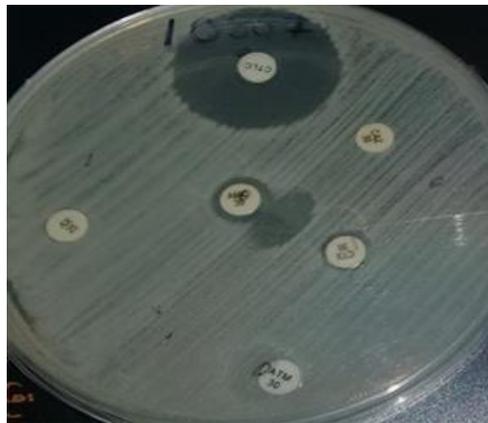
**Figure 16** : Antibiogramme d'une souche d'ABMR (Amhal, 2017).

- **Les bactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu**

La recherche du phénotype BLSE y compris *Klebsiella pneumoniae* est réalisée sur l'antibiogramme en plaçant les disques de céfotaxime (CTX) et de céftazidime (CAZ) de centre à centre d'un disque d'Amoxicilline / Acide clavulanique (figure 17). Les résultats de la multirésistance sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 11** : Valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour BLSE (CASFM-6.1)

Type d'antibiotique	AMP	AMC	CTX	CAZ	AN	GM	NA	CIP	C	FOS	TMP	CS
Diamètre de zone d'inhibition (mm)	13	10	17	14	18	18	10	15	10	13	6	17
Sensibilité d'une souche MR	R	R	R	R	S	S	R	R	R	I	R	S



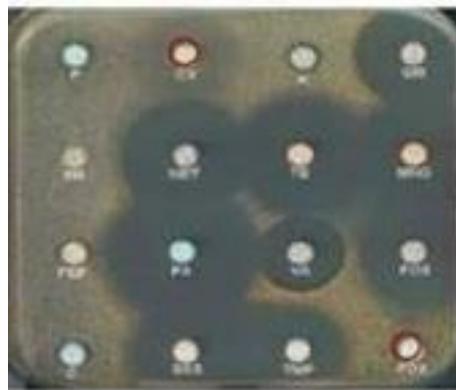
**Figure 17** : Antibiogramme d'une souche de *Klebsiella* (Soufi et al., 2019).

- ***Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline**

La résistance de *Staphylococcus aureus* à la Métilcilline a été recherchée par un disque de Céfoxitine et d'oxacilline dans les conditions standards de l'antibiogramme. Les souches, présentant un diamètre critique supérieur à 24 mm pour la Céfoxitine, ont été considérées sensibles à la Métilcilline. Les souches présentant des diamètres inférieurs à 24 mm pour la céfoxitine ont été considérées résistantes à la Métilcilline et donc résistantes à l'ensemble des bêtalactamines (Tableau 12, Figure 18).

**Tableau 12 : Valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour SARM (CASFM-6.4).**

Type d'antibiotique	PG	OXA	FOX	ATM	TE	E	CC	L	VA	K	AN	GM
Diamètre de zone d'inhibition	28	10	24	15	9	17	18	15	20	13	14	12
Sensibilité d'une souche MR	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R



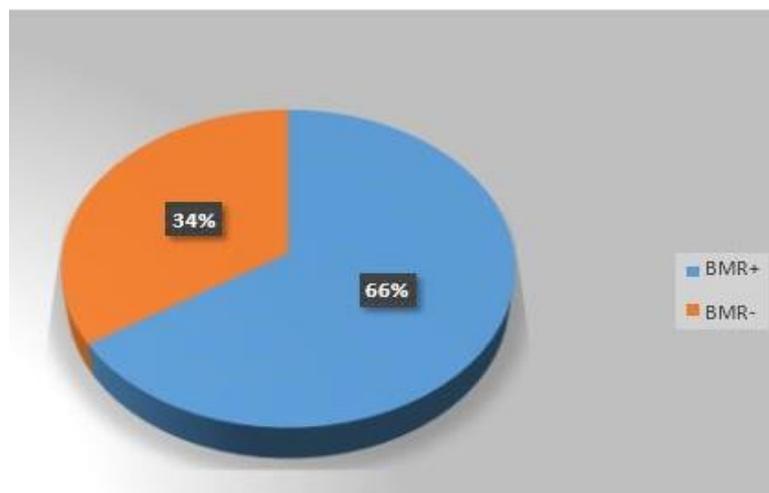
**Figure 18 : Antibiogramme d'une souche de SARM (Amhel, 2017)**

## 5. Profil épidémiologique des BMR : étude rétrospective

L'étude rétrospective de ce mémoire a été effectuée grâce à des fiches d'exploitation préalablement établies de l'unité microbiologie / parasitologie et du service de réanimation durant une période allant du 01 janvier 2019 au 31 Décembre 2019. Un total de 38 souches (BMR et non BMR) provenant de 4 types des prélèvements différents (hémoculture, PDP, KT, pus) ont été analysées. Les tableaux et les figures suivants représentent la répartition des isolats selon la nature des prélèvements, la nature de germe, le sexe, l'âge et le profil de résistance des bactéries et le taux des BMR.

### 5.1. Prévalence globale des BMR

Sur les résultats bactériologiques traités pendant l'année 2019, 38 prélèvements bactériologiques étaient positifs (présence des signes d'infection) dont 25 prélèvements soit une prévalence globale de 66% des BMR (Figure 19).



**Figure 19** : Prévalence globale des BMR.

BMR+ : Bactéries multirésistantes positives

BMR- : Bactéries multirésistantes négatives

Il ressort de notre étude que la prévalence des BMR en réanimation était de 66%. Ce taux était plus important à celui retrouvé dans une étude conduite par **Saidani et al. (2006)** en Tunisie, où un taux de 38.4% était retrouvé. D'autre étude réalisée au Maroc a rapporté une prévalence moins importante de 17 à 20% en service de réanimation (**Arsalane et al., 2010**).

## 5.2. Prévalence des BMR selon le prélèvement

Dans le tableau 13, la distribution des isolats a révélé que les prélèvements d'hémocultures démontrent la prédominance 86.6% des BMR. Ils sont suivis par les prélèvements PDP (prélèvement distaux protégés) 63.6%. Le résultat le moins important est constaté dans le prélèvement de cathéter avec un pourcentage de 60% des BMR ; cependant, d'après la lecture d'antibiogramme la souche isolée de prélèvement de pus était sensible.

**Tableau 13** : Répartition des BMR selon la nature des prélèvements durant l'année 2019.

Nature de prélèvement	Prélèvements Positives	Prélèvements (+) à BMR	Taux de BMR
Hémoculture	15	13	86,60%
KT	10	5	50,00%
PDP	11	7	63,60%
Pus	1	0	0%

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux réalisés par **Amhal (2017)** et qui a trouvé les mêmes résultats après avoir fait des analyses de l'examen cyto bactériologique des urines au niveau de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech.

## 5.3. Prévalence des BMR selon le sexe

La répartition des BMR en fonction du sexe est représentée dans la Figure 20. Parmi les BMR identifiées 54% retrouvées chez les masculins et 46% chez les féminins. Ce taux est identique à celui retrouvé au plusieurs études de Maghreb ; **Amhal (2017)** au Maroc et **Saidani et al (2006)** en Tunisie.

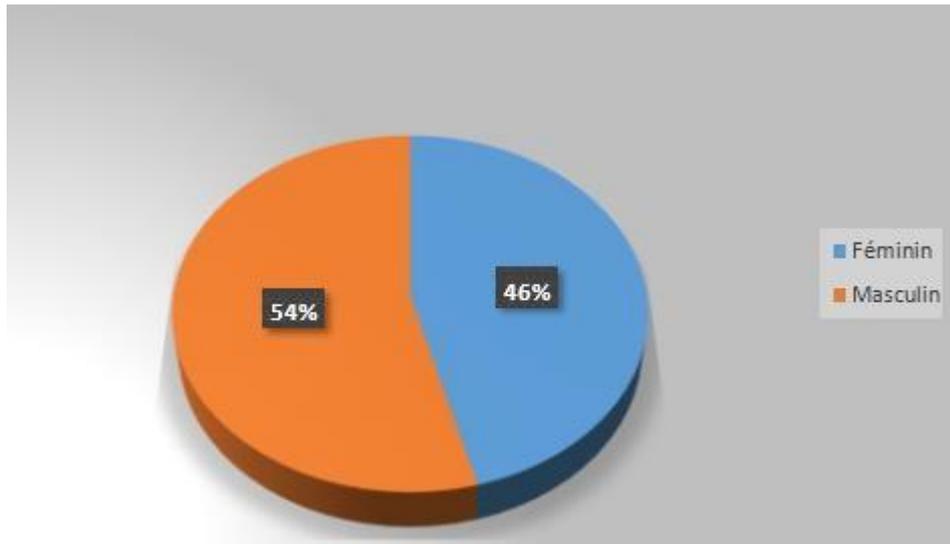


Figure 20 : Répartition des BMR selon le sexe.

#### 5.4. Répartition des BMR selon l'âge

Le pourcentage des cas positifs aux BMR le plus élevé (56%) est constaté avec la tranche d'âge plus de 45 ans (figure 21). La fréquence de l'infection semble augmenter avec l'âge. Les facteurs intervenant dans l'augmentation de l'incidence des infections aux BMR chez les personnes âgées sont multiples : Basse des défenses immunitaires, présence de beaucoup de dispositifs médicaux (Leclercq, 1996).

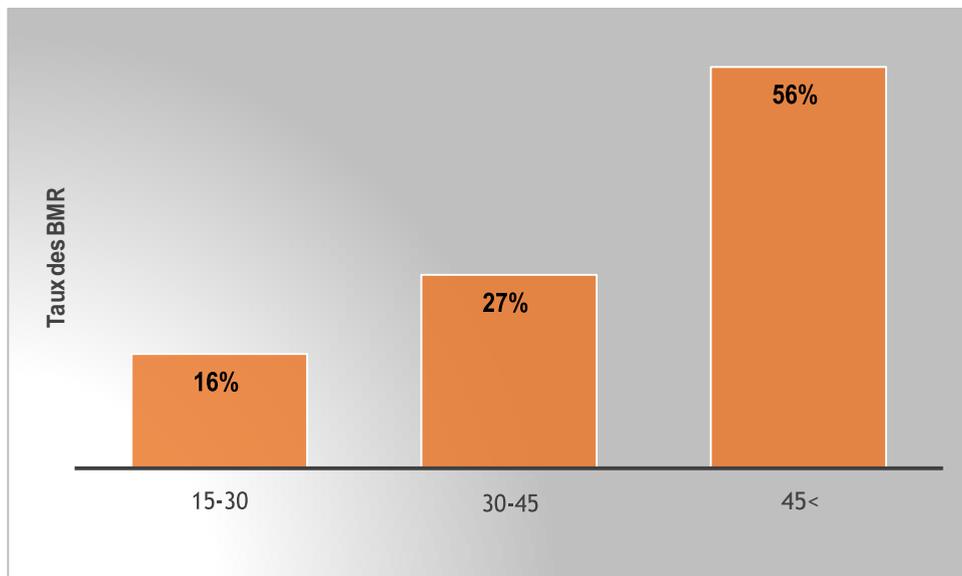


Figure 21 : Répartition des BMR selon l'âge.

### 5.5. Répartition selon le type d'espèce (BMR) isolé

La distribution totale des BMR isolées suivant leurs espèces est représentée dans la figure 22. *L'Acinetobacter baumannii* résistant à l'Imipenème était la BMR la plus fréquemment isolée (38%), suivie par les entérobactéries BLSE (35%), *Staphylococcus aureus* résistants à la Métilcilline (15%) et *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la Céftazidime (8%). Un seul entérocoque résistant aux glycopeptides a été retrouvé.

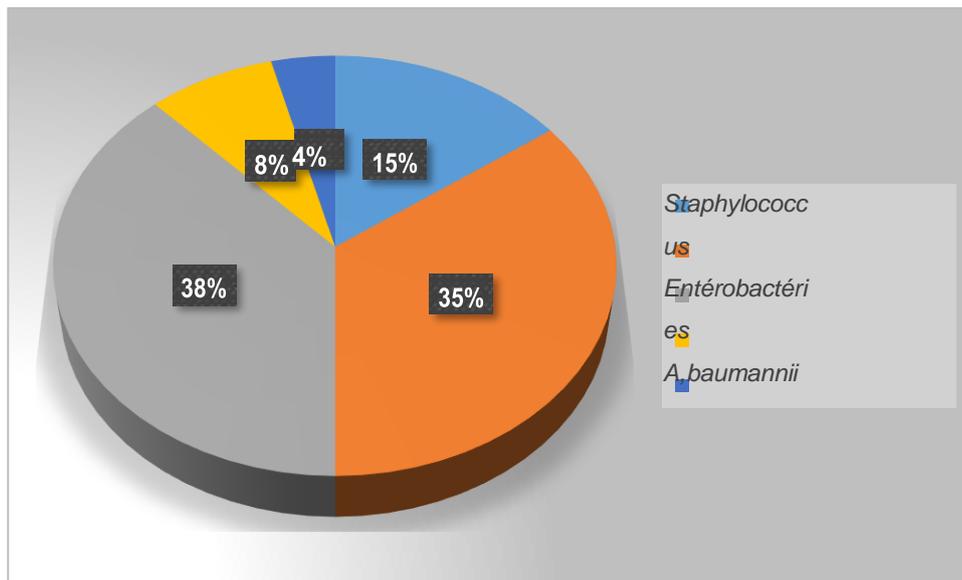


Figure 22 : Types des BMR isolés

La prédominance d'*Acinetobacter baumannii* a été mentionnée dans plusieurs études africaines ; **El ghazouani (2010)** a rapporté un taux d'*Acinetobacter baumannii* 46% suivi par BLSE (*Klebsiella pneumoniae*) (12%). **Katsaragakis (2008)** à son tour rapporté une prédominance de 25.6% d'*Acinetobacter baumannii* au niveau de service de la réanimation.

Par ailleurs, *l'Acinetobacter baumannii* multirésistante (ABMR) a occupé la deuxième place après les BLSE, au sein des BMR isolées dans d'autres études ; le taux de répartition d'ABMR rapportés par une étude menée au CHU de Marrakech, ainsi par une autre étude menée à Fès en 2015 étaient respectivement 18% et 27% (**Bouskraoui, 2016 ; Yahyaoui, 2015**).

➤ Taux des souches d'entérobactéries

La figure 23 représente la répartition des souches d'entérobactéries productrice des bêta-lactamases. La prévalence totale des espèces d'entérobactéries isolées, révèle que *Klebsiella sp.* occupe la première place parmi les entérobactéries (67%). En deuxième position on retrouve *Escherichia coli* avec (20%). En troisième position on retrouve et *Enterobacter* (13%).

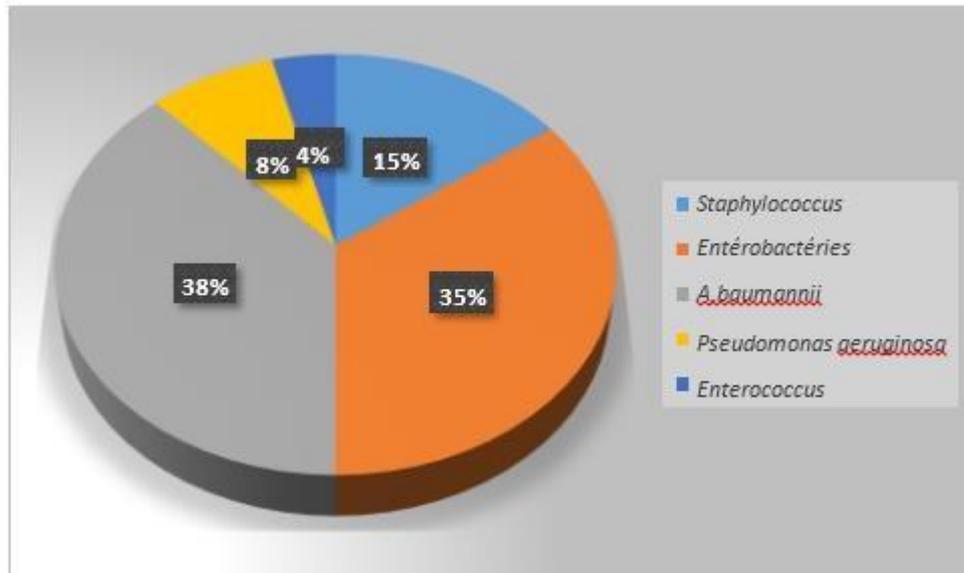


Figure 23 : Répartition des souches d'entérobactéries.

## 5.6. Le profil de résistance des bactéries isolées aux antibiotiques

### 5.6.1. Profil de résistance d'*Acinetobacter baumannii*

Les pourcentages de résistance des souches d'*A. baumannii* isolées sont à 100% pour la Ticarcilline (TIC), Ticarcilline + acide clavulanique (TCC), Pipéracilline (PIP), Céfotaxime (CAZ) (Figure 25). Ainsi, les résistances aux imipénème (IMP) et ciprofloxacine (CIP) sont très élevées (91%). La résistance aux autres antibiotiques tels que l'aztréoname (ATM), Amikacine (AK), Gentamycine (GM), Tobramycine (TM), et la rifampicine (RA) arrive à 82%. Cependant, la résistance de cette souche à la fosfomycine (FOS) atteint 54%. La plupart des souches d'*A. baumannii* sont sensibles à la colistine (CS) avec un pourcentage de 30%.

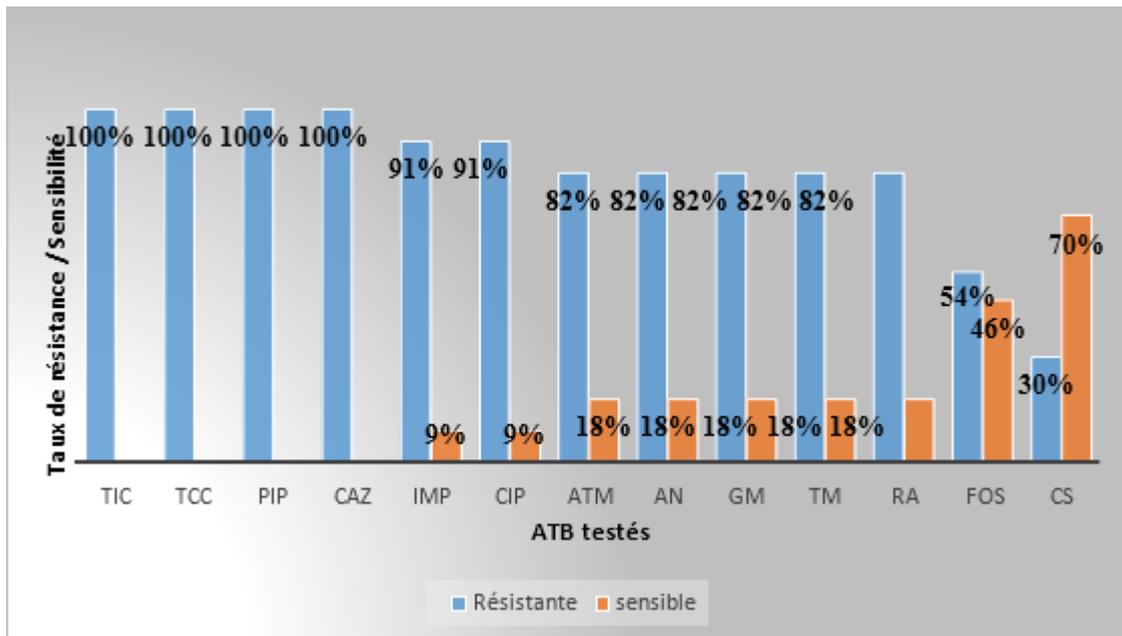


Figure 24 : Profil de résistance d'*Acinetobacter baumannii*.

*A. baumannii* a marqué une évolution importante de la résistance aux antibiotiques en raison de sa capacité à prospérer dans les milieux hospitaliers et à acquérir rapidement des mécanismes de résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques notamment : les bêta-lactamines à large spectre, les aminosides et les fluoroquinolones (Uwingabiye et al., 2016).

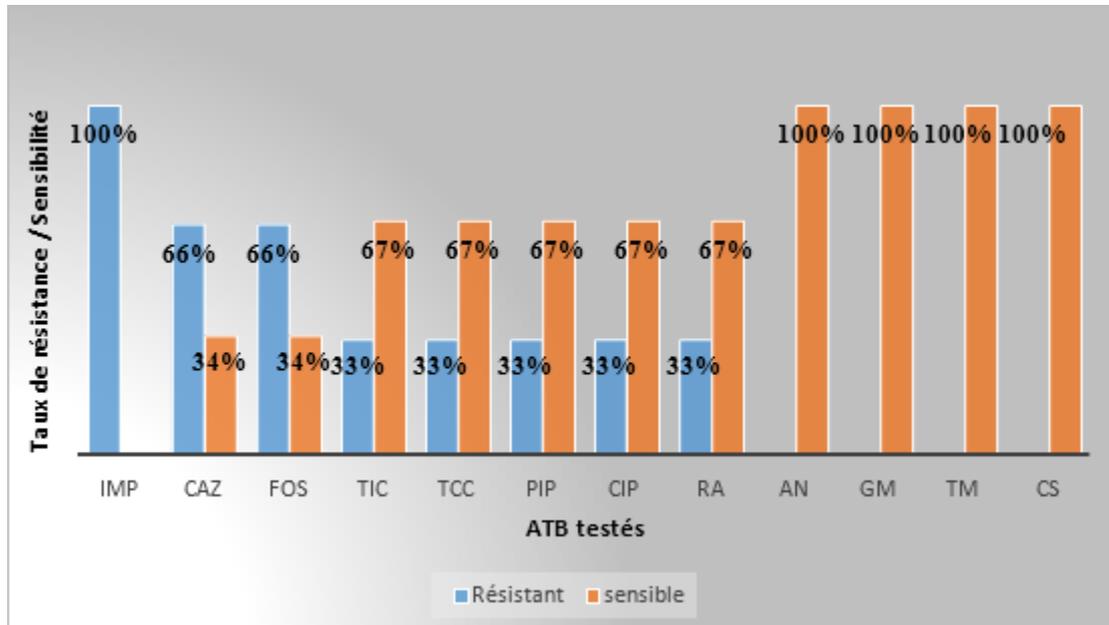
Le premier fait marquant des résultats obtenus est le taux de résistance élevé des souches à la Céfotazidime (CAZ) (100%) et à l'imipénème (91%). Selon les recommandations établies par le CASFM, il s'agit souvent de souches multirésistantes aux antibiotiques notamment aux aminosides et aux fluoroquinolones, et donc nous constatons que dans notre étude 91% des souches d'*Acinetobacter baumannii* sont des BMR.

Des études nationales et internationales ont soulevé des résultats similaires avec des taux de résistance élevés aux différents antibiotiques, notamment des études menées au CHU de Tizi Ouzou, à Rabat Maroc en 2015 et en France en 2018 (Bakour et al., 2013 ; Uwingabiye et al., 2016 ; ONERBA, 2018).

### 5.6.2. Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa*

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées sont à 100% résistantes à l'imipénème (IMP) (figure 25). Ainsi, ils sont révélés résistants à de nombreux antibiotiques tels que : ceftazidime(CAZ) et la fosfomycine (FOS) avec un taux de plus de 66 %, tandis que, ces souches sont

résistantes à la ticarcilline (TIC), ticarcilline+AC (TCC), à la piperacilline (PIP), à la ciprofloxacine (CIP) avec un pourcentage de 33%. Pour les antibiotiques tels que monobactame (azétroname (ATM)), les aminosides (Amikacine (AK), Gentamycine (GM), tobramycine (TM)), les taux de sensibilité sont à 100%.



**Figure 25 :** Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour l'imipénème, nos souches sont beaucoup plus résistantes par rapport à celles isolées dans d'autres études : 14,6% en Espagne et 15,2% en France (**Sevillano et al., 2006**). De plus, pour les fluoroquinolones, 33% de ces souches sont résistantes à ce type d'antibiotique. Nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus dans une étude Bulgare (80.3%) (**Starteva et al., 2010**). Suivant les recommandations établies par le CASFM, la souche de *Pseudomonas aeruginosa* se considère comme une souche multirésistante lorsqu'elle résiste à l'imipénème et à la ceftazidime en même temps. De nos résultats, on constate que 67% des souches isolées sont des BMR. Ce taux était plus élevé par rapport à celui retrouvé dans les hôpitaux français où la proportion des souches de *Pseudomonas aeruginosa* multirésistante a diminué de 10 % à 8 % entre 2008 et 2013 selon les réseaux français (**ONERBA, 2018**).

### 5.6.3. Profil de résistance de *Staphylococcus*

Les souches de *Staphylococcus* isolées présentent des taux de résistance importants vis-à-vis la pénicilline (PG) (100%), l'oxacilline (OXA), céfoxitine(FOX) et l'azetreonam (ATM) (57%). Cependant, la tétracycline (TE), la vancomycine (VAN) et l'amikacyne (AK) sont résistantes avec un taux faible (28,5%) (Figure 26).

D'autres antibiotiques comme l'érythromycine (E), la clindamycine(CC), lincomycine(L), kanamycine(K), gentamycine (GM) représentent un taux de résistance très faible (14%) vis-à-vis ces souches isolées. 57 % des *Staphylococcus* obtenus sont résistants aux céfoxitine (résistantes aux toutes les bêta- lactamines) et à l'oxacilline et donc ces isolats se considèrent comme des *Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline.

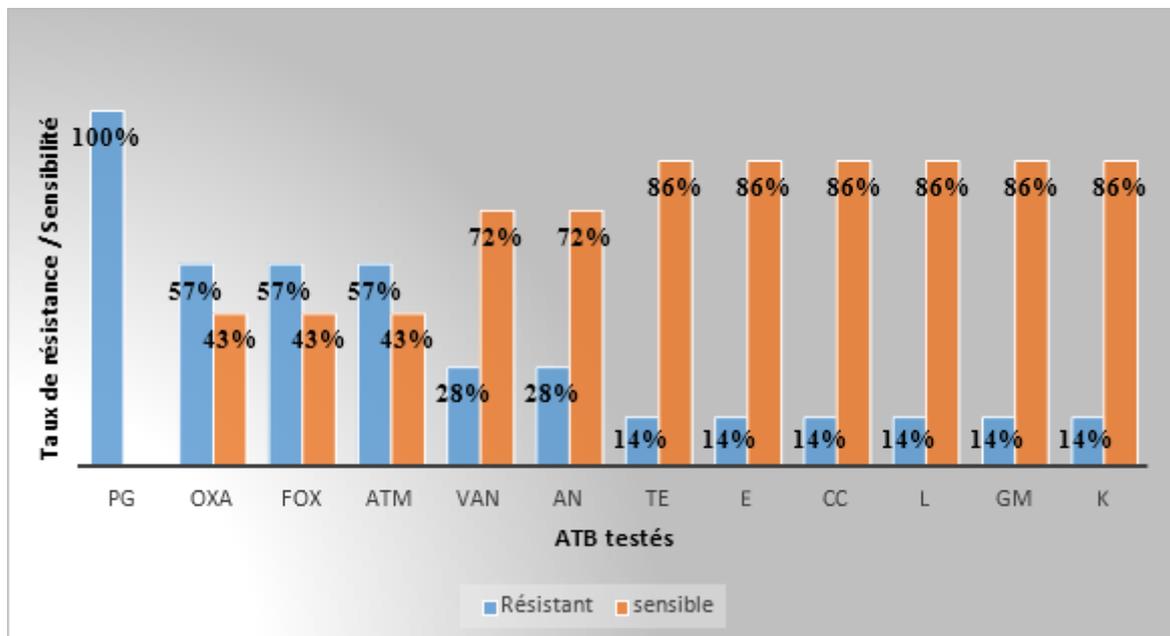
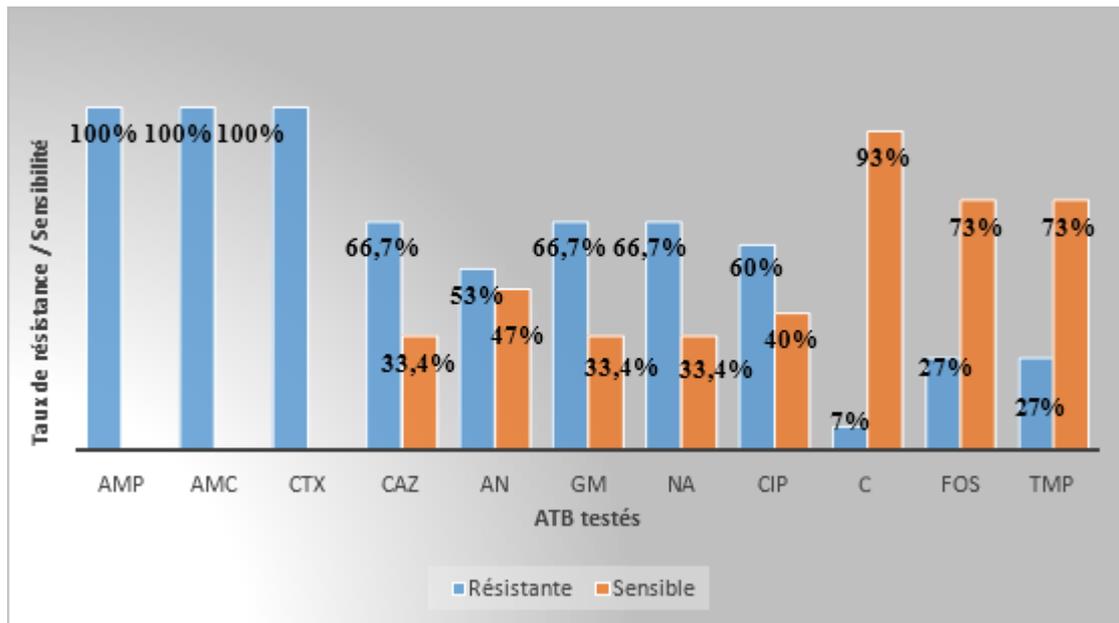


Figure 26 : Profil de résistance de *Staphylococcus*.

### 5.6.4. Profil de résistance des autres entérobactéries

D'après l'histogramme (Figure 27), toutes les souches d'entérobactéries isolées ont une résistance aux Pénicillines (l'ampicilline, l'amoxicilline+AC), aux céfotaxime (100%). La Gentamycine, l'acide Nalidixique et ceftazidime présentent un taux de résistance 66%. De plus, ces souches représentent une résistance aux ciprofloxacine (60%), amikacine (53%), fosfomycine et triméthoprim (26.6%) et chloramphénicol(7%).



**Figure 27 :** Profil de résistance des entérobactéries.

Le taux de résistance de nos résultats aux  $\beta$ -lactamines (100%) est similaire à celui de **Derguini et al. (2014)** à savoir un taux élevé de résistance à l'amoxicilline et à l'acide clavulanique (95,65%), du Céfoxitine (100%) et du Céfotaxime (95,65%).

Dans une autre étude réalisée sur des espèces *d'E. coli*, différents taux de résistance ont été observés avec l'Acide Nalidixique (23,07%), le Triméthoprim (20,80%), le Chloramphénicol (19,92%) ; alors que, les plus faibles taux ont été enregistrés pour l'Amikacine (9,23%) (**Boudering et al., 2017**).

### 5.6.5. Profil de résistance des Enterococcus

Parmi les souches isolées en 2019, nous avons trouvés que deux souches de genre Enterococcus, ont une résistance à 100% au céfotaxime et au lévofloxacine (Figure 28). Une de ces deux souches est résistante aux ampicilline, l'érythromycine, lincomycine, streptomycine, et la clindamycine, cette souche est donc résistante au glycopeptides (vancomycine).

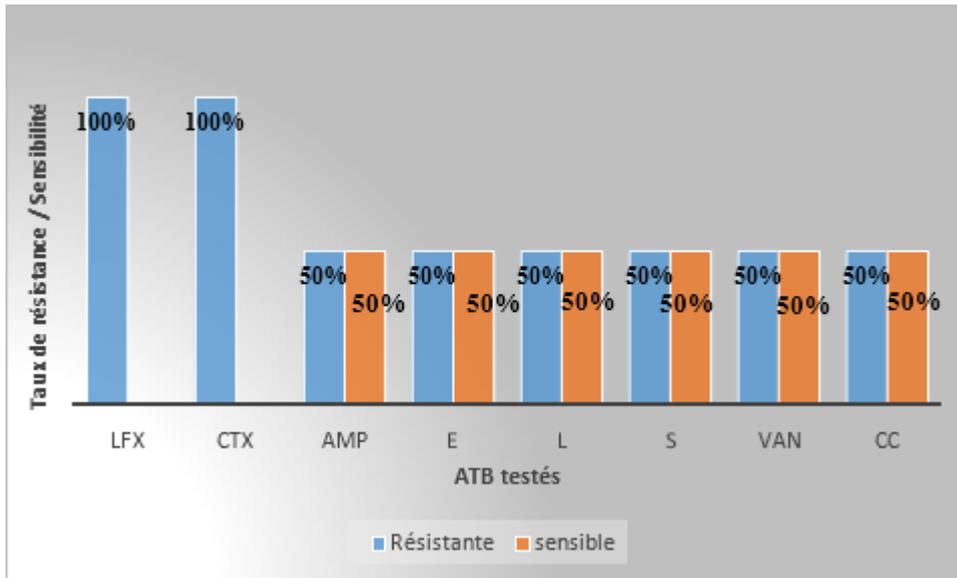


Figure 28 : Profil de résistance des Enterococcus.

### 5.7. Taux de multirésistance au sein des espèces

*L'Acinetobacter baumannii* résistant à l'Imipénème a présenté le taux de résistance le plus élevé (91%) suivi par le *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la Céfotaxime (66.6%), les entérobactéries BLSE avec un pourcentage 60%, *Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline (57%), et enfin Enterococcus (50%). Ces résultats sont représentés dans la Figure 29.

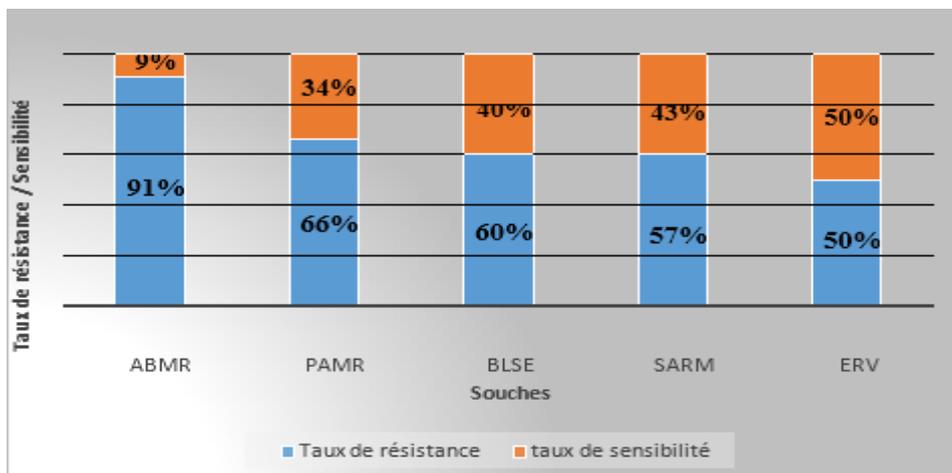


Figure 29 : Taux de multirésistance au sein des espèces (tous les prélèvements confondus)

ABMR : *Acinetobacter baumannii* multirésistant ; PAMR : *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant ; BLSE : Entérobactéries productrices des Bêta-lactamase ; SARM : *Staphylococcus aureus* résistante à la méricilline ; ERV : *Enterococcus* résistante à la vancomycine

- Des résultats représentés au-dessus, il a été constaté plusieurs points dont :
  - ✓ La problématique actuelle de la multirésistance se pose actuellement chez les bacilles à Gram négatif. Le Réseau Epidémiologique des Utilisateurs du Systeme SIR(REUSSIR) en 2012, annonce que la résistance de *A.baumannii* à l'Imipenème a augmenté de plus de 20 %. Cette situation a été rapportée par d'autres pays européens comme l'Espagne ou le Royaume Uni (**Valverde et al., 2004**).
  - ✓ Le taux de *Pseudomonas aeruginosa* multirésistante (PAMR) (66%) était plus élevé par rapport à celui retrouvé dans une étude conduite par **Chinbo et al. (2014)** ; d'où ils ont trouvé un pourcentage de 25,6% de PAMR de l'ensemble des souches isolées touchant les services de réanimation pédiatrique.
  - ✓ Les résultats obtenus sont en faveur d'une production de BLSE chez 60% des souches. Cette valeur est supérieure par rapport au résultat obtenue par **Souna (2011)**, qui a noté un taux d'isolement de ces souches plus important en réanimation (48,7%) qu'autres services signalés.
  - ✓ Le pourcentage global du SARM parmi l'espèce *S. aureus* est homogène dans les hôpitaux français de 15 à 21% quel que soit le type de prélèvements cliniques selon les réseaux de surveillance (**ONERBA, 2018**). Par ailleurs **Velasco et al. (2005)** ont constaté la présence de 94,1% de 51 souches de SARM comme étant Méricillino-résistantes.
  - ✓ D'après les enquêtes réalisées entre 1999 et 2004, le taux de résistance des Enterococcus résistantes à la vancomycine était toujours inférieur à 2% (**ONERBA, 2018**).

# ***CONCLUSION***

## CONCLUSION

---

Les bactéries isolées du milieu hospitalier sont des germes opportunistes. Aujourd'hui, en raison de leur résistance à une large variété d'antibiotiques. Elles sont les agents responsables d'infections nosocomiales sévères et d'épidémies qui peuvent entraîner de grandes difficultés de prise en charge pour les patients, avec des situations d'impasse thérapeutique (Nouri et Ziadi, 2015).

Les BMR ont causé de nombreuses épidémies au niveau local, régional et international, ayant fréquemment comme foyer d'origine les services de réanimation. C'est pour la raison que notre étude a été effectuée au niveau de service de réanimation de l'Hôpital Militaire Régional Constantine « COMMANDO BENBAATOUCHE ABDELALI ».

L'étude prospective (2020) avait pour objectif principal d'établir l'isolement et l'identification des bactéries multirésistantes (BMR), les plus fréquemment retrouvées dans des prélèvements provenant du service de la réanimation. De cette étude on a pu isoler et identifier plusieurs souches tels *Acinetobacter baumannii*, *staphylococcus aureus*, *klebsiella pneumoniae*, ces souches sont reconnues dans la littérature comme des BMR (SFAR et SRLF, 2009). Malheureusement, le profil d'antibiorésistance n'a pas été étudié à cause des conditions vécues (Covid-19), d'où le travail dans le laboratoire s'est arrêté.

De plus, une description du profil épidémiologique et de résistance des BMR « rétrospective », de l'année 2019, a été analysée, sur la base des données disponibles au niveau des registres du laboratoire de microbiologie et parasitologie.

Des résultats trouvés, il a été conclu que les germes identifiés *Acinetobacter baumannii* était le germe le plus fréquemment isolé dans notre unité. En revanche, cette bactérie occupe les dernières positions dans les pays développés.

Des taux alarmants de multirésistance bactérienne (66%) ont été enregistrés pour l'ensemble des souches concernées : les entérobactéries productrices des bêta-lactamases, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et les Enterococcus résistantes à la vancomycine.

Un taux de 35% d'entérobactéries est retrouvé dans les différents prélèvements provenant du service de réanimation. Les 3 espèces les plus isolées sont : *Klebsiella sp*, *Escherichia coli*, *Enterobacter sp*. Ces souches ont présenté des phénotypes de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques en particulier les bêta-lactamines, les quinolones et les aminosides.

## CONCLUSION

---

Les *Staphylococcus aureus* résistantes à la Méricilline représentent une part non négligeable parmi les BMR identifiées 15%. Cette valeur homogène par rapport aux résultats de plusieurs études françaises selon le réseau de surveillance (**ONERBA, 2018**). Une souche d'Enterococcus était résistante à la vancomycine (50%).

Cette étude nous a aidés à montrer que, dans un service de réanimation où les malades sont fortement fragilisés, la lutte contre la transmission croisée est fondamentale. Il convient pour cela de dépister au plus vite les patients colonisés par des germes multirésistants, qui constituent un réservoir à partir duquel les bactéries peuvent disséminer et d'appliquer une stratégie d'isolement spécifique destinée à protéger les autres malades.

L'antibiothérapie représente le facteur majeur d'acquisition des BMR, pour cela l'usage rationnel, prudent et adapté représente un moyen important de prévention à côté des mesures d'hygiène habituelles ; Aujourd'hui un nouvel espoir à venir : la phagothérapie est une des solutions les plus prometteuse. Cette dernière consiste à mettre à profit les armes que l'évolution a créé pour lutter contre les bactéries, ces armes sont des virus s'appeler les bactériophages (**Ravat et al., 2015**).

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

- AKRAM, TOUITI. 2001. "Colonisation Par Bactéries Multirésistantes à l'admission En Service de Réanimation." *Medecine et Maladies Infectieuses*.
- Allali, S., M. Bagueri, M. Dimitri, M. Lakmichi, Z. Dahami, and I. Sarf. 2015. "Entérobactéries Productrices de BLSE : Prévalence, Co-Résistance et Facteurs de Risque ; Où Sommes Nous ?" *Progrès En Urologie*.
- Ambler, R. P., A. F.W. Coulson, J. M. Frere, J. M. Ghuysen, B. Joris, M. Forsman, R. C. Levesque, G. Tiraby, and S. G. Waley. 1991. "A Standard Numbering Scheme for the Class A  $\beta$ -Lactamases [1]." *Biochemical Journal*.
- Amhal, F. (2017). Profil épidémiologique actuel des bactéries multirésistantes Expérience de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech. MEDECINE, Maroc.
- Arsalane , L., QamoussY, Chafik , A., Boughalem , M., & Louzi, L. (2010). Epidémiologie des bactéries multi résistantes dans un service de réanimation polyvalente d'un hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006et septembre 2009. *Les Technologies de laboratoire*, 5(21).
- Aouati , H. (2009). Isolement des souches de Staphylococcus aureus résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. constantine .
- Azmi, Fazren, Mariusz Skwarczynski, and Istvan Toth. 2016. "Towards the Development of Synthetic Antibiotics: Designs Inspired by Natural Antimicrobial Peptides." *Current Medicinal Chemistry* 23 (41): 4610–24.
- Bakour , S., Touati , A., Sahli , F., Ameer , A., & Haouchine , D. (2013). Antibiotic resistance determinants of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii clinical isolates in Algeria. *Diagnostic microbiology and infectious disease.*, 76(4), 529-31.
- B. , Maamar, Abdelmalek R., Messadi A.A., and Thabet L. 2019. "Étude épidémio-clinique des infections à entéro- bactéries productrices de carbapénémases chez les brûlés clinicaL." *Annals of Burns and Fire Disasters* XXXII (March).
- Benoît.M. 2015. *Enterocoques Résistants a La Vancomycine (Erv) : De Grandes Epidemies Vers Une Gestion En Routine*. Toulouse: Université Paul Sabatier, Toulouse 3.
- Boivin, Sandra, Chantal Caux, Chantal Soucy, and André Allard. 2016. "Les Entérobactéries Productrices de Carbapénémases." *Perspective Infirmiere: Revue Officielle de l'Ordre Des Infirmieres et Infirmiers Du Quebec* 13 (5): 53–56.
- Boscher, Camille. 2014. "Epidémie à Acinetobacter Baumannii Multi-Résistant Dans Un Service de Réanimation Polyvalente : Évaluation Par Cas-Témoins de l' Impact de l' Antibiothérapie." UNIVERSITE DE LORRAINE.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Bouzeraa , A., Berrihil, H. (2018). Bactériologie des Entérobactéries isolées au niveau du Service de Réanimation de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC) . constantine
- Brun-Buisson, C., G. Bonmarchand, J. Carlet, J. Chastre, A. Durocher, J. Y. Fagon, P. Loirat, et al. 2005. "The Risk for and Approaches to Control of Nosocomial Infections in ICUs: Guideline from the SRLF/SFAR Task Force on Nosocomial Infections in ICUs." *Reanimation* 14 (6): 463–71.
- Calhoun, Chara, Harrison R. Wermuth, and Gregory A. Hall. 2020. *Antibiotics. StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Cherrabi, Kaoutar. 2016. "Les Gestes de Réanimation En Simulation : Le guide multimedia." Sidi Mohamed Abdellah.
- Chinbo, M., Moutachakkir, M., Addebbo, A., El Khoudri , N., et Chabaa, L. (2014, NOVEMBRE). Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des isolats de *Pseudomonas aeruginosa* dans un hôpital pédiatrique marocain: implications thérapeutiques. *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 11, 283-290.
- CISMeF. 2002. "Recommandations Du RAISIN (Réseau d'alerte d'investigation et de Surveillance Des Infections Nosocomiales) Pour La Surveillance Des Infections Nosocomiales - CISMeF.
- Combe, C, R L Pisoni, F K Port, E W Young, B Canaud, D L Mapes, and P J Held. 2001. "[Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study: Data on the Use of Central Venous Catheters in Chronic Hemodialysis]." *Nephrologie* 22 (8): 379–84.
- Conly, John. 2002. "Antimicrobial Resistance in Canada." *Cmaj*.
- Cosgrove, SE, Y Carmely, et E Sara. «The impact of antimicrobial resistance on health and economic outcomes. » *Clin Infect Dis* 36, n° 11 (2003) : 1433–7.
- Couderc, Clotilde. 2015. "Impact Des Antibiotiques Sur l'histoire Naturelle de La Colonisation Nasale Par *Staphylococcus Aureus*." [Http://Www.Theses.Fr](http://www.Theses.Fr), December, 1–140.
- Daban, Professeur. 2017. "La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ?" *These pour le diplome d'etat de docteur en pharmacie soutenue*.
- Dali, Ali Abdessamad. 2015. "Infection Nosocomiales a Bacteries Multiresistance." Université D'ORAN 1 Ahmed Benbella 0
- Dauvergne, Emilie. 2018. "Détection de Gènes de Résistance Aux Antibiotiques Dans Les Bactéries Isolées Des Produits de La Mer." Université de Lorraine.
- Davis, S. L., M. B. Perri, S. M. Donabedian, C. Manierski, A. Singh, D. Vager, N. Z. Haque, et al. 2007. "Epidemiology and Outcomes of Community-Associated Methicillin-Resistant

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Staphylococcus Aureus* Infection.” *Journal of Clinical Microbiology* 45 (6): 1705–11.
- Demarquilly, C., J.-M. Boissau, h. Bousquet, g. Cuyille, Marie jailler, Jacqueline Jamot, and L. L’hotelier. 1973. “Composition Chimique, Caractéristiques Fermentaires, Digestibilité Et Quantité Ingérée Des Ensilages De Fourrages : Modifications Par Rapport Au Fourrage Vert Initial.” *Annales de Zootechnie* 22 (1): 1–35.
- Djimabi Salah,, F., Soubeiga,, S., Ouattara, A., Yao Sadj, A., Metuor-Dabire, A., Obiri-Yeboah, D., et Banla-Kere, A. ( 2019). Distribution of quinolone resistance gene (qnr) in ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in Lomé, Togo. 104.
- Eddayab.Y. 2012. “Detection Des Bacteries Multiresistantes Au Laboratoire De Bacteriologie Du Chu De Limoges.
- El ghazouani. (2010). Les infections a germes multiresistants en reanimation. Faculte de medecine et de pharmacie, maroc.
- Elouennass, M., I. Sahnoun, A. Zrara, T. Bajjou, and S. Elhamzaoui. 2008. “Épidémiologie Et Profil De Sensibilité Des Isolats D’Hémoculture Dans Un Service De Réanimation (2002-2005).” *Medecine et Maladies Infectieuses* 38 (1): 18–24.
- European Centre for Disease Prevention and Control. 2014. “Antimicrobial Resistance (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report for 2014.” 2014.
- Evans, Roger. 2014. “European Centre for Disease Prevention and Control.” *Nursing Standard (Royal College of Nursing (Great Britain) : 1987)* 29 (9): 30.
- Felten , A., Grandry , B., & agrange, P. (2002). Evaluation of Three Techniques for Detection of Low-Level Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a Disk Diffusion Method with Cefoxitin and Moxalactam, the Vitek 2 System, and the MRSA-Screen Latex Agglutination Test. *40*(8), 2766–2771.
- Ferrari, James A., and George P. Georghiou. 1991. “Quantitative Genetic Variation of Esterase Activity Associated with a Gene Amplification in *Culex quinquefasciatus*.” *Heredity* 66 (2): 265–72.
- Gutmann, Laurent, and Olivier Lortholary. 2010. “Antibiotic Resistance: A World Concern in 2010.” *Medecine/Sciences*. Editions EDK.
- Hadjer, Bouhafs, Bourefrouf Rayen, and Zoghmar Amani. 2018. “Profil Bactériologique et Épidémiologique Des Bactéries Responsables Des Infections Du Site Opératoire à l’ HMRUC.” Université des Frères Mentouri Constantine Faculté.
- Hassiba, Allal, and Hadbi Manel. 2018. “Les Infections à *Acinetobacter Baumannii* à l’hôpital Belloua de Tizi Ouzou.” Université Mouloud Mammeri.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Hooper, David C. 2001. "Emerging Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance." In *Emerging Infectious Diseases*, 7:337–41. Centers for Disease Control and Prevention (CDC).
- Haouam Loubna et Serdouk Sara. 2018. Contribution à l'isolement et l'identification des bactéries provenant des hammams publics. - Guelma.
- Institut national de santé publique Quebec. 2012. Mesures de Prévention et Contrôle de l'entérocoque Résistant à La Vancomycine Dans Les Milieux de Soins Aigus Du Québec.
- Isnard, Christophe. 2017. "Enterococcus Spp . : Entre Pathogènes Opportunistes et Probiotiques." Université de Caen Normandie.
- Jacoby, G. A., and L. Sutton. 1985. "β-Lactamases and β-Lactam Resistance in Escherichia Coli." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 28 (5): 703–5.
- JL Avorn, JF Barrett, PG Davey, SA McEwen, and TF O'Brien and SB Levy. 2001. "Antibiotic Resistance: Synthesis of Recommendations by Expert Policy Groups Alliance for the Prudent Use of Antibiotics." *WHO, Boston, USA*.
- Joffin, Jean-Noël, and Guy Leyral. 2014. *Microbiologie Technique - Tome 1, XxxDictionnaire Des Techniques*. Edited by Canopé - CRDP de Bordeaux.
- Katsaragakis. (2008). Acinetobacter baumannii infections in a surgical intensive care unit : predictors of multi-drug resistance. 32, 1194-202.
- Kenitra, C H R A L Idrissi, Ahlam Qebibo, Abdslam El Akhal, Aicha Faiq, Abeer Esmail, A Hammoumi, Mohammed Ouhsine, and El Hassan Berny. 2014. "Étude Bactériologique Des Analyses Médicales Au Service Bactériologie Au." *International Journal of Innovation and Applied Studies ISSN 2028-9324* 9 (3): 1206–23.
- Khairy, Ndiaye adja oumou. 2005. "Les Entérobactéries Secrétrices Des Beta-Lactamase a Spectre Élargi." Université Cheikh Anta DIOP de DAKAR.
- Khaldi, H. (2016). Epidémiologie de l'infection à ACINETOBACTER baumannii au CHU de Marrakech. marrekch .
- Khiev, B, and B Veber. 2010. "Patient BMR +: Risques de Contamination et Prévention En Préhospitalier et Aux Urgences." *Conférences d'actualisation SFAR*.
- Koné S.M. 2010. "Bilan de Sept ( 7 ) Ans d ' Hémoculture En Milieu Hospitalier Pédiatrique de Bamako." UNIVERSITÉ DE BAMAKO.
- Krahal, Pr, Pr Rbelouni, A Aboun, Pr Htali Maamar, Mfkmissoum A Pr BENSLIMANI, H N Ammari Benamrouche, Pr K Rahal, et al. 2018. "Surveillance de La Résistance Des Bactéries Aux Antibiotiques.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Lagha, Nouria. 2015. "Étude de La Résistance Aux Antibiotiques Des Entérobactéries Productrices de  $\beta$ -Lactamases à Spectre Étendu (BLSE) Isolées de l'hôpital de Laghouat." *Thèse de Doctorat*. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen.
- Lambert, T. 1997. "État Actuel de La Sensibilité Des Bactéries Aux Aminosides." *Reanimation Urgences*. Elsevier Masson. [https://doi.org/10.1016/s1164-6756\(97\)80203-4](https://doi.org/10.1016/s1164-6756(97)80203-4).
- Larpent-Gourgaud, Monique. 1997. *Mémento Technique de Microbiologie*. 3e édition. Paris: Lavoisier - Tec & doc.
- Lolom, Isabelle, Claude Deblangy, Annick Capelle, Wafaa Guerinot, Elisabeth Bouvet, Beatrix Barry, Katel Goyau, François L'heriteau, Christine Bonnal, and Jean Christophe Lucet. 2009. "Impact d'un Programme Prolongé d'amélioration Continue de La Qualité Sur Le Risque Infectieux Lié Aux Cathéters Veineux Périphériques." *Presse Medicale* 38 (1): 34–42.
- l'ONERBA, R. d. (2018). *conseil scientifique de l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques*.
- Lucet, J C, and O Jonquet. 2002. "Prévention de La Transmission Croisée En Réanimation." *Réanimation* 111 (4): 247 YP – 301.
- Lucet, Jean Christophe, Sylvie Chevret, Isabelle Durand-Zaleski, Claude Chastang, and Bernard Régnier. 2003. "Prevalence and Risk Factors for Carriage of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus at Admission to the Intensive Care Unit: Results of a Multicenter Study." *Archives of Internal Medicine* 163 (2): 181–88.
- M, Archambaud. 2009. "Les Antibiotiques." Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse. 2009.
- Manel, Debabza. 2015. "Émergence En Milieu Hospitalier Des Bacilles Gram Négatifs Multirésistants Aux Antibiotiques : Étude Bactériologique et Moléculaire." Université Badji Mokhtar-Annaba.
- Manor, Joshua, Nava Blum, and Yoav Lurie. 2016. "'No Good Deed Goes Unpunished': Ignaz Semmelweis and the Story of Puerperal Fever." *Infection Control and Hospital Epidemiology*.
- Marcel, Jean Pierre. 2005. "Medical Impact of Antibiotic Susceptibility Testing." *Antibiotiques* 7 (1): 53–58.
- Martin, C., A. Martin, and J. J. Bonneru. 2010. "Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques." *Annales de l'Anesthésiologie Française* 22 (6): 613–22.
- Meriah, s., & Nabi Imane, i. (2017). L'incidence des bactéries multi-résistantes " bmr" en réanimation chu tlemcen: intérêt du portage digestif . Tlemcen, département de pharmacie.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Merniez, Maroua, Safa Merniez, and Larem Merradi. 2018. "Etude de La Resistance Aux Antibiotiques Des Souches d'Escherichia Coli Isolées Du Lait de Vache Commercialise Dans La Région d'Ain M'Lila et Ain Fakroun.
- Montalegre, Romain. 2016. "Evaluation Du Risque d'émergence de Résistances de Pseudomonas Aeruginosa à Différents Antibiotiques Antipyocyaniques En Réanimation," May.
- Muller, Allison. 2018. "Bon Usage Des Antibiotiques : Résultats d' Actions Dans Différents Types d' Établissements de Santé." Bourgogne franche-comte.
- Muylaert, A., and J. G. Mainil. 2012. "Résistances Bactériennes Aux Antibiotiques : Les Mécanismes et Leur « contagiosité »." *Annales de Medecine Veterinaire* 156(2): 109–23.
- Nouri, M, et C Ziadi. « Étude bactériologique et résistance aux antibiotiques de Klebsiella pneumonie. » Constantine, Génétique moléculaire, 2015.
- OMS. Organisation Mondiale de la Santé. 2017. *Guide Pédagogique Pour La Sécurité Des Patients*.
- OMS. 2010. "Prévention Des Infections Nosocomiales." WHO. 2011. "Recommandations de l'OMS Pour l'hygiène Des Mains Au Cours Des Soins (Résumé).
- Paterson, David L, and Robert A Bonomo. 2005. "Clinical Update Extended-Spectrum Beta-Lactamases : A Clinical Update." *Clinical Microbiology Reviews*.
- Piednoir , E, E Muggeo , et P Chavanet . « Qualité de la prise en charge des infections à bactéries multirésistantes au CHU de Dijon. » *Méd Mal Infect* 30 (2000) : 87-93.
- Pierrot, Sandra. 2018. "Portage de Bactéries Multirésistantes En Structures d' Accueil Pour Personnes Âgées : Évaluation d' Une Politique de Dépistage Cible En Fonction Des Facteurs de Risque." Université de Lorraine.
- Podrazik, Calabro et PM. 1995. "Managed Care Morbidity and Mortality Conference." *Annals of Emergency Medicine*.
- Prey, S., A. Sparsa, A. Boumediene, J. M. Bonnetblanc, P. Weinbreck, and E. Denes. 2007. "Toxidermies Induites Par Les Glycopeptides." *Medecine et Maladies Infectieuses* 37 (5): 270–74.
- Ramdani Bouguessa, N., R. Belouni, M Seghier, A. Benslimani, and F. Boulahbal. 2016. Manuel de Microbiologie 3ème Année Médecine | Office Des Publications Universitaires. Edited by Alger : Office des publications Universitaires. 6 eme. Alger.
- Ravat, F, P Jault, et J Gabrad. «Bactériophages et phagothérapie: utilisation de virus naturels pour traiter les infections bactériennes.» *Ann burns fire disasters* 28, n° 1 (mars 2015): 13-20.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Rongvaux-Gaïda, D., and C. Piton-Malleret. 1992. "Intérêt Du Dosage de l'activité Cytochrome Oxydase Pour l'évaluation de La Flore Psychrotrophe Du Lait Cru à l'arrivée à l'usine." *Le Lait* 72 (2): 221–32.
- Saadaoui, Mehdi, and Mehdi. 2008. "La Fréquence Des Bactéries Multi Résistante a l'hôpital Hassan Ii de Settat.
- Saïdani , M., Boutiba , I., Ghozzi , R., Kammoun , A., & Ben Redjeb, S. (2006). Profil bactériologique des bactériémies à germes multi résistants à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis. *Med Mal Infect*, 36, 163-166.
- Salima, GUENOUNE. 2009. "Biodégradation de Monochlorophénols Par Le Microbiote Tellurique de La Plaine d'El Harrouch." Mentouri Constantine.
- Service, Public Health, and Human Services. 2004. "National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, Data Summary from January 1992 through June 2004, Issued October 2004." *American Journal of Infection Control* 32 (8): 470–85.
- Sesques, Martine. 1994. "Staphylocoques Coagulase Positive Dans Le Fromage Fermier Au Lait Cru de Saint Nectaire: Origine, Développement et Risques de Production d'enterotoxines." [Http://Www.Theses.Fr](http://www.theses.fr). Lyon 1.
- Sevillano , E., valderrey, C., & Canduela, M. (2006, octobre). Resistance to antibiotics in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathologie Biologie*, 54, 493-497.
- SFAR, Société française d'anesthésie et de réanimation, et SRLF Société de réanimation de langue française. « Prévention des infections nosocomiales en réanimation (transmission croisée et nouveau-né exclus).» 2009, 912–920.
- Sickbert-Bennett, Emily E., Lauren M. Dibiase, Tina M. Schade Willis, Eric S. Wolak, David J. Weber, and William A. Rutala. 2016. "Reduction of Healthcare-Associated Infections by Exceeding High Compliance with Hand Hygiene Practices." *Emerging Infectious Diseases* 22 (9): 1628–30.
- Soufi, Fatma Zahra, and Haizia Hafayed. 2019. "Le Profil Phénotypique de La Résistance Aux Béta-Lactamines de *Klebsiella Pneumoniae* Uropathogène Isolée à L\_hôpital El-Hakim Saâdan de Biskra." In .
- SOUNA , D. ((2011)). . Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries auniveau du CHU de Sidi Bel Abbes. 126p. Sidi Bel Abbes.
- Starteva , T., Ouzouna-Raykova , V., Morkova , B., Todorova , A., et Mateva-Proevska , Y. (2010). Problematic Clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from the university hospitals in Sofia Current Status of antimicrobial résistance and prevailing resistance mechanisms. *Journal of medical Microbiology.*, 56:, 956- 96.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Tacconelli, Evelina, Frangiscos Sifakis, Stephan Harbarth, Remco Schrijver, Maaïke van Mourik, Andreas Voss, Mike Sharland, et al. 2018. "Surveillance for Control of Antimicrobial Resistance." *The Lancet Infectious Diseases*. Lancet Publishing Group.
- Taleb , C. (2015, janvier 29). Etude de la résistance aux antibiotique d'Acinetobacter baumannii au niveau des services de traumatologie et de médecine interne de CHU de Tlemcen.
- Talhata Haïdara, Mahamar. 2002. "Étude Cytobactériologique Du Liquide Céphalo-Rachidien à Bamako: 1415 Cas.
- Thabet, Lamia, Amel Turki, Saida Ben Redjeb, and Amen Allah Messadi. 2008. "Profil bactériologique et résistance aux antibiotiques des bactéries isolées dans un service de réanimation des brûlés durant deux ans." *Tunisie Medicale* 86 (12): 1051–54.
- Thompson, Jon S., and Mary A. Prior. 1992. "Quality Assurance and Morbidity and Mortality Conference." *Journal of Surgical Research* 52 (2): 97–100.
- Trémolières, F. 2007. "Stratégies Antibiotiques En Cas d'infection à SARM." *Le Praticien En Anesthésie Réanimation* 11 (6): 498.
- Trick, William E., Michael O. Vernon, Sharon F. Welbel, Patricia DeMarais, Mary K. Hayden, and Robert A. Weinstein. 2007. "Multicenter Intervention Program to Increase Adherence to Hand Hygiene Recommendations and Glove Use and to Reduce the Incidence of Antimicrobial Resistance." *Infection Control & Hospital Epidemiology* 28 (1): 42–49.
- Uwingabiye , J., Frikh , M., Lemnouer , A., Bssaïbis , F., Belefquih , B., & Maleb , A. (2016). Acinetobacter infections prevalence and frequency of the antibiotics resistance: comparative study of intensive care units versus other hospital units. *The Pan African Medical Journal*.
- Velasco , D., Tomas , M., Cartelle , M., Beceiro , A., Perez , A., Molina , F., . . . Villanueva,, R. (2005). Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in Staphylococcus aureus. 379-82.
- Yala, D, A S Merad D Mohamedi, and M N Ouar Korich. 2001. "Classification Et Mode D ' Action Des Antibiotiques." *Médecine Du Maghreb* 91: 5.
- Zetola, Nicola, John S. Francis, Eric L. Nuermberger, and William R. Bishai. 2005. "Community-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus: An Emerging Threat." *Lancet Infectious Diseases*.
- Zohra, Khiat Fatima. 2018. "Thème Etude de La Sensibilité Aux Antibiotiques Des Bacilles à Gram Négatif Non Fermentaires Isolés Au Niveau Du CHU DeTlemcen." Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.

# ***RESUMES***

## Résumé

La multirésistance bactérienne constitue un réel problème au niveau des hôpitaux à cause de la morbidité qu'elle engendre essentiellement dans les milieux de réanimation et les soins intensifs.

Ce travail a pour objectif d'étudier les bactéries multirésistantes (BMR) au sein du service de réanimation à HMURC. D'une part, une étude prospective a été effectuée et elle nous a permis de collecter 10 souches bactériennes, dont les principales espèces appartiennent à *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*. En raison de la situation sanitaire actuelle au monde (Covid-19) durant l'année 2020, la détermination du profil de résistance (Antibiogramme) des souches isolées n'est pas réalisée.

D'autre part, l'étude rétrospective effectuée sur 38 échantillons (BMR et non BMR) présente une prévalence globale des BMR (66%). Cette étude épidémiologique des BMR (de l'année 2019) a été poursuivie selon la nature des prélèvements, la nature de germe, le profil de résistance des bactéries et le taux des BMR. Selon les types de prélèvements, la prédominance des BMR isolées provenant d'examen d'hémoculture (86.6%). L'évaluation de la résistance vis-à-vis des antibiotiques a montré que les taux de résistances les plus élevés sont ceux obtenus pour *Acinetobacter baumannii* (91%) cette dernière est la BMR la plus fréquentes.

Le pourcentage des cas positifs aux BMR le plus élevé (56%) est constaté avec la tranche d'âge plus de 45 ans, 54% chez les masculins et 46% chez les féminins.

Aujourd'hui un nouvel espoir à venir : la phagothérapie est une des solutions les plus prometteuse.

---

**Mots clés :** Bactéries Multirésistantes, antibiorésistance, étude épidémiologique, étude bactériologique, réanimation.

## **Abstract**

Bacterial multidrug resistance is a real problem in hospitals because of the morbidity it generates mainly in intensive care and intensive care settings.

This work aims to study multi-resistant bacteria (MRB) in the intensive care unit at HMURC. On the one hand, a prospective study was carried out and allowed us to collect 10 bacterial strains, the main species of which belong to *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*. Due to the current health situation in the world (Covid-19) during the year 2020, the determination of the resistance profile (Antibiogram) of the isolated strains is not carried out.

On the other hand, the retrospective study carried out on 38 samples (BMR and not BMR) shows an overall prevalence of BMR (66%). This epidemiological study of BMRs (from the year 2019) was continued depending on the nature of the samples, the nature of the germ, the resistance profile of the bacteria and the level of BMRs. Depending on the types of samples, the predominance of isolated BMRs from blood culture examination (86.6%). The evaluation of resistance to antibiotics showed that the resistance rates were highest for *Acinetobacter baumannii* (91%), the latter being the most frequent BMR.

The highest percentage of BMR positive cases (56%) is found with the age group over 45, 54% in males and 46% in females.

Today a new hope to come: phage therapy is one of the most promising solutions.

---

**Keywords:** Multidrug resistant bacteria, antibiotic resistance, epidemiological study, bacteriological study, resuscitation.

## ملخص

تعتبر مقاومة الأدوية المتعددة مشكلة حرجية في المستشفيات بسبب المرض الذي تسببه بشكل رئيسي في العناية المركزة وأماكن العناية المركزة.

يهدف هذا العمل إلى دراسة البكتيريا متعددة المقاومة (BMR) في وحدة العناية المركزة في مستشفى HMURC. من ناحية، تم إجراء دراسة استباقية وسمحت لنا بجمع 10 سلالات بكتيرية، الأنواع الرئيسية منها تنتمي إلى *Klebsiella pneumoniae* و *Citrobacter freundii* و *Enterobacter cloacae* و *Staphylococcus aureus* و *Acinetobacter baumannii*. بسبب الوضع الصحي الحالي في العالم (كوفيد-19) خلال عام 2020، لم يتم تحديد ملف المقاومة (المضاد الحيوي) للسلالات المعزولة.

من ناحية أخرى، أظهرت الدراسة بأثر رجعي التي أجريت على 38 عينة BMR وليس BMR (انتشار إجمالي لمعدّل الأبيض الأساسي) 66%. استمرت هذه الدراسة الوبائية لـ BMR من عام 2019 اعتماداً على طبيعة العينات وزرع الجرثومة ومقاومة البكتيريا ومسئوليات BMRs. اعتماداً على أنواع العينات، غالبية BMRs المعزولة من فحص ثلثة الدم (86.6%). أظهر تقييم المقاومة للمضادات الحيوية أن معدلات المقاومة كانت أعلى بالنسبة لـ *Acinetobacter baumannii* (91%)، وكانت الأخيرة هي الأكثر شوعاً BMR.

تم العثور على أعلى نسبة من الحالات الإيجابية BMR (56%) في الفئة العمرية فوق 45 سنة، 54% عند الذكور و46% لدى الإناث.

سيأتي أمل جديد اليوم: العلاج بالعنابت هو أحد الحلول الواعدة.

---

الكلمات المفتاحية: البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة، مقاومة المضادات الحيوية، دراسة وبائية، دراسة بكتريولوجية ، إنعاش.

# ***ANNEXES***

- **Annexe 1** : Fiche de demande d'examen bactériologique.

	DEMANDE N°.....	de CONSULTATION ou D'EXAMEN	à l'hôpital A.N.P. ou l'infirmierie de Pneumologie SERVICE de ..... PNEUMOLOGIE.....
Nom ..... Prénom ..... Grade ..... Corps.....			
Il présente les symptômes urgents suivants :   <hr/> Il a déjà les soins et médicaments suivants :   <hr/> Examen demandé	Réponse du Spécialiste           		
A HMRUC, le .....le Médecin,	A HMRUC, le .....le Médecin,		

- **Annexe 2** : composition des Milieux de cultures.

**Milieu Mueller-Hinton**

- Infusion de viande de boeuf.....300 ml
- Peptone de caséine ..... 17,5 g
- Amidon de maïs ..... 1,5 g
- Agar..... 10 g
- Eau distillée ..... 1000 ml
- pH=7.4

**Gélose Hektoen**

- Protéase Peptone ..... 12 g
- Extrait de levure .....03 g

Chlorure de sodium.....	05 g
Thiosulfate de sodium.....	05 g
Sels biliaire.....	09 g
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5 g
Salicine.....	02 g
Annexes	
Lactose.....	12 g
Saccharose.....	12 g
Fuschine acide.....	0,1 g
Bleu de bromothymol.....	0.065 g
Agar.....	14 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH=7.5

#### **Gélose Chapman g/l**

Peptones.....	11 g
Extrait de viande.....	01 g
Chlorure de sodium.....	75 g
Mannitol.....	10 g
Rouge de phénol agar.....	0,025 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH=7.5

#### **Gélose au sang g/ml**

Mélange spécial de péptones.....	23 g
Amidon.....	01 g
NaCL.....	59 g
Agar.....	10 g
Sang de mouton.....	50 ml
Eau distillée.....	1000 ml

pH=7.3

## Réactifs de la coloration de Gram :

### Violet de gentiane

- Phénol.....2.0 g
- Violet de gentiane ..... 1.0 g
- Éthanol à 90° ..... 10 ml
- Eau distillée .....100 ml

### Lugol

- Iodure de potassium .....2.0 g
- Iode métalloïde ..... 1.0 g
- Eau distillée ..... 300 ml

### Fuchsine de Ziehl

- Fuchsine basique ..... 1.0g
- Phénol.....5.0 g
- Éthanol à 90° ..... 10 ml
- Eau distillée ..... 100 ml

- **Annexe 3** : Tableau de lecture de la galerie API 20<sup>E</sup>.

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISEE API 20E					
Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β-galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d'α-naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO <sub>2</sub> / N <sub>2</sub>	Nitrates (NO <sub>3</sub> )	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

- **Annexe 4** : La fiche des résultats Standard de la galerie API 20<sup>E</sup>

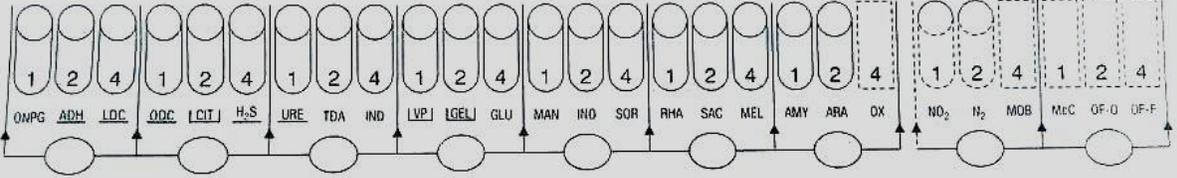


07223 C

REF : \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Origine / Source / Herkunft /  
Origen / Origen / Προέλευση /  
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :





Autres tests / Other tests / Andere Tests /  
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /  
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /  
Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :

- **Annexe 5** : Caractères biochimiques des entérobactéries.

	Mobilité	LACTose	ONPG	ADH	LDC	ODC	CItrate (Simmons)	H <sub>2</sub> S	URÉE (uréase)	PPDA ou TDA	INDole	VP	GÉLatinase	MANnitol	SACcharose	RM	DNase
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	(-)	(+)	V	-	-	-	-	+	-	-	+	V	+	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	V	+	V	-	(-)	+	(+)	-	-	(-)	-	-	+	V	+	-
<i>Citrobacter divers</i>	+	V	+	V	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	V	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	(-)	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	+	+	-	+	-	+	-	(+)	-	+	+	-	+	+	(-)	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	(+)	+	+	-	+	+	-	V	-	-	+	-	+	+	(-)	-
<i>Serratia marcescens</i>	+	-	+	-	+	+	+	-	(-)	-	-	+	(+)	+	+	(-)	+
<i>Proteus mirabilis</i>	+	-	-	-	-	+	V	+	+	+	-	V	(+)	-	(-)	+	V
<i>Proteus vulgaris</i>	+	-	-	-	-	-	(-)	+	+	+	+	-	(+)	-	+	+	(+)
<i>Providencia rettgeri</i>	(+)	(-)	(-)	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	(-)	(+)	-
<i>Providencia stuartii</i>	(+)	-	(-)	-	-	-	(+)	-	V	+	+	-	-	(-)	V	+	(-)
<i>Providencia alcalifaciens</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	(-)	+	-
<i>Morganella morganii</i>	+	-	(-)	-	-	+	-	(-)	+	+	+	-	-	-	-	+	-

(+) : Le caractère est positif.

(-) : Le caractère est négatif.

(V) : Variable.

- **Annexe 06** : Tableaux des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI.

**Annexe 6.1.** : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries.

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Amoxicilline +Ac.clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'Aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfotaxime (1g toutes les 8h), ceftriaxone (1g toutes les 24h)...
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés.
Céfalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Ceftriaxone	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Imipénème/Meropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h, Méropénème : 1g toutes les 8h.
Ertapénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 1	0,5	≤ 0,25	La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'Acide nalidixique à l'antibiogramme.
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ne pas tester en routine sauf pour les salmonelles.
Colistine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ne tester à l'antibiogramme que pour un but diagnostique. (résistance si culture au contact du disque ou présence d'une cocarde).
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Indiqué uniquement pour les souches d'E.coli isolées d'infections urinaires. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose 6-phosphate.
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	

- **Annexe 6.2.** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	16	---	17	16	-----	8	Interprétation valable pour amoxicilline
Tétracycline	30µg	14	15 – 18	19	16	8	4	Interprétation valable pour doxycycline
Vancomycine	30µg	14	15 – 16	17	32	8-16	4	Rechercher la sensibilité diminuée aux glycopeptides (voir « Tests complémentaires »). Confirmer par la CMI de vancomycine et de teicoplanine en cas de réponse R ou I ou de screening test positif.
Teicoplanine	30µg	10	11 – 13	14	32	16	8	
Gentamicine Haut niveau	120µg	6	7 – 9	10	> 500	-----	500	CMI en milieu solide (BHI agar)
Streptomycine Haut niveau	300µg	6	7 – 9	10	> 1000 > 2000		500 1000	CMI en milieu liquide (BHI bouillon) CMI en milieu solide (BHA)
Lévofloxacine	5µg	13	14 – 16	17	8		2	
Erythromycine	15µg	13	14 – 22	23	8	1-4	0,5	
Furanes	300µg	14	15 – 16	17	128	64	32	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Rifampicine	5µg	≤ 16	17 – 19	≥ 20	≥ 4	2	≤ 1	
Fosfomycine	200µg	12	13 – 15	16	256	128	64	Recommandé pour les souches d' <i>E.faecalis</i> isolées du tractus urinaire.
Quinupristine-Dalfopristine	15µg	15	16 – 18	19	4	2	1	Spectre limité à <i>E.faecium</i> vancomycine résistant.
Chloramphénicol	30µg	12	13 – 17	18	32	16	8	Interprétation non valable pour les souches urinaires. Interprétation valable pour thiamphénicol.

- **Annexe 6.3.** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

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

- **Annexe 6.4.** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	28	---	29	0,25	-----	0,12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux (voir « Tests complémentaires ».) Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamases (ampicilline, ticarcilline, pipéracilline...)
Oxacilline ( <i>S.aureus</i> )	1 µg	10	11 – 12	13	4	-----	2	Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative. En cas de résultat intermédiaire ou de discordance entre les disques d'oxacilline et de céfoxitine, se référer au chapitre « Tests complémentaires ». La résistance à la céfoxitine (et à l'oxacilline) signifie la résistance à toute la famille des β- lactamines.
Oxacilline ( <i>S.lugdunensis</i> )	1 µg	----	-----	-----	4	-----	2	
Céfoxitine ( <i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i> )	30 µg	21	---	22	8	-----	4	
Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i> )	1 µg	----	---	-----	0,5	-----	0,25	
Céfoxitine (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i> )	30 µg	24	---	25	---	----	---	
Gentamicine	10 µg	12	13 – 14	15	16	8	4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine.**
Kanamycine	30 µg	13	14 – 17	18	64	32	16	Pour <i>S.aureus</i> , les souches résistantes à la Kanamycine doivent être interprétées « R » à l'amikacine quelque soit le diamètre autour de l'amikacine**.
Amikacine	30 µg	14	15 – 16	17	64	32	16	
								Détecter la résistance inductible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à érythromycine et clindamycine »
Erythromycine	15 µg	13	14 – 22	23	8	1-4	0,5	
Clindamycine	2µg	14	15 – 20	21	4	1-2	0,5	

- **Annexe 7** : Des exemplaires des fiches d'antibiogramme.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
 MINISTRE DE LA DEFENSE NATIONALE  
 5<sup>e</sup> REGION MILITAIRE  
 HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE  
 BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE  
 LABORATOIRE CENTRAL - UNITE DE MICROBIOLOGIE  
 Poste : 50-551

**Nom :** \_\_\_\_\_ **Prénom :** \_\_\_\_\_ **Age :** /  
**Nature du Prélèvement :** \_\_\_\_\_ **Service :** \_\_\_\_\_ **N° :** \_\_\_\_\_

**DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :**

**ANTIBIOGRAMME POUR ENTEROBACTERIES**

PENICILLINES		AMINOSIDES	
Ampicilline		Amikacine	
Amoxicilline		Gentamicine	
Amoxicilline - ac. clavulanique		Tobramycine	
Ticarcilline		QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES	
Pipéracilline		Acide nalidixique	
CEPHALOSPORINES		Norfloxacine	
Céfazoline		Ofloxacine	
Céfalotine/Céfalexine		Ciprofloxacine	
Cefoxitine		DIVERS	
Céfotaxime		Colistine	
Ceftriaxone		Triméthoprim- Sulfaméthoxazole	
Céfixime		Furanes	
Céfépime		Fosfomycine	
Cefpirome		Chloramphénicol	
CARBAPENEMES			
Impénème			

*S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant*

**Constantine le :** \_\_\_\_\_

**LE MEDECIN**







الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE LA DEFENSE NATIONALE  
5<sup>e</sup> REGION MILITAIRE  
HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE  
BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE



LABORATOIRE CENTRAL - UNITE DE MICROBIOLOGIE

Poste : 50-551

Nom : Prénom Age:/

Nature du Prélèvement: Service : N° :

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

ANTIBIOGRAMME POUR BACILLES A GRAM NEGATIF  
NON FERM F4TAIRES

PENICILLINES		AMINOSIDES	
Ticarcilline		Amikacine	
Ticarcilline-ac. clavulanique		Gentamicine	
Pipéracilline		Tobramycine	
Pipéracilline-ac. clavulanique		Nétilmicine	
CEPHALOSPORINES		QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES	
Ceftazidime		Ciprofloxacine	
Céfépime		Lévofloxacine	
Cefpirome		DIVERS	
MONOBACTAME		Colistine	
Aztréonam		Rifampicine	
CARBAPENEMES		Fosfomycine	
Imipénème		Doxyoyclinc	
Méropénème		Triméthoprinic- Sulfaméthoxazole	
Doripénème			

S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant

Constantine le :

LE MEDECIN

- **Annexe 08:** Liste d'antibiotique a testé

<i>Entérobactéries</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Enterococcus spp.</i>
Ampicilline* (10 µg)	Ticarcilline (75 µg)	Ticarcilline (75 µg)	Pénicilline (10 UI)	Ampicilline* (10 µg)
Amoxicilline + Acide clavulanique (20/10 µg)	Ticarcilline + acide clavulanique (75/10 µg)	Ticarcilline + acide clavulanique (75/10 µg)	Oxacilline (1 µg)	Gentamicine (120 µg)
Céfalotine **** (30 µg)	Pipéracilline (100 µg)	Pipéracilline (100 µg)	Cefoxitine (30 µg)	Streptomycine (300 µg)
Céfazoline (30 µg)	Ceftazidime (30 µg)	Ceftazidime (30 µg)	Amikacine (30 µg)	Erythromycine (15 µg)
Cefoxitine (30 µg)	Aztréonam (30 µg)	Imipénème (10 µg)	Gentamicine (10 µg)	Furanes (300 µg)
Céfotaxime** (30 µg)	Imipénème (10 µg)	Amikacine (30 µg)	Kanamycine (30 µg)	Tétracycline *** (30 µg)
Imipénème (10 µg)/ Meropénème (10 µg)	Amikacine (30 µg)	Gentamicine (10 µg)	Erythromycine (15 µg)	Vancomycine (30 µg)
Ertapénème (10 µg)	Gentamicine (10 µg)	Tobramycine (10 µg)	Clindamycine (2 µg)	Teicoplanine (30 µg)
Amikacine (30 µg)	Tobramycine (10 µg)	Nétilmicine (CMI seulement)	Pristinamycine (15 µg)	Lévofloxacine (5 µg)
Gentamicine (10 µg)	Nétilmicine (30 µg)	Ciprofloxacine (5 µg)	Ofloxacine (5 µg)	Rifampicine (5 µg)
Acide nalidixique (30 µg)	Ciprofloxacine (5 µg)	Lévofloxacine (5 µg)	Chloramphénicol (30 µg)	Fosfomycine (200 µg)
Ciprofloxacine (5 µg)	Lévofloxacine (5 µg)	Doxycycline*** (30 µg)	Vancomycine (CMI seulement)	Quinupristine –
Colistine (10 µg) *****	Fosfomycine (50 µg) +50 µg G6P	Triméthoprime + Sulfaméthoxazole (1.25/23.75 µg)	Teicoplanine (30 µg)	Dalfopriline (15 µg)
Chloramphénicol (30 µg)	Rifampicine (30 µg)	Colistine (CMI seulement)	Rifampicine (5 µg)	Chloramphénicol (30 µg)
Furanes (300 µg)	Colistine (10 µg)	Rifampicine (30 µg)	Triméthoprime + Sulfaméthoxazole (1.25/23.75 µg)	
Triméthoprime + Sulfaméthoxazole (1.25/23.75 µg)			Tétracycline*** (30 µg)	
Fosfomycine (200 µg)			Acide fusidique (10 µg)	
			Fosfomycine (50 µg)	



***Etude Bactériologique et Epidémiologique des Bactéries Multirésistantes au niveau du Service de Réanimation de l'Hôpital Militaire Régionale Universitaire de Constantine (HMRUC)***

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme : Master en Microbiologie et Hygiène Hospitalière

La multirésistance bactérienne constitue un réel problème au niveau des hôpitaux à cause de la morbidité qu'elle engendre essentiellement dans les milieux de réanimation et les soins intensifs. Ce travail a pour objectif d'étudier les bactéries multirésistantes (BMR) au sein du service de réanimation à HMURC. D'une part, une étude prospective a été effectuée et elle nous a permis de collecter 10 souches bactériennes, dont les principales espèces appartiennent à *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*. En raison de la situation sanitaire actuelle au monde (Covid-19) durant l'année 2020, la détermination du profil de résistance (Antibiogramme) des souches isolées n'est pas réalisée. D'autre part, l'étude rétrospective effectuée sur 38 échantillons (BMR et non BMR) présente une prévalence globale des BMR (66%). Cette étude épidémiologique des BMR (de l'année 2019) a été poursuivie selon la nature des prélèvements, la nature de germe, le profil de résistance des bactéries et le taux des BMR. Selon les types de prélèvements, la prédominance des BMR isolées provenant d'examen d'hémoculture (86.6%). L'évaluation de la résistance vis-à-vis des antibiotiques a montré que les taux de résistances les plus élevés sont ceux obtenus pour *Acinetobacter baumannii* (91%) cette dernière est la BMR la plus fréquentes.

Le pourcentage des cas positifs aux BMR le plus élevé (56%) est constaté avec la tranche d'âge plus de 45 ans, 54% chez les masculins et 46% chez les féminins. Aujourd'hui un nouvel espoir à venir : la phagothérapie est une des solutions les plus prometteuse.

**Mots clés :** Bactéries Multirésistantes, Antibiorésistance, Etude épidémiologique, Etude bactériologique, Réanimation.

**Laboratoire**

Laboratoire de Biologie, Unité de Microbiologie et Parasitologie, Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC) « BENBAATOUCHE ABDELALI ».

**Président du jury :** Mme. OUIBRAHIM. A (Maitre de conférences B – UFM Constantine)

**Rapporteur :** Mme. BETAICHE. I (Maitre de conférences B – UFM Constantine)

**Examineur :** Mme KHELILI. K (Maitre de conférences B – UFM Constantine)

**Date de soutenance : 15/09/2020**