



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 الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Écologie et Environnement

Spécialité : Écologie Microbienne

Intitulé :

Bacilles à Gram négatif : caractéristiques épidémiologiques et résistance aux antibiotiques

Préparé par : *M^{lle} RIACHI Ilia Nour*

Le : 23/09/2021

M^{lle} BARACHE Hadil

Jury d'évaluation :

Présidente du jury: *M^{me} ZERMANE F* (Maître Assistante A- UFM Constantine-1).

Rapporteur : *M^{me} HECINI A* (Maître de Conférences A- U Saleh Boubnider Constantine-3).

Examinatrice : *M^{me} MERGOUD L* (Maître Assistante A- UFM Constantine-1).

*Année universitaire
2020- 2021*

Remerciements

*Au terme de notre Master, nous nous faisons l'agréable devoir de présenter nos remerciements les plus chaleureux et les plus vifs à **M^{me} Hecini-Hannachi** « Maître de Conférences A » à l'université Salah Bounider Constantine 3 pour son entière disponibilité, son aide, ses orientations, ses précieux conseils, sa patience et surtout sa confiance.*

*Nous tenons à remercier également **M^{me} Zermane** « Maître Assistante A » à l'université des Frères Mentouri Constantine 1, en nous faisant l'honneur de présider le jury d'évaluation de ce mémoire.*

*C'est aussi avec plaisir, que nous exprimons nos remerciements à **M^{me} Mergoud** « Maître Assistante A » à l'université des Frères Mentouri Constantine 1, qui a bien voulu examiner notre travail*

DÉDICACES

À mon **cher papa** ... symbole d'amour et de patience,
Pour ses encouragements, pour sa générosité et pour son soutien moral,
À mon **adorable maman** ... qui n'a pas hésité un seul instant à me donner main forte depuis
mon jeune âge,
Ils ont toujours su m'inculquer le sens du vrai, du juste, du bon et du beau,
Que dieu les bénisse et les garde pour moi,
À mon **frère Kenzy**, en lui souhaitant santé & réussite,
À mon **unique sœur Jassmine**, avec toute mon affection,
À mon **petit trésor Mouley**, avec toute ma tendresse,

À la mémoire du défunt chef de département de Microbiologie **Monsieur Ferhati Laid** qui
m'a beaucoup aidé et soutenu durant mon parcours universitaire, votre encouragement et
votre témoignage à mon propos quelques jours avant de nous quitter à jamais, resteront
graver dans nos cœurs, mes parents & moi.

À **mes enseignants** qui m'ont soutenu, en particulier ceux qui ont été à mes côtés durant une
période difficile de mon parcours universitaire, je vous suis très reconnaissante, je
n'oublierai jamais l'aide morale que vous m'avez apporté dans cette période.

Qu'ils trouvent tous ici, le témoignage de mon profond amour, mon respect, ma
reconnaissance et mon indéfectible attachement.

Élèa... ♥

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail avant tout à mes chers parents pour

leur amour, leur soutien, que de sacrifices !

A mes frères, spécifiquement Mohamed El Arkem

A ma deuxième famille, source d'amour

A mes sœurs Belkis et Insaf

A mon fiancé Mehdi, pour sa présence à mes côtés

A mes amies Rania, Dalia et Meriem

A toutes les personnes que je connais.

Hadil...

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉS

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ANNEXES

INTRODUCTION.....1

PREMIÈRE PARTIE. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. GÉNÉRALITÉS SUR LES BACILLES À GRAM NÉGATIF

1. Bacilles à Gram négatif non fermentaires3

1.1 Le genre *Pseudomonas*3

➤ *Pseudomonas aeruginosa* (Bacille pyocyanique)4

1.2 Le genre *Acinetobacter*5

➤ *Acinetobacter baumannii*6

2. Bacilles à Gram négatif fermentaires (Entérobactéries)7

2.1 *Escherichia coli*8

2.2 *Citrobacter sp.*9

2.3 *Klebsiella sp.*9

2.4 *Proteus-Morganella*9

2.5 *Salmonella sp.*10

2.6 *Shigella sp.*10

2.7 *Enterobacter sp.*10

2.8 *Serratia sp.*10

CHAPITRE II. RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

1. Définition.....12

2. Historique13

3. Mécanismes de résistance.....14

3.1 Bêtalactamases à spectre élargi (BLSE).....	14
3.2 Carbapénémases.....	15
3.3 Résistance aux aminosides par les méthylases	16

DEUXIÈME PARTIE. MÉTHODOLOGIE DU DIAGNOSTIC

1. Lieu de l'étude	17
2. Durée et type d'étude	17
3. Population étudiée	17
3.1 Échantillonnage.....	17
3.2. Critères d'inclusion	17
3.3 Critères d'exclusion	18
4. Matériel et méthodes	18
4.1 Examen cyto bactériologique et culture	18
4.1.1 Examen cyto bactériologique des urines (ECBU).....	18
4.1.2 Hémo culture	20
4.1.3 Examen cyto bactériologique du liquide céphalo rachidien (ECB du LCR)	22
4.1.4 Examen cyto bactériologique des suppurations	23
4.2 Purification	25
4.3 Identification bactérienne	25
4.4 Identification biochimique.....	26
4.4.1 Test de l'oxydase	26
4.4.2 Test de la catalase	26
4.4.3 Galerie API 20 ^E	26
4.5 Détermination de la résistance aux antibiotiques par la méthode de l'antibiogramme standard (méthode de diffusion des disques)	28
4.5.1 Milieu pour l'antibiogramme	29
4.5.2 Préparation de l'inoculum	29
4.5.3 Ensemencement	29
4.5.4 Application des disques d'ATB.....	29
4.5.5 Lecture	29

TROISIÈME PARTIE. RÉSULTATS

1. Identification bactérienne	31
1.1 Appréciation macroscopique des entérobactéries	31
1.1.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	31
1.1.2 <i>Escherichia coli</i>	31
1.1.3 <i>Proteus mirabilis</i>	32
1.2 Appréciation macroscopique des BGNF	32
1.2.1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	32
1.2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33
2. Identification biochimique.....	33
2.1 Test de l'oxydase	33
2.2 Test de la catalase	34
3. Caractéristiques épidémiologiques	34
3.1 Fréquences des bacilles à Gram négatif	34
3.2 Répartition des bacilles à Gram négatif selon les espèces	35
3.2.1 Répartition des entérobactéries selon les espèces	35
3.2.2 Répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires selon les espèces	36
3.3 Répartition des bacilles à Gram négatif selon le sexe	37
3.3.1 Répartition des espèces d'entérobactéries selon le sexe	37
3.3.2 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon le sexe	38
3.4 Répartition des bacilles à Gram négatif selon l'âge.....	39
3.4.1. Répartition des espèces d'entérobactéries selon l'âge	39
3.4.2 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon l'âge ...	42
3.5 Répartition des bacilles à Gram négatif selon la nature du prélèvement	43
3.5.1 Répartition des espèces d'entérobactéries selon la nature du prélèvement	43
3.5.2 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon la nature du prélèvement	45

3.6 Répartition des bacilles à Gram négatif selon les services	46
3.6.1 Répartition des espèces d'entérobactéries selon les services	46
3.6.2 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon les services	49
4. Profil de résistance aux antibiotiques	51
4.1 Profil de résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries	51
4.1.1 Résistance aux antibiotiques d' <i>E. coli</i>	51
4.1.2 Résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i>	52
4.1.3 Résistance aux antibiotiques d' <i>Enterobacter sp</i>	54
4.1.4 Résistance <i>sp</i> aux antibiotiques de <i>Citrobacter sp</i>	55
4.1.5 Résistance aux antibiotiques de <i>Serratia sp</i>	57
4.1.6 Résistance aux antibiotiques de <i>Proteus sp</i>	59
4.2 Profil de résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif non fermentaires	60
4.2.1 Résistance aux antibiotiques de <i>P. aeruginosa</i>	60
4.2.2 Résistance aux antibiotiques de <i>A. baumannii</i>	62
4.3 Répartition des souches multirésistantes	64
4.3.1 Répartition des bacilles à Gram négatif multirésistants selon l'espèce	64
4.3.2 Répartition des bacilles à Gram négatif multirésistants selon les services	66
5. Évolution de la répartition des bacilles à Gram négatif multirésistants dans le temps	68
5.1 Évolution de la répartition des entérobactéries multirésistantes dans le temps	68
5.2 Évolution de la répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multirésistants dans le temps	69
DISCUSSION	71
CONCLUSION.....	82
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	85
ANNEXES	

Résumé

Les espèces de bacilles à Gram négatif (BGN) les plus importantes en clinique demeurent les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*. L'émergence et la diffusion de la résistance aux antibiotiques représentent une menace majeure de santé publique. Le but de ce travail était de déterminer les caractéristiques épidémiologiques des bacilles à Gram négatif, d'évaluer leur profil de résistance aux différentes familles d'antibiotiques et d'identifier les bactéries multirésistantes. L'étude était réalisée au sein du laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital Militaire Universitaire de Constantine, portant sur 653 souches isolées dans divers prélèvements et conduite durant l'année 2020-2021 (étude prospective) et du 14 Avril au 04 Mai 2021 (étude rétrospective). Durant la période stage, les souches bactériennes appartenant aux BGN ont été isolées indiquant une prédominance des entérobactéries (79%) dont *E. coli* (39%). Sur un total de 134 souches bactériennes appartenant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGNF), *P. aeruginosa* a atteint 81% contrairement à *A. baumannii*. La répartition des espèces selon le sexe montre que le taux d'*E. coli* et *K. pneumoniae* est plus élevé chez les femmes (76,35%, 64,24%), chez les BGNF, le sexe masculin prédomine (62%). La plupart des infections sont observées chez le sujet âgé et les souches sont souvent isolées à partir de pus et d'urines. Concernant la répartition des infections selon les services, une prédominance d'*E. coli* et *K. pneumoniae* dans le service d'urologie est observée alors que le service de réanimation a abrité 40% d'*A. baumannii*. Cependant des taux de résistance élevés aux antibiotiques sont observés chez *E. coli* et surtout chez *A. baumannii* pour les antibiotiques actifs sur ces germes (céphalosporines, fluoroquinolones, aminosides, carbapénèmes et autres). Le taux de résistance à la colistine a atteint 6%. Le taux global de multirésistance est de 28,63%, plus élevé chez *A. baumannii* (76%), observé le plus au niveau du service de réanimation (24%). L'émergence des bactéries résistantes voire multirésistantes aux antibiotiques (BMR) en milieu hospitalier est un phénomène préoccupant. La lutte contre les bactéries multirésistantes constitue un enjeu majeur de santé publique

Mots clés : Bacille à Gram négatif ; Épidémiologie ; Antibiorésistance.

Abstract

The most clinically important Gram-negative bacilli (GNB) species remain the *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. The emergence and spread of antibiotic resistance represents a major public health threat. The aim of this work was to determine the epidemiological characteristics of Gram-negative bacilli, to evaluate their resistance profile to different families of antibiotics and to identify multiresistant germs. The study was carried out in the Microbiology Laboratory of the Military University Hospital of Constantine, on 653 strains isolated in various samples and conducted during the year 2020-2021 (prospective study) and from 14th April to 04th May 2021 (retrospective study). During the study period, 653 bacterial strains belonging to GNB were isolated indicating a predominance of enterobacteria (79%) including *Escherichia coli* (39%). Out of a total of 134 bacterial strains belonging to the non-fermentative Gram-negative bacilli (NFGNB), *Pseudomonas aeruginosa* reached 81% in contrast to *Acinetobacter baumannii*. The distribution of species according to sex shows that the rate of *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* is higher among females (76.35%, 64.24%), in NFGNB, the male sex predominates (62%). Most of the infections are observed in the elderly persons and the strains are often isolated from pus and urine. The distribution of infections according to the wards, a predominance of *E.coli* and *K. pneumoniae* in the urology wards was observed, while the intensive care ward contained 40% of *A. baumannii*. Concerning antibiotic resistance, high rates of resistance were observed in *E. coli* and especially in *A. baumannii* for the antibiotics active on these germs (cephalosporins, fluoroquinolones, aminoglycosides, carbapenes and others). The rate of resistance to colistin reached 6%. The overall rate of multiresistance of 28.63%, higher in *A. baumannii* (76%), observed most at the level of the resuscitation service (24%). The emergence of bacteria resistant or even multiresistant to antibiotics (MRB) in hospitals is a worrying phenomenon. The fight against multiresistant bacteria is a major public health issue.

Keywords: Gram-negative bacilli ; Epidemiology ; Antimicrobial resistance.

ملخص

لا تزال أهم أنواع العصيات سالبة الجرام سريريًا هي *Enterobacteriaceae* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Acinetobacter baumannii*. يمثل ظهور وانتشار مقاومة المضادات الحيوية تهديدًا رئيسيًا للصحة العامة. كان الهدف من هذا العمل هو تحديد الخصائص الوبائية للعصيات سالبة الجرام، لتقييم مظهر مقاومتها لعائلات مختلفة من المضادات الحيوية وللتعرف على الجراثيم متعددة المقاومة. أجريت الدراسة بمختبر الأحياء الدقيقة بمستشفى الجامعة العسكرية بقسنطينة على 653 سلالة معزولة في عينات مختلفة وأجريت خلال عام 2020-2021 (دراسة استباقية) ومن 14 أبريل إلى 4 مايو 2021 (دراسة بأثر رجعي). خلال فترة الدراسة، تم عزل 653 سلالة بكتيرية تنتمي إلى BGN مما يشير إلى انتشار البكتيريا المعوية (79%) بما في ذلك *Escherichia coli* (39%). من إجمالي 134 سلالة بكتيرية تنتمي إلى عصيات سالبة الجرام غير المخمرة (NFGNB)، بلغت نسبة 81% *Pseudomonas aeruginosa* على عكس *Acinetobacter baumannii*. يوضح توزيع الأنواع حسب الجنس أن نسبة *Escherichia coli*، *klebsiella pneumoniae* أعلى بين الإناث (76.35%، 64.24%)، في BGNF يسود الذكور (62%). لوحظت معظم حالات العدوى لدى كبار السن وغالبًا ما يتم عزل السلالات من القيح والبول. وفيما يتعلق بتوزيع الالتهابات حسب المصحات، لوحظ انتشار بكتيريا *Escherichia coli* و *klebsiella pneumoniae* في مصحة المسالك البولية، بينما احتوى جناح العناية المركزة على 40% من *Acinetobacter baumannii* أما فيما يتعلق بمقاومة المضادات الحيوية، لوحظت معدلات مقاومة عالية في *Escherichia coli* وخاصة *Acinetobacter baumannii* للمضادات الحيوية النشطة على هذه الجراثيم (السيفالوسبورينات، الفلوروكينولونات، الأمينوغليكوزيدات، الكاربابين وغيرها). بلغت نسبة المقاومة للكوليستين 6%. المعدل الإجمالي للمقاومة المتعددة 28.63%، أعلى في (76%) *Acinetobacter baumannii*، لوحظ أكثر على مستوى مصحة الإنعاش (24%). يعد ظهور البكتيريا المقاومة أو حتى المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية (BMR) في المستشفيات ظاهرة مقلقة. مكافحة البكتيريا متعددة المقاومة هي قضية رئيسية من قضايا الصحة العامة. الكلمات المفتاحية: العصيات سالبة الجرام ; علم الأوبئة ; مقاومة المضادات الحيوية.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

µm :	Micromètre.
<i>A.baumannii</i> :	<i>Acinetobacter baumannii</i> .
AAC :	Aminoglycoside-N-acétyltransférase.
ADH :	Arginine-dihydrolase.
ADN :	Acide désoxyribonucléique.
AMC :	Amoxicilline+acide clavulanique.
AMK :	Amikacine.
AMP :	Ampicilline.
AMX :	Amoxicilline.
AMY :	Amygdaline.
API :	Appareillage et procédé d'identification.
ARA :	Arabinose.
ARN :	Acide ribonucléique.
ATB :	Antibiotique.
ATM :	Tazobactam.
BGNF :	Bacille à Gram négatif non fermentaire.
BLSE :	Bêta-lactamase à spectre élargi.
C :	Cytosine.
<i>C. freundii</i> :	<i>Citrobacter freundii</i> .
CAZ :	Céfazoline.
CHL :	Chloramphénicol
CIP :	Ciprofloxacine.
CIT :	Citrate de Simmons.
CLED :	Cytosine Lactose Electrolyte Deficient.
CLIN :	Comité de lutte contre les infections.
CMI :	Concentration minimale inhibitrice.

CMY :	Céphamycinase.
CS :	Colistine.
CTX :	Céfotaxime.
CTX-M :	Céfotaximase-Munich.
CZ :	Céftazidime.
DHA :	Dhahran (arabie Saoudite).
DNase :	Désoxyribonucléase.
DO :	Densité optique.
DOX :	Doxycycline.
<i>E. cloacae</i> :	<i>Enterobacter cloacae</i> .
<i>E. coli</i> :	<i>Escherichia coli</i> .
ECBU :	Examen cytobactériologique des urines.
ERY :	Erythromycine.
FOS :	Fosfomycine.
FOX :	Céfoxitine.
FT :	Furane.
G :	Guanine.
GEL :	Gélatinase.
GEN :	Gentamicine.
GLU :	Glucose.
GNO :	Gélose nutritive ordinaire.
H :	Heure.
H ₂ S :	Hydrogène sulfuré.
<i>H. alvei</i> :	<i>Hafnia alvei</i> .
H ₂ O ₂ :	Peroxyde d'hydrogène.
HMURC :	Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine.
I :	Intermédiaire.

IMP :	Imipenéme.
IND :	Indole.
INO :	Inositol.
<i>K. p</i> :	<i>Klebsiella pneumoniae</i> .
KAN :	Kanamycine.
<i>KPC</i> :	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase.
LCR :	Liquide céphalorachidien.
LDC :	Lysine-décarboxylase.
LPS :	Lipopolysaccharide.
<i>M. morganii</i> :	<i>Morganella morganii</i> .
MA :	Manitol.
MBL :	Metallo- Bêta-lactamase.
MEL :	Mélibiose.
MER :	Méropenème.
Mm3 :	Millimètre cube.
N 2:	Diazote.
N :	Nombre.
NaCl :	Chlorure de sodium.
NDM :	New Delhi Metallo- Bêta-lactamase.
NET :	Nétilmicine.
NOR :	Norfloxacin.
ODC :	Ornithine-décarboxylase.
OFX :	Ofloxacin.
OPNG :	Orthonitrophényl-betaDgalactopyranoside.
OXA :	Oxacilline.
<i>P. aeruginosa</i> :	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
<i>P. mirabilis</i> :	<i>Proteus mirabilis</i> .

<i>P. rettgeri</i> :	<i>Providencia rettgeri.</i>
<i>P. stuartii</i> :	<i>Providencia stuartii.</i>
<i>P. vulgaris</i> :	<i>Proteus vulgaris.</i>
<i>P. morgani</i> :	<i>Proteus morgani.</i>
PCP :	Pénicilline+acide clavulanique
PEN :	Pénicilline.
PH :	Potentiel hydrogène, unité de mesure d'acidité.
PIP :	Pipéracilline.
PRI :	Spiramycine.
PRL :	Pristinamycine.
R :	Résistance.
RA :	Rifampicine.
RED/OX :	Réaction d'oxydoréduction.
RHA :	Rhamnose.
S :	Sensible.
<i>S. boydii</i> :	<i>Shigella boydii.</i>
<i>S. dysenteriae</i> :	<i>Shigella dysenteriae.</i>
<i>S. ficaria</i> :	<i>Serratia ficaria.</i>
<i>S. flexneri</i> :	<i>Shigella flexneri.</i>
<i>S. fonticola</i> :	<i>Serratia fonticola.</i>
<i>S. grimesii</i> :	<i>Serratia grimesii.</i>
<i>S. liquefaciens</i> :	<i>Serratia liquefaciens.</i>
<i>S. marcescens</i> :	<i>Serratia marcescens.</i>
<i>S. odorifera</i> :	<i>Serratia odorifera.</i>
<i>S. paratyphi</i> :	<i>Salmonella paratyphi.</i>
<i>S. plymuthica</i> :	<i>Serratia plymuthica.</i>
<i>S. rubidaea</i> :	<i>Serratia rubidaea.</i>

<i>S. sonnei</i> :	<i>Shigella sonnei</i> .
<i>S. typhi</i> :	<i>Samonella typhi</i> .
SAC :	Saccharose.
SHV :	Sulphydryl Varia.
Spp/sp :	Espèce.
SXT :	Sulfaméthoxazol+Triméthopriime.
TCC :	Ticarcilline+acide clavulanique.
TDA :	Trouble Défit d'attention.
TIC :	Ticarcilline.
TM :	Tobramycine.
TMP :	Triméthopriime.
TOB :	Tobramycine.
TSI :	Triple-Sugar-Iron.
UFC :	Unité formant colonie
URE :	Uréase.
VAN :	Vancomycine.
VIM :	Verona Imipenèmase.
VP :	Voges-Prokauer.
<i>Y. enterocolitica</i> :	<i>Yersinia enterocolitica</i> .
<i>Y. pestis</i> :	<i>Yersinia pestis</i> .
<i>Y. pseudotuberculosis</i> :	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> .

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Caractéristique de certaines espèces du genre <i>Pseudomonas</i> appartenant au groupe I	4
Tableau 2 Espèces des Entérobactéries et pouvoir pathogène	11
Tableau 3 Répartition des bacilles à Gram négatif (n=653)	34
Tableau 4 Répartition des espèces appartenant aux entérobactéries	35
Tableau 5 Répartition des espèces appartenant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires	36
Tableau 6 Répartition des espèces d'entérobactéries selon le sexe	37
Tableau 7 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon le sexe	38
Tableau 8 Répartition des espèces d'entérobactéries en fonction de l'âge	40
Tableau 9 Répartition des espèces de BGNF selon l'âge	42
Tableau 10 Répartition des espèces d'entérobactéries selon la nature du prélèvement	43
Tableau 11 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon la nature du prélèvement	45
Tableau 12 Répartition des espèces d'entérobactéries selon les services	47
Tableau 13 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon les services (n=134)	50
Tableau 14 Profil de résistance d' <i>E. coli</i>	51
Tableau 15 Profil de résistance de <i>K. pneumoniae</i>	53
Tableau 16 Profil de résistance d' <i>Enterobacter sp</i>	54
Tableau 17 Profil de résistance de <i>Citrobacter sp</i>	56
Tableau 18 Profil de résistance de <i>Serratia sp</i>	58
Tableau 19 Profil de résistance de <i>Proteus sp</i>	59
Tableau 20 Profil de résistance de <i>P. aeruginosa</i>	61
Tableau 21 Profil de résistance aux antibiotiques d' <i>A. baumannii</i>	63
Tableau 22 Répartition des entérobactéries multirésistantes selon l'espèce	64
Tableau 23 Répartition des bacilles à Gram négatif non fermentant multirésistants selon l'espèce	64
Tableau 24 Fréquences des entérobactéries multirésistantes selon les services	66
Tableau 25 Fréquences des bacilles à Gram négatif non fermentaires multirésistants selon les services	66
Tableau 26 Évolution de la répartition des entérobactéries multirésistantes dans le temps	69
Tableau 27 Évolution de la répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multirésistants dans le temps	70

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Photographie représentant la formation d'un biofilm d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	7
Figure 2 Aspect microscopique de <i>P.aeruginosa</i> et d' <i>A. baumannii</i>	7
Figure 3 Schéma explicatif représentant la structure anatomique et l'aspect microscopique des entérobacteriaceae	8
Figure 4 Observation microscopique après coloration de Gram x 100	9
Figure 5 Différents mécanismes de résistance	13
Figure 6 Photographie représentant les différents aspects des urines	18
Figure 7 Photographie de l'examen direct d'une goutte d'urine	19
Figure 8 Illustration représentant la technique d'ensemencement de 10µL d'urine selon la méthode de l'anse calibrée	20
Figure 9 Photographie représentant des flacons d'hémoculture BD BACTEC™ positif	21
Figure 10 Photographie représentant l'automate à hémoculture BD BACTEC™	21
Figure 11 Photographie représentant les différents aspects de LCR	22
Figure 12 Photographie de l'examen cytologique d'une goutte de LCR sur cellule Neubauer	22
Figure 13 Photographie de l'examen microscopique après coloration de Gram	23
Figure 14 Schéma explicatif des étapes du diagnostic cyto bactériologique du LCR	23
Figure 15 Photographie représentant un exemple de l'échantillon de suppuration	24
Figure 16 Photographie de l'examen direct après coloration au bleu de méthylène	24
Figure 17 Photographie d'un ensemencement par stries serrées sur différents milieux de culture	24
Figure 18 Schéma récapitulatif du diagnostic bactériologique	25
Figure 19 Photographie d'une galerie API 20 ^E avant ensemencement	27
Figure 20 Photographie représentant l'ensemencement de la galerie API 20 ^E	28
Figure 21 Photographie représentant l'aspect des colonies de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolée des urines	31
Figure 22 Photographie représentant l'aspect macroscopique des colonies d' <i>E. coli</i> sur gélose CLED isolée d'un prélèvement urinaire	31
Figure 23 Photographie représentant l'aspect macroscopique des colonies de <i>Proteus mirabilis</i> sur gélose au sang frais	32
Figure 24 Photographie représentant l'aspect macroscopique des colonies d' <i>A. baumannii</i>	32
Figure 25 Photographie représentant l'aspect macroscopique de <i>P. aeruginosa</i> sur gélose CLED isolée d'un prélèvement urinaire	33
Figure 26 Photographie d'un test d'oxydase positif	33
Figure 27 Photographie représentant un test de catalase positif	34
Figure 28 Répartition des bacilles à Gram négatif (n=653)	35
Figure 29 Répartition des espèces appartenant aux entérobactéries (n=519)	36

Figure 30 Répartition des espèces appartenant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires (n=134)	36
Figure 31 Répartition des espèces d'entérobactéries selon le sexe (n=519)	38
Figure 32 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon le sexe (n=134)	39
Figure 33 Répartition des espèces d'entérobactéries en fonction de l'âge (n=519)	41
Figure 34 Répartition des espèces bacilles à Gram négatif non fermentaires selon l'âge (n=134)	42
Figure 35 Répartition des espèces d'entérobactéries selon la nature du prélèvement (n=519)	44
Figure 36 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon de la nature du prélèvement (n=134)	45
Figure 37 Répartition des espèces d'entérobactéries selon les services (n=519)	48
Figure 38 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon les services (n=134)	50
Figure 39 Profil de résistance d' <i>E. coli</i>	52
Figure 40 Profil de résistance de <i>K. pneumoniae</i>	53
Figure 41 Profil de résistance de d' <i>Enterobacter sp</i>	55
Figure 42 Profil de résistance <i>Citrobacter sp</i>	57
Figure 43 Profil de résistance de <i>Serratia sp</i>	58
Figure 44 Profil de résistance de <i>Proteus sp</i>	60
Figure 45 Profil de résistance de <i>P. aeruginosa</i>	61
Figure 46 Profil de résistance de <i>A. baumannii</i>	63
Figure 47 Répartition des entérobactéries multirésistante selon l'espèce	65
Figure 48 Répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multi résistants selon l'espèce	65
Figure 49 Fréquences de l'entérobactérie multirésistante selon les services	67
Figure 50 Répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multi résistants selon les services	68
Figure 51 Évolution de la répartition des entérobactéries multirésistante dans le temps	69
Figure 52 Évolution de la répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multirésistants dans le temps	70

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 Fiche des renseignements des prélèvements vierge pour les examens bactériologiques.

Annexe 2 Milieux de culture stériles.

Annexe 3 Coloration de Gram (coloration double).

Annexe 4 Numération leucocytaire du LCR.

Annexe 5 Coloration au bleu de méthylène.

Annexe 6 Tableaux de lecture des résultats de la galerie API 20^E.

Annexe 7 Catalogue analytique.

Annexe 8 Résultats de la galerie API 20^E.

Annexe 9 Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries.

Annexe 10 Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *P. aeruginosa* et *A. baumannii*.

Annexe 11 Fiche d'antibiogramme des entérobactéries.

Annexe 12 Fiche d'antibiogramme des bacilles à Gram négatif non fermentaires.

Annexe 13 Résultats des antibiogrammes.

INTRODUCTION

Les bactéries à Gram négatif constituent une large catégorie de micro-organismes qui sont incapables de retenir une coloration de cristal violet en raison de la structure distincte de leur paroi cellulaire. Parmi ceux-ci, les Entérobactéries de même que les bactéries non-fermentaires forment deux groupes largement responsables de plusieurs maladies infectieuses. Les bactéries regroupées dans la famille des *Enterobacteriaceae* se retrouvent principalement dans le sol, l'eau, et certaines (incluant *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Citrobacter sp*, *Enterobacter sp*, et *Serratia marcescens*) sont des constituants naturels de la flore intestinale de l'homme (1).

Ces micro-organismes sont d'importants pathogènes en milieux hospitaliers. Ces derniers se propagent facilement entre humains par le biais des mains, de l'eau et de la nourriture contaminée. Les bactéries non-fermentaires sont également répandues dans l'environnement et sont responsables d'infections dites opportunistes.

Les principales bactéries à Gram négatif causant des infections sont *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* parmi les Entérobactéries, ainsi que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* parmi les bactéries non-fermentaires.

Les infections causées par des bactéries à Gram négatif constituent une préoccupation majeure dans les établissements de soins de santé ainsi que dans la communauté en général. Dans certains cas, les bactéries peuvent pénétrer dans l'organisme par le biais de cathéters, de ventilateurs respiratoires, ou directement dans une plaie. L'entrée de ces micro-organismes peut conduire à une infection respiratoire, une infection des voies urinaires, du site opératoire ou à une septicémie (2).

Ces types d'infections affectent majoritairement les personnes immunodéprimées et les personnes âgées, représentant généralement la clientèle des établissements de soins de santé.

De récentes études ont montré que 30 % des infections nosocomiales étaient causées par des bactéries à Gram négatif et que ces dernières prédominaient dans les cas de pneumonies associées à la ventilation (47%) et d'infections urinaires (45%) (3).

Les différents agents antimicrobiens développés avec le temps représentent des outils thérapeutiques de choix pour le contrôle des infections causées par ces micro-organismes (4).

Malheureusement, l'incidence de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif a augmenté à un rythme alarmant au niveau mondial au cours des 20 dernières années. Au fur et à mesure de la découverte de nouveaux antibiotiques, les bactéries ont

progressivement accumulé dans leur matériel génétique les gènes conduisant à la multi-résistance.

L'augmentation et la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram-négatif, particulièrement les Entérobactéries et les bactéries du genre *Pseudomonas* et *Acinetobacter*, représentent un problème majeur de santé publique (5).

L'Organisation Mondiale de la Santé a recommandé des mesures de contrôle et de prévention afin de réduire le risque de transmission des bactéries à Gram négatif productrices de BLSE ou de carbapénémases. Ces stratégies incluent l'identification des bactéries productrices de BLSE et de carbapénémases par des méthodes diagnostics rapides de même que la mise en place d'une surveillance épidémiologique des principaux gènes de résistance encodant à ces enzymes.

Les infections causées par les bactéries multi-résistantes ont conduit non seulement à une augmentation de la mortalité, de la morbidité et du coût de traitement, mais aussi continuent à mettre en danger la vie des patients surtout immunodéprimés. Ainsi, face à cette préoccupation mondiale et suite à de nombreuses recommandations, plusieurs études épidémiologiques et moléculaires ont été rapportées afin de surveiller la diffusion et la dissémination de la résistance aux antibiotiques.

C'est dans cette optique que ce travail s'articule avec comme objectifs :

- L'isolement et l'identification des souches bactériennes à partir de produits pathologiques de patients hospitalisés à l'hôpital par des méthodes conventionnelles.
- L'étude des caractéristiques épidémiologiques des souches isolées chez l'enfant et l'adulte (âge, sexe, nature de l'infection, service, ...etc).
- L'étude de la résistance aux principaux antibiotiques actifs : les bêta-lactamines, et d'autres familles d'antibiotiques telles que les macrolides, le cotrimoxazole, les tétracyclines, les fluoroquinolones, les glycopeptides et les aminosides.
- L'étude épidémiologique de la répartition de la multirésistance en fonction de certains paramètres.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I .
GÉNÉRALITÉS SUR
LES BACILLES À GRAM NÉGATIF

1. Bacilles à Gram négatif non fermentaires

Par définition, les bactéries non fermentaires est un groupe qui représente 10 à 15% des bacilles à coloration de Gram négatif, ayant la forme microscopique de bâtonnet, asporulé qui, comme son nom l'indique, utilise des voies métaboliques autres que la fermentation comme mode de production énergétique (6).

Ce groupe comprend une large variété de familles, divisées en plusieurs genres bactériens (*Acetobacter*, *Achromobacter*, *Acidomonas*, *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Advenella*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Alishewanella*, *Asaia*, *Azospirillum*, *Balneatrix*, *Bergeyella*, *Bordetella*, *Brevundimonas*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chryseobacterium*, *Comamonas*, *Cupriavidus*, *Delftia*, *Elizabethkingia*, *Empedobacter*, *Gluconobacter*, *Granulibacter*, *Haematobacter*, *Herbaspirillum*, *Inquilinus*, *Kerstersia*, *Laribacter*, *Lautropia*, *Massilia*, *Methylobacterium*, *Moraxella*, *Myroides*, *Naxibacter*, *Neisseria*, *Ochrobactrum*, *Oligella*, *Pandoraea*, *Pannonibacter*, *Parococcus*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Ralstonia*, *Rhizobium*, *Roseomonas*, *Shewanella*, *Sphingobacterium*, *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas*, *Weeksella* et *Wohlfahrtiimonas*.) (7).

Leur classification repose principalement sur des données phénotypiques (caractères conventionnels ou nutritionnels) et des données génétiques (composition en bases de l'acide désoxyribonucléique, hybridations ADN-ADN, séquençage de l'ADNr16 s) (8).

Dans le présent chapitre, nous nous intéressons au genre *Pseudomonas* et *Acinetobacter* étant donné qu'ils présentent une importance médicale majeure.

1.1 Le genre *Pseudomonas*

Ce genre a été découvert en 1882 dans un pus d'une plaie chirurgicale (8), les espèces de ce genre, saprophytes qu'elles soient ou pathogènes, sont des bâtonnets droits, fins à extrémité effilée, chimio-organotrophes, oxybiontiques, à métabolisme respiratoire et jamais fermentaire (synthèse d'une nitrate-réductase, respiration des nitrates chez certaines espèces), sans aucun bourgeon (09). Ce genre est défini sur la base de la phylogénie et de diverses caractéristiques physiologiques décrites dans le tableau 01.

Les *Pseudomonas* ont des besoins nutritionnels très limités, cultivables facilement sur les milieux usuels, se développant à un pH neutre et à une température mésophile pendant 48 à 72 heures d'incubation pour l'obtention de colonies repiquables, les espèces du genre *Pseudomonas* sont ubiquitaires (aquatiques, hydrotelluriques), généralement résistantes aux antibiotiques et aux antiseptiques.

Tableau 1 : Caractéristiques de certaines espèces du genre *Pseudomonas* appartenant au groupe I (10).

Groupe I	Groupe phylogénétique	Caractéristiques	ADN (% G+C)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Production de pyocyanine, croissance jusqu'à 43 °C, flagelle polaire unique, capable de dénitrification.	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		Ne produit pas de pyocyanine et ne se développe pas à 43 °C, touffe de flagelles polaires.	59-61
<i>Pseudomonas putida</i>		Semblable à <i>P. fluorescens</i> mais ne liquéfie pas la gélatine et se développe sur benzylamine.	60-63
<i>Pseudomonas syringae</i>		Pas d'arginine dihydrolase, oxydase négative, pathogène des plantes.	58-60

Certaines espèces sont d'intérêt médical tel que *Pseudomonas aeruginosa*, qui est l'espèce-type de ce genre (11).

➤ ***Pseudomonas aeruginosa* (Bacille pyocyanique)**

Bacille du pus bleu ou pyo, appartenant à la famille des *Pseudomonaceae*, d'une taille qui varie entre 1 à 3 µm sur 0,5 à 0,8 µm de large, fin et droit, à coloration de Gram négative (Figure 2), mobile grâce à une ciliature de type polaire monotriche en «vol de moucheron», parfois entouré d'une pseudo-capsule appelée « slime » de nature polysaccharidique qui est souvent impliquée dans sa pathogénicité (11).

Pseudomonas aeruginosa possède toutes les enzymes respiratoires : catalase, oxydase, et une nitrate réductase, son métabolisme est oxydatif, avec assimilation des différents sucres dont le glucose et fructose, elle est capable également de dégrader la gélatine, elle possède

une arginine dihydrolase, elle hydrolyse la lécithine, ainsi que l'ADN, elle peut utiliser le citrate de Simmons comme source d'énergie.

Du fait qu'il soit fréquemment isolé en milieu hospitalier, ce pathogène est un opportuniste chez les patients présentant des maladies métaboliques, hématologiques et des infections nosocomiales, il provoque des infections chez les individus affaiblis, en plus des infections urinaires, il peut également causer des infections systémiques, le plus souvent dans des cas de lésions étendues de la peau, par contre il est peu virulent chez un sujet immunocompétent.

Cet agent infectieux possède multiples facteurs de pathogénicité lui permettant l'implantation, la multiplication et la persistance comme : les hémolysines, les protéases, les entérotoxines, les exotoxine A, les exotoxine S, les leucocidines, il a également une très grande capacité d'adaptation dû à la sécrétion d'alginate de polysaccharide extracellulaire générant une condition appelée « mucoidy » responsable de la formation d'un biofilm bactérien (Figure 1) (12), qui à son tour, rend la bactérie peu accessible aux défenses immunitaires et aux antibiotiques en favorisant les infections aiguës et les infections chroniques, communautaires ou nosocomiales (13).

Pseudomonas aeruginosa sécrète également certaines pigmentations, entre autre, la pyocyanine (bleu-vert), la fluorescéine (jaune vert fluorescent) et la pyorubine (brun-rouge).

Cette bactérie invasive, toxigène est résistante à la majorité des antibiotiques les plus employés grâce à un plasmide de transfert de résistance (plasmide R), qui porte des gènes codant des protéines capables de désactiver divers antibiotiques. Ce pathogène peut facilement infecter des patients déjà traités pour d'autres pathologies (14).

1.2 Le genre *Acinetobacter*

En 1911, le microbiologiste Néerlandais Beijerinck avait isolé du sol la première souche appartenant au genre *Acinetobacter* (15), qui appartient actuellement à l'embranchement de *Proteobacteria* au sein de la classe des *Gamma Proteobacteria*, à l'ordre de *Pseudomonadales* et à la famille des *Moraxellaceae* (16), d'une systématique assez complexe, les génomes espèces qui ont pu être définies sont le 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 12 et 13 appartenant respectivement à *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter tjernbergiae*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter radioresistens*, *Acinetobacter lwoffii* et *Acinetobacter ursingii* (17).

Les *Acinetobacter sp* sont des bactéries ubiquitaires (hydrotelluriques, aquatiques, alimentaires et cutanées).

Ces bacilles, souvent groupés en diplobacilles arrondis à coloration de Gram négative (Figure 2), sont capables de résister à la décoloration. En phase exponentielle de croissance les *Acinetobacter sp* se présentent sous la forme bacillaire de 0,9 µm à 1,6 µm de diamètre sur 1,5 µm à 2,5 µm de longueur rassemblés en paire ou en chaînettes, dans les cultures âgées, des formes sphériques ou filamenteuses sont observées, asporulés, parfois encapsulés, facilement cultivables après 24 heures à une température optimale de croissance qui varie entre 30° C et 35° C sur les milieux usuels, il est également aérobies stricts, catalase positive, avec une teneur en ADN G+C de 39 % à 47 %, oxydase (-), LDC (-), ODC (-), ADH (-), indole (-) et DNase (-) (18), quelques souches produisent une uréase ou une phénylalanine désaminase d'activité faible, l'oxydation du glucose a été utilisée pour différencier les biovars, les variants et les sous espèces.

➤ *Acinetobacter baumannii*

Étant le prototrophe invasif le plus fréquemment isolé des échantillons biologiques humains dans le domaine clinique (19), il est considéré ces dernières années, comme le pathogène opportuniste, particulièrement chez les immunodéprimés, le plus alarmant par rapport à son large éventail de mécanismes de résistance aux antibiotiques d'une part, associé à son incrimination dans les épidémies hospitalières et à son insensibilité à la dessiccation et aux désinfectants d'autre part (19).

Parallèlement aux 16 îlots génétiques impliqués dans sa virulence, *Acinetobacter baumannii* est armé de facteurs de virulence responsables de sa résistance aux stress environnementaux ainsi que de son processus pathologique causant des pneumopathies, septicémies, endocardites, méningites secondaires et infections chirurgicales (20), ses facteurs de virulence se résument notamment dans les protéines de la membrane externe OMP (21), les LPS doués de propriétés endotoxiques (22), les exopolysaccharides (capsule), les enzymes dégradatives (principalement la phospholipase C), la production de biofilm (Figure 1), la sécrétion des toxines, la détection du Quorum (23) et les mécanismes d'acquisition de fer par production de sidérophore (24).

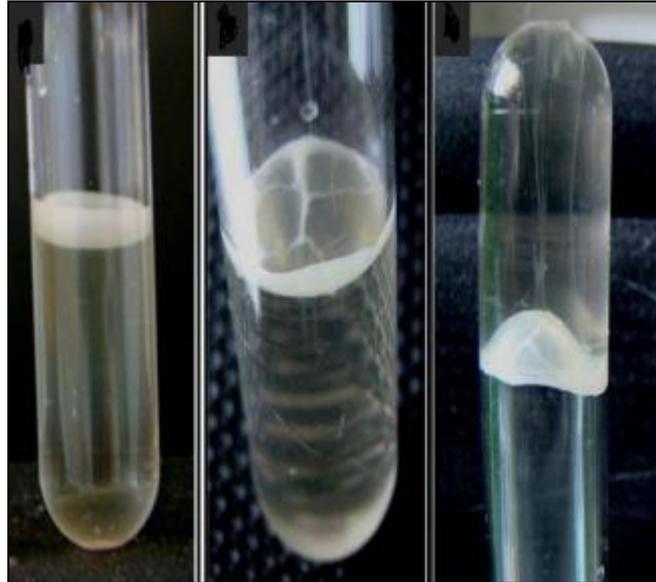


Figure 1 Photographie représentant la formation d'un biofilm d'*A. baumannii* (25).

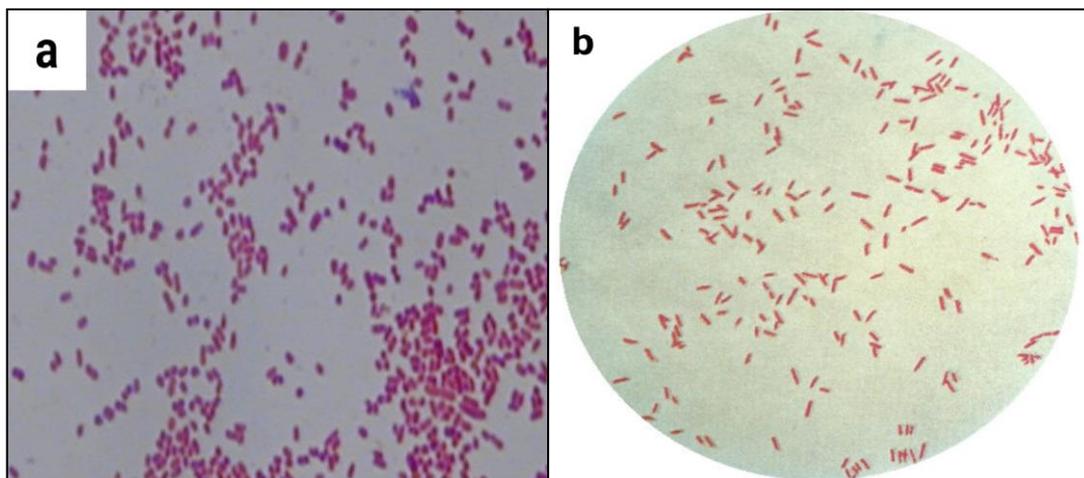


Figure 2 Aspect microscopique après coloration de Gram (26).

(a) *A. baumannii* ; (b) *P. aeruginosa*

2. Bacilles à Gram négatif fermentaires (Entérobactéries)

La famille des *Entérobactériaceae* se définit comme étant des bacilles à coloration de Gram négative, droits, asporulés, non exigeants, poussant sur des milieux de culture ordinaires à une température optimale de croissance de 37°C mais la culture est possible entre 20°C et 40°C, aérobies facultatifs, immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*), ou mobiles par flagelles péritriches, catalase (+), oxydase (-), métabolisme fermentaire avec ou sans production de gaz, réduisent habituellement les nitrates en nitrite (pas en N₂), ARNr 16S de classe Gamma-Protéobactéries au sein de l'ordre *Enterobacteriale* (27).

Sur le plan antigénique, ce groupe est caractérisé par sa forte similitude, il englobe plusieurs espèces pathogènes pour les humains et les animaux, qui provoquent des maladies

dès leur entrée dans le tube digestif, d'autres présentent des caractères opportunistes. Elles ne sont pathogènes qu'en quantité très importante sur fond d'immunodépression (27).

Un nombre extrêmement important d'isolats ont été étudiés et caractérisés et un nombre significatif de genres distincts ont été définis, nous allons aborder dans ce chapitre les principaux genres d'entérobactéries les plus communément isolées dans les laboratoires de bactériologie clinique.

La figure 3 ci-dessous représente la structure anatomique et l'aspect microscopique des *Entrobacteriaceae*.

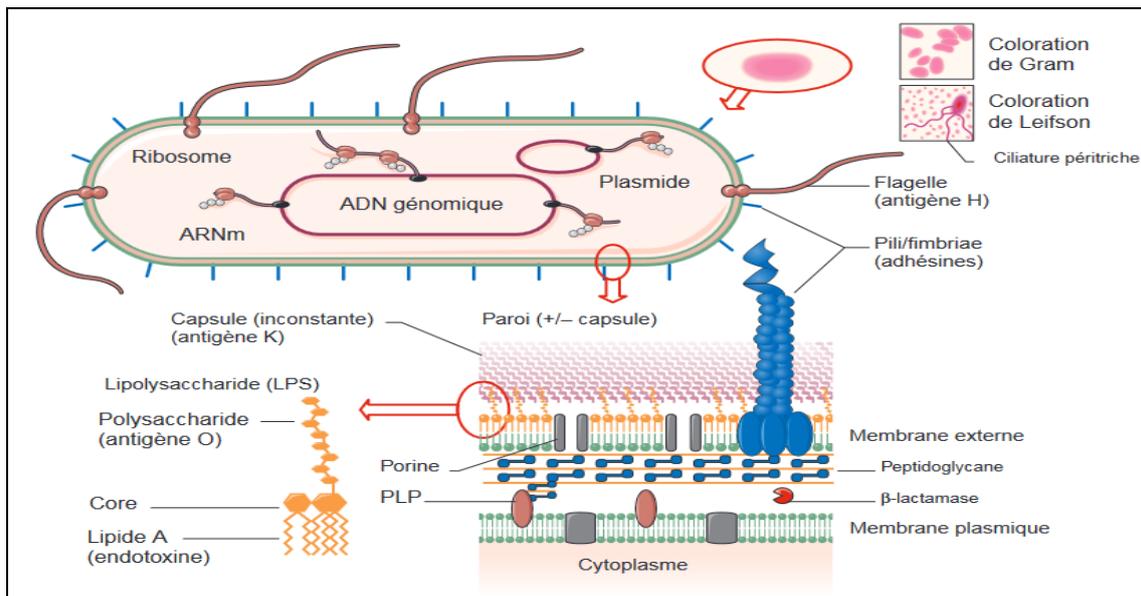


Figure 3 Schéma explicatif représentant la structure anatomique et l'aspect microscopique des *Entrobacteriaceae* (27).

2.1 *Escherichia coli*

Bacille à Gram négatif (Figure 4) de la famille des entérobactéries, hôte normal du tube digestif, elle est facilement identifiable : mobile, utilise le lactose, produit l'indole, capable de fermenter le lactose (28).

Il existe quatre groupes principaux de souches d'*E. coli* responsables de diarrhées :

- *E. coli* entéro-pathogènes EPEC : responsables de gastro-entérites infantiles
- *E. coli* entéro-invasifs EIEC : syndromes dysentériques (diarrhées mucopurulentes et sanglantes).
- *E. coli* entéro-toxinogènes ETEC : responsables de diarrhées liquidiennes cholériques (diarrhée du voyageur ou turista)
- *E. coli* entéro-hémorragiques EHEC : syndrome entéro-hémorragique responsable chez les enfants (1 mois à 3 ans) du syndrome hémolytique et urémique.

Le pouvoir pathogène de cette bactérie réside principalement dans les infections entéro-coliques, infections urinaires, toxi-infections alimentaires, infections intra-abdominales (cholécystites, péritonites...etc), septicémies, infections néonatales (méningites) (28).

2.2 *Citrobacter sp*

Bacille à Gram négatif de la famille des entérobactéries, opportuniste, naturellement répondu dans le tube digestif et l'environnement (29).

Son pouvoir pathogène réside principalement dans les infections nosocomiales: septicémies, abcès et infections pulmonaires, urinaires, méningées.

2.3 *Klebsiella sp*

Bacille à Gram négatif (Figure 4), encapsulé de la famille des entérobactéries présent dans les cavités naturelles en particulier le tube digestif et les voies aériennes supérieures, responsable des infections nosocomiales et communautaires : broncho-pulmonaires et urinaires, méningites purulentes et sepsis (30).

2.4 *Proteus-Morganella sp*

Bacilles à Gram négatif, de la famille des entérobactéries, plusieurs espèces sont fréquentées en bactériologie dont principalement *P. mirabilis* et *P. vulgaris*. En plus de *M. morganii* initialement appelé *P. morganii*, ils sont naturellement présents sans le tube digestif, téguments, orifices naturels. Ils sont souvent incriminés dans les infections urinaires et bactériémies nosocomiales (31).

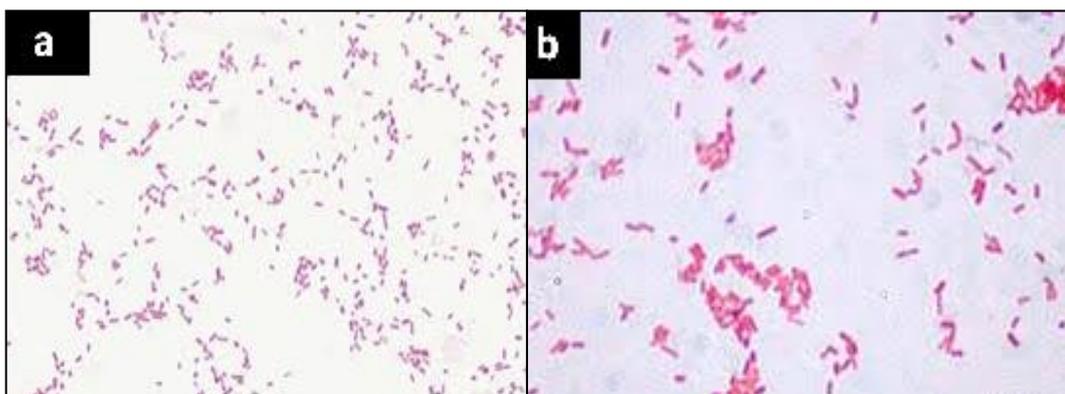


Figure 4 Observation microscopique après coloration de Gram x 100 (32).
(a) *K. pneumoniae*; (b) *E. coli*

2.5 *Salmonella sp*

Bacille à Gram négatif, à transmission oro-fécale, agent des fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes et d'infections intestinales (tableau 02), naturellement présent dans le tube digestif (32).

Son pouvoir pathogène est différent pour les salmonelles majeures (que l'on ne trouve que chez l'homme) et les salmonelles mineures (ubiquistes) (32).

- ***Salmonella* majeures** : *S. typhi*, *S. paratyphi*, respectivement responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdiques.
- ***Salmonella* mineures** : responsables de gastroentérites (bactéries entéropathogènes invasives). Ces germes sont portés par l'homme et l'animal. Les salmonelles mineures sont impliquées habituellement dans les infections alimentaires.

2.6 *Shigella sp*

Les shigelles sont des bactéries humaines qui ne font pas partie de la flore intestinale normale, retrouvées que chez les malades, les convalescents et les rares porteurs sains. Elles sont responsables de la « dysenterie bacillaire ». Ces bactéries furent isolées la première fois des selles de malades présentant un syndrome dysentérique (23), Ce genre comprend quatre espèces ou sous-groupes A, B, C, D pouvant comporter un ou plusieurs serovars :

- Groupe A : *S. dysenteriae* avec 15 serovars.
- Groupe B : *S. flexneri* avec 6 serovars.
- Groupe C : *S. boydii* avec 18 serovars.
- Groupe D : *S. sonnei* avec un seul serovars.

2.7 *Enterobacter sp*

Ce genre comprend plusieurs espèces principalement *E. cloacae* qui est une bactérie commensale du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud, elle colonise souvent les patient hospitalisées et plus particulièrement ceux traités par des antibiotiques et peut être à l'origine d'infections urinaires, de pneumonies, ainsi que d'infections cutanées (34).

2.8 *Serratia sp*

Bacille à Gram négatif de la famille des entérobactéries, présente dans les cavités naturelles de l'homme, responsable des infections nosocomiales, dix espèces dont le chef de file est *S. marcescens* qui est de plus en plus isolé de prélèvements de patients hospitalisés et se caractérisant par sa multirésistance aux antibiotiques (35).

D'autres espèces isolées de l'environnement et des animaux (petits mammifères et insectes) sont rarement isolées chez l'homme (*S. liquefaciens*, *S. grimesii*, *S. rubideae*, *S. odorifera*, *S. plymutica*, *S. ficaria*, *S. fonticola*), *S. proteomaculans* et *S. entomophila*, n'ont pas encore été isolé chez l'homme (35).

Tableau 2 Espèces des entérobactéries et pouvoir pathogène (36).

GENRE	ESPECES
Escherichia	E. coli
Shigella	S. dysenteriae, S. sonnei, S. boydii, S. flexneri
Salmonella	S. typhi, paratyphi A, B, C..... > 2000 sérotypes
Klebsiella	K. pneumoniae, K. oxytoca.....
Enterobacter	E. cloacae, E. aerogenes.....
Serratia	S. marcescens.....
Proteus	P. mirabilis, P. vulgaris
Providentia	P. rettgeri, P. stuartii
Morganella	M. morganii
Citrobacter	C. freundii.....
Hafnia	H. alvei
Yersinia	Y. pestis, Y. enterocolitica, Y. pseudotuberculosis

E. coli	Infections urinaires
Shigella	Infections digestives
Salmonella	
<i>S. typhi, paratyphi A, B, C</i>	Fièvres septicémiques
Autres	Infections digestives
K. pneumoniae	Infections pulmonaires
E. cloacae	Infections opportunistes
S. marcescens	Infections opportunistes
P. mirabilis	Infections digestives
P. rettgeri	Infections opportunistes
C. freundii	Infections opportunistes
Y. enterocolitica	Infections digestives
Y. pseudotuberculosis	Infections digestives
Y. pestis	Peste

CHAPITRE II.
RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

1. Définition

Les antibiotiques agissent sur les bactéries en inhibant des fonctions physiologiques précises telles que la synthèse de la paroi (β - lactamines, glycopeptides, fosfomycine) (38), la réplication/ transcription de l'ADN (quinolones, rifampicine, sulfamides, triméthoprime), la synthèse protéique (aminosides, tétracyclines, macrolides et apparentés, chloramphénicol) ou encore la respiration cellulaire (polymyxines). Pour exercer leur action, ils doivent se lier à des cibles moléculaires spécifiques le plus souvent intracellulaires (39).

Plusieurs facteurs sont déterminants dans l'activité d'un antibiotique, à savoir l'affinité de la cible pour l'inhibiteur, le nombre de molécules cibles à inactiver dans une bactérie et enfin, la concentration de l'inhibiteur au voisinage de la cible (40). Ce dernier paramètre dépend évidemment de la concentration du produit dans le milieu où se trouve la bactérie, mais également de facteurs plus complexes comme le niveau de perméabilité des membranes à l'agent considéré, l'existence éventuelle de mécanismes d'inactivation ou d'activation, ou encore la présence de systèmes d'efflux actifs naturels pouvant s'opposer à son accumulation intracellulaire (40).

Les bactéries peuvent croître leur résistance aux antibiotiques par une multitude de mécanismes dont la nature et l'efficacité varient suivant les espèces et les antibiotiques considérés (41).

Un antibiotique est défini comme étant toute substance élaborée par un organisme vivant (champignon ou bactérie) ou produit par synthèse et douée d'une :

- Activité antibactérienne en milieu organique,
- Bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme,
- Activité spécifique sur une étape fondamentale du métabolisme des microorganismes.

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des microorganismes à des concentrations tolérées par l'hôte (42).

Les mécanismes de la résistance aux antibiotiques sont illustrés dans la figure 5, nous citons :

- Inactivation enzymatique : destruction de la cible.
- Modification de la cible : pas de reconnaissance par l'antibiotique.
- Imperméabilité : impossibilité d'atteindre la cible.
- Efflux : pompe chassant l'antibiotique (Association possible des différents mécanismes).

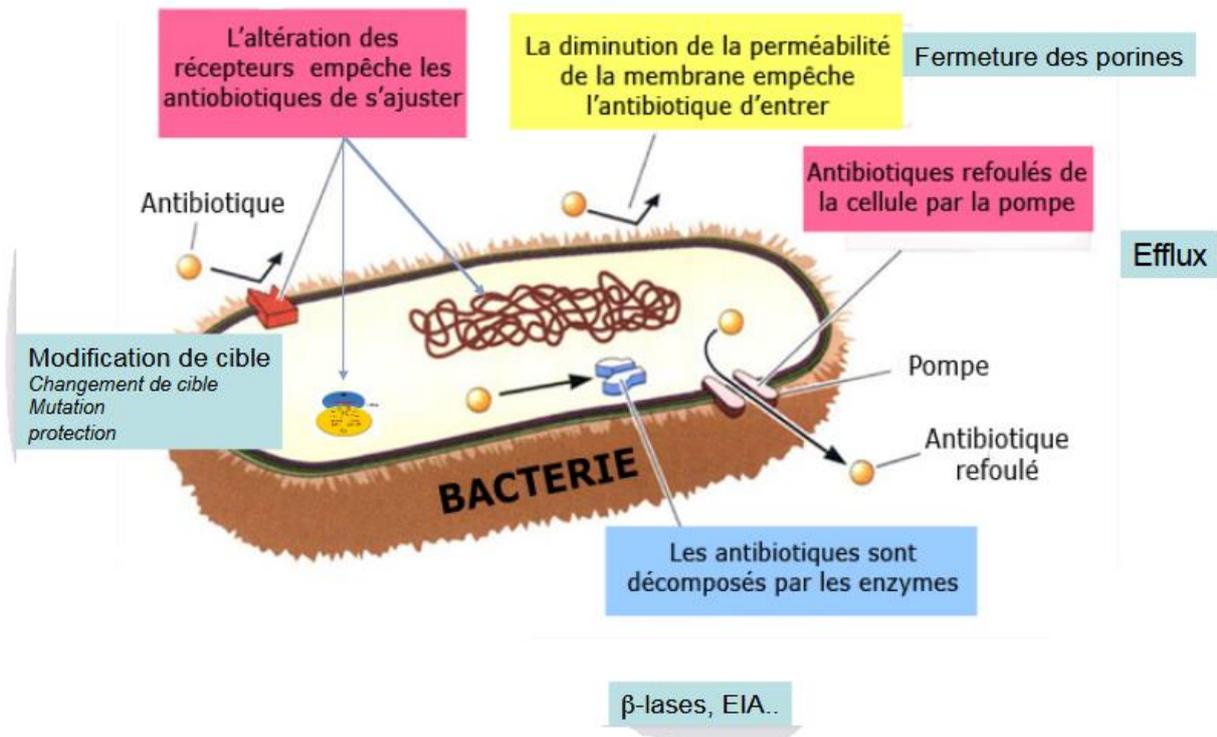


Figure 5 Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques (43).

2. Historique

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique. En effet ces dix dernières années, nous avons constaté une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en particulier chez les bacilles à Gram négatif.

La résistance aux β -lactamines chez les entérobactéries est dominée par la production de BLSE de type CTX-M-3 et CTX-M-15 (44). Les souches productrices de ces enzymes sont souvent à l'origine d'infections potentiellement sévères aussi bien en milieu hospitalier que communautaire. Les céphalosporinases plasmidiques identifiées sont CMY-2, CMY-12 et DHA-1 (44).

L'isolement de souches d'entérobactéries et de *Pseudomonas aeruginosa* productrices de carbapénémases est en hausse. Quelques entérobactéries productrices d'OXA-48 et VIM-19 ont été rapportées, jusqu'à présent, seul VIM-2 a été identifié chez *P. aeruginosa* (44).

Cependant, la situation relative aux souches d'*Acinetobacter baumannii* résistantes aux carbapénèmes semble être plus inquiétante. La carbapénémase OXA-23 est la plus répandue. La carbapénémase NDM-1 a également été identifiée chez cette espèce (45).

La résistance aux aminosides est marquée par l'identification du gène *armA* associé aux gènes *bla*_{CTX-M} chez des souches de *Salmonella* sp. Plusieurs autres gènes de résistance

ont été identifiés de façon sporadique chez des souches d'entérobactéries, de *P. aeruginosa* et d'*A. baumannii*.

Parmi les gènes de résistance aux fluoroquinolones, les déterminants Qnr suivis de l'enzyme bi-fonctionnelle AAC[6]-Ib-cr (44).

La résistance aux sulfamides et au triméthoprimine a également été rapportée chez les souches d'entérobactéries (46).

3. Mécanismes de résistance

Les bactéries multirésistantes aux antibiotiques émergent actuellement rapidement sur le plan international. Ces multirésistances conduisant à des impasses thérapeutiques sont observées essentiellement chez les bacilles à Gram négatif, notamment les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (47).

Si le contrôle des infections nosocomiales dues à de telles bactéries multirésistantes est envisageable grâce à un large dépistage de patients à risque, tout contrôle en milieu communautaire se révèle être particulièrement difficile (48).

L'absence de diagnostic microbiologique systématique de ces résistances devant tout signe d'infection, et de confinement des patients porteurs sont deux facteurs majeurs de dissémination de ces déterminants de résistance en milieu communautaire (48).

Vu l'ampleur du sujet, Dans ce chapitre, nous n'aborderons que les déterminants importants de résistance qui sont les β -lactamases à spectre élargi (BLSE), les carbapénémases, et les méthylases de l'ARN 16S conférant une résistance aux aminoglycosides.

Ils ont deux caractéristiques à l'origine de problèmes : seuls, ils sont d'emblée la source d'une multirésistance aux antibiotiques, et d'autre part, ils peuvent être associés au sein de mêmes souches et générer une panrésistance (résistance à tous les antibiotiques).

3.1 Bêtalactamases à spectre élargi (BLSE)

La description de BLSE est bien connue en milieu hospitalier (notamment au sein de l'espèce *Klebsiella pneumoniae*) (49).

On observe une dissémination rapide de souches (essentiellement *E. coli*) en milieu communautaire qui expriment de nouveaux types de BLSE, les enzymes CTX-M (43).

La dynamique de la diffusion des BLSE est très liée à cette diffusion communautaire de souches *E. coli* BLSE, mais également au transfert des gènes plasmidiques de BLSE

d'*E. coli* vers *K. pneumoniae* essentiellement, avec au final l'émergence d'épidémies hospitalières à *K. pneumoniae* BLSE (50).

Ces nouvelles BLSE (CTX-M-3, CTX-M-15...etc) diffèrent des précédentes observées (TEM, SHV) dans les années 1980-2000 qui étaient trouvées essentiellement chez *K. pneumoniae* (51).

3.2 Carbapénémases

La résistance aux carbapénèmes chez les BGN peut être liée à deux mécanismes principaux :

- la production à haut niveau d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique, associée à une modification de la perméabilité membranaire de la souche bactérienne (mécanisme non transférable) (52).
- l'expression de β -lactamases hydrolysant les carbapénèmes, les carbapénémases (mécanismes transférables). Chez *P. aeruginosa*, cette résistance est liée essentiellement à la perte de la porine D2 (mécanisme non transférable), mais des carbapénémases acquises peuvent également y être identifiées. Chez *A. baumannii*, la résistance aux carbapénèmes associe la production de carbapénémase à une imperméabilité membranaire (53).

La plupart des carbapénémases hydrolysent les céphalosporines et les carbapénèmes. C'est le cas des carbapénémases de type KPC et des métallob-lactamases (MBL) (NDM, VIM, IMP) (54).

Les carbapénémases de type OXA-48 qui constituent le troisième groupe de carbapénémases n'hydrolysent pas ou très peu les céphalosporines de 3^e/4^e générations. Cependant, plus de 80% des souches exprimant OXA-48 co-expriment une BLSE (CTX-M) leur conférant une résistance associée aux céphalosporines de 3^e et 4^e générations (55).

Ces trois types de carbapénémases ont désormais une diffusion mondiale mais leur distribution géographique revêt certaines particularités. Les souches produisant KPC sont désormais très répandues en Amérique du Nord et du Sud, en Grèce, en Italie, en Chine et en Inde. Les souches exprimant une MBL sont très présentes en Asie avec notamment les souches exprimant NDM, tout particulièrement dans le sous-continent indien (56).

Les souches exprimant des carbapénémases de type OXA-48 sont très répandues particulièrement dans les pays du pourtour méditerranéen sud (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Egypte) et en (Turquie). Dans plusieurs pays européens, leur diffusion est maintenant observée en milieu communautaire (France notamment) (56).

Les souches d'entérobactéries exprimant KPC restent en très grande majorité des souches de *K. pneumoniae* isolées dans un contexte hospitalier. Les souches d'entérobactéries

exprimant NDM ou OXA-48 sont essentiellement des souches de *K. pneumoniae* et *E. coli* communautaires et hospitalières. Ces différences de distribution de carbapénémases au sein des différentes espèces d'entérobactéries expliquent que le contrôle des souches produisant KPC puisse être théoriquement plus aisé.

Les carbapénémases identifiées chez *P. aeruginosa* sont surtout des MBL (VIM-2). Chez *A. baumannii*, les carbapénémases sont essentiellement des enzymes particulières à cette espèce (oxacillinases de types OXA-23, OXA-40, OXA-58) (57).

Cependant, l'émergence de souches de *A. baumannii* exprimant NDM-1 notamment en Afrique du Nord puis en Europe fait craindre leur dissémination en milieu hospitalier (difficultés de leur détection) (58).

3.3 Résistance aux aminosides par les méthylases

L'acquisition de gènes codant des méthylases de l'ARN ribosomal 16S a été rapportée chez les entérobactéries, *Pseudomonas* et *Acinetobacter*. Ces enzymes font partie de la famille des protéines Rmt (RmtA à RmtH), ainsi que ArmA et NpmA (59).

Ces enzymes méthylent l'ARN ribosomal 16S et rendent inactifs tous les aminosides à l'exception de la streptomycine, la spectinomycine et la néomycine. Il n'existe pas d'évaluation précise de la prévalence de ces mécanismes d'un point de vue international. Cependant, leur prévalence au sein des souches productrices de la carbapénémase NDM-1 est très élevée (75%) (60).

Les méthylases ArmA et RmtA ont été identifiées chez les souches de *E. coli*, *K. pneumoniae*, et *P. mirabilis* produisant NDM-1 mentionnées plus haut (cas importés) (61).

Du point de vue de leur détection, la multirésistance à tous les aminosides est évocatrice de la production de ce type d'enzyme. On observe souvent sur l'antibiogramme une zone dite «fantôme» autour du disque de certains aminosides comme l'amikacine ou la gentamicine, ce qui est fortement évocateur de la production de méthylases). Les techniques de PCR permettent ensuite de confirmer la présence du gène codant cette méthylase (61).

***MÉTHODOLOGIE DU
DIAGNOSTIC***

1. Lieu de l'étude

Notre étude a été réalisée au sein du Laboratoire Central de Biologie à l'unité de Microbiologie et Parasitologie, paillasse de bactériologie générale et d'ECBU de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine «Commandant Abdelali BENBAATOUCHE» (HMURC)- Algérie.

2. Durée et type d'étude

Les résultats exposés dans la partie pratique du mémoire sont le fruit d' :

- Une étude rétrospective réalisée sur une période d'un an (allant du 1^{er} janvier 2020 au 31 décembre 2020) sur la base des dossiers médicaux, ce qui a engendré malheureusement une légère imprécision en matière de renseignements non mentionnés dans le registre du laboratoire, tels que l'âge de certains patients et le site anatomique du prélèvement.
- Une étude prospective effectuée sur une période de 20 jours à raison de deux jours par semaine (allant du 14 Avril 2021 au 04 Mai 2021), les renseignements essentiels à notre étude ont été recueillis à l'aide d'une fiche de renseignements standardisée (**Annexe 1**).

3. Population étudiée

Notre travail pratique a porté sur des patients des deux sexes, appartenant aux différentes classes d'âge, en ambulatoire et d'autres ayant séjourné dans les 13 services de l'HMRUC suivants : médecine interne, pédiatrie, urologie, maladies infectieuses, néphrologie, chirurgie générale, oncologie, orthopédie, pneumologie, réanimation, neurologie, rééducation, hématologie.

3.1 Échantillonnage

Le matériel biologique utilisé est constitué de 653 souches bactériennes appartenant exclusivement aux groupes des entérobactéries et aux bacilles à Gram négatif non fermentaires, isolées des prélèvements provenant du foyer infectieux, ces prélèvements sont soit monomicrobiens, autrement dit, prélevés d'un site habituellement stérile comme : le sang, les urines, le liquide céphalorachidien (LCR) soit des prélèvement polymicrobiens tels que les exsudats pathologiques (pus d'une plaie chirurgicale par exemple).

3.2. Critères d'inclusion

- ❖ Patients hospitalisés et patients en ambulatoire.
- ❖ Patients atteints d'une infection nosocomiale ou communautaire.

- ❖ Tous les prélèvements destinés à l'analyse bactériologique au sein de la paillasse de bactériologie générale et d'ECBU ont été pris en considération.
- ❖ Uniquement les prélèvements positifs à la famille des *Enterobacteriaceae* et au groupe de bacilles à Gram négatif non fermentaires ont été inclus.

3.3 Critères d'exclusion

- ❖ Cultures contaminées ou négatives à la famille des *Enterobacteriaceae* ou au groupe de bacilles à Gram négatif non fermentaires.
- ❖ Souches isolées des patients ayant des renseignements manquants.
- ❖ Souches redondantes.

4. Matériel et méthodes

4.1 Examen cytobactériologique et culture

La phase analytique dépend du type de prélèvement, le diagnostic bactériologique est complété par une analyse cytologique afin de nous orienter vers une étiologie bactérienne ou virale en fonction du type de cellules retrouvées. Les prélèvements ont été mis en culture immédiatement pour éviter les risques de dessiccation encourue.

4.1.1 Examen cytobactériologique des urines (ECBU)

- **Examen macroscopique** : l'examen de l'aspect des urines homogénéisées est effectué dans le but de signaler la présence de modifications des caractères physiques de l'urine qui regroupent l'aspect de l'urine : clair, hématique, trouble, ictérique, purulent et sa couleur : jaune, ambrée, rougeâtre (Figure 6).



Figure 6 Photographie représentant les différents aspects des urines.

- **Examen microscopique** : la cytot bactériologie qualitative vise à signaler les éléments cellulaires présents dans l'échantillon biologique : leucocytes, polynucléaires, hématies, cellules épithéliales, levures, cristaux médicamenteux, cylindres ainsi que la mobilité de la bactérie. L'observation se fait à l'objectif x 40 (Figure 7). La visualisation microscopique, par son caractère quantitatif, nous assure également le dénombrement des éléments cellulaires précédemment mentionnés suivant la formule : $N = n \times 1 / 0.8 \text{ mm}^3$, dont :

N : le nombre total des éléments présents dans l'échantillon.

n : la moyenne du nombre des éléments comptés dans 3 à 4 bandes.

mm³ : volume d'une bande de la cellule de Nageotte.

1 mm³ : le volume dans lequel on doit trouver le nombre d'éléments.



Figure 7 Photographie de l'examen direct d'une goutte d'urine.

(a) : Examen direct entre lame et lamelle.

(b) : Examen direct sur cellule Nageotte.

- **Examen direct après coloration de Gram** : il se réalise sur une urine non centrifugée et ne présente une sensibilité proche de 100% que pour les concentrations bactériennes supérieur à 10^5 UFC/ml, cet examen nous apporte des informations sur le type de bactéries impliquées (Gram positif ou négatif) ou la présence de levure permettant d'adapter le traitement adéquat, il nous permet également de choisir le milieu de culture, la température et l'atmosphère convenables en cas de culture stérile et un examen direct positif.

- **Mise en culture** : une mise en culture s'impose afin d'identifier et isoler les bactéries en question. Il existe plusieurs méthodes d'ensemencement des prélèvements urinaires, la méthode communément utilisée est la méthode manuelle de l'anse calibrée stérile qui consiste à déposer 10 μ L (100 μ L dans le cas d'une ponction vésicale) d'urine bien homogénéisée sur un rayon de la boîte à l'aide d'une anse calibrée stérile (Figure 08) et étaler le dépôt en stries perpendiculaires au rayon sur toute la surface de la GNO stérile (**Annexe 2**) ou la gélose CLED stérile (**Annexe 2**) et les incubent dans une étuve pendant 18 à 24 heures à 37°C en aérobiose.

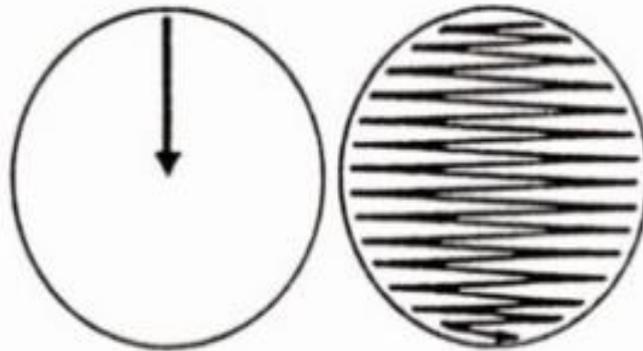


Figure 8 Illustration représentant la technique d'ensemencement de 10 μ L d'urine selon la méthode de l'anse calibrée.

4.1.2 Hémoculture

➤ Incubation des flacons

Pour de cultiver le maximum de bactéries présentes dans le sang, deux ou trois paires de milieux de cultures biologiques additionnés de sang sont utilisés à raison de 10ml de sang par flacon chez l'adulte, 5ml par flacon chez l'enfant et 1ml par flacon chez le nourrisson, le premier flacon est incubé en aérobiose et le second en anaérobiose respectivement à 37°C, ces milieux sont supplémentés avec des nutriments et des facteurs de croissance (vitamines, hémines, hydrates de carbone, cystéine...etc) et de substances ayant un effet neutralisant aux antibiotiques ainsi que les anticoagulants, ces milieux de culture peuvent être liquides: bouillon trypticase soja (atmosphère aérobie), bouillon thioglycolate en atmosphère anaérobie ou biphasique (Flacon Castaneda).

Il est recommandé de les incubent pendant une semaine à 10 jours, les flacons signalés positifs (Figure 09) seront par la suite identifiés contrairement aux flacons estimés négatifs qui seront reincubés jusqu'à quatre semaines, avec une surveillance rigoureuse à partir de la sixième heure ensuite toutes les 24 heures, certaines cultures peuvent apparaître visuellement positives dans les premières 48 à 72 heures par le dégagement de CO₂ et l'aspect trouble

(opacité). La sensibilité des hémocultures ainsi que la durée d'incubation des flacons sont optimisés grâce à l'introduction des automates d'hémoculture Bactec® (Becton Dickinson) (Figure 10) et le BacT/ALERT® (bioMérieux).



Figure 9 Photographie représentant des flacons d'hémoculture BD BACTEC™ positif.

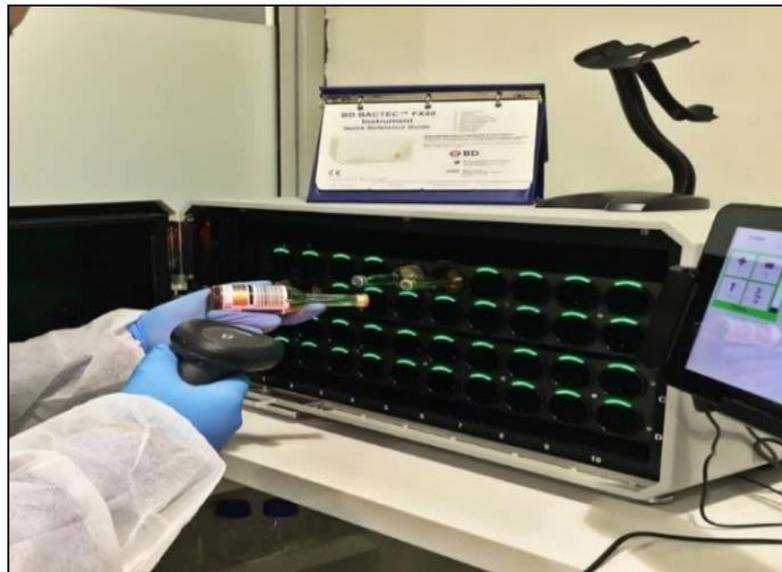


Figure 10 Photographie représentant l'automate à hémoculture BD BACTEC™.

➤ Examen microscopique

Cet examen se réalise à partir d'un échantillon de bouillon prélevé de façon aseptique après avoir désinfecté l'opercule du flacon.

- Examen à l'état frais : pour observer la morphologie et la mobilité des bactéries.
- Coloration de Gram : pour déterminer plus précisément la morphologie des bactéries ainsi que leur affinité tinctoriales (**Annexe 3**).

➤ **Mise en culture** : en fonction du résultat de l'examen direct, avec un flacon d'hémoculture aérobie suspecté positif, une gélose chocolat enrichie stérile (**Annexe 2**) et

une gélose au sang stérile (**Annexe 2**) seront ensemencées par inondation et incubées pendant 24 heures en atmosphère enrichie en CO₂ à 37°C.

Avec un flacon d'hémoculture anaérobie suspecté négatif, une gélose au sang stérile est ensemencée par inondation et incubée en atmosphère enrichie en CO₂, l'autre en anaérobiose, pendant 24 heures à 37°C. Les flacons sont conservés à température ambiante pour un éventuel nouveau repiquage ultérieur si les cultures sont restées négatives.

4.1.3 Examen cytobactériologique du liquide céphalorachidien (ECB du LCR)

- **Examen macroscopique** : l'aspect du LCR peut être limpide (eau de roche), jaune citrin (xanthochromique), purulent (eau de riz) ou rouge (hémorragique) (Figure 11).

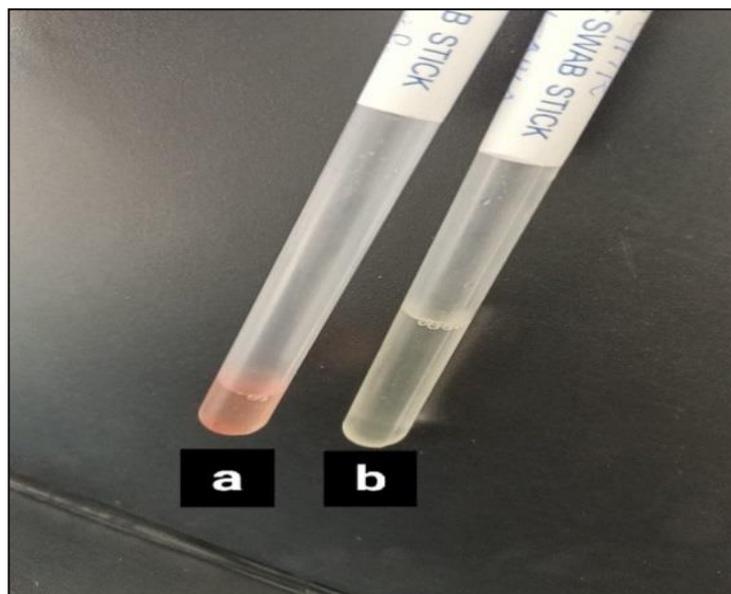


Figure 11 Photographie représentant les différents aspects de LCR.
(a) LCR hémorragique ; (b) LCR clair.

- **Examen cytologique** : une goutte du LCR non centrifugée est déposée sur une cellule de numération (Figure 12) afin de rechercher les cellules inflammatoires et dénombrer les leucocytes (lymphocytes ou polynucléaires, altérés ou non) par mm³ en (cytorachie), la procédure est détaillée dans l'**annexe 4**.



Figure 12 Photographie de l'examen cytologique d'une goutte de LCR sur cellule Neubauer.

- **Coloration de Gram** : le culot obtenu après centrifugation du LCR est coloré à Gram (Annexe 3) pour rechercher des bactéries intra et/ou extracellulaires (Figure 13).

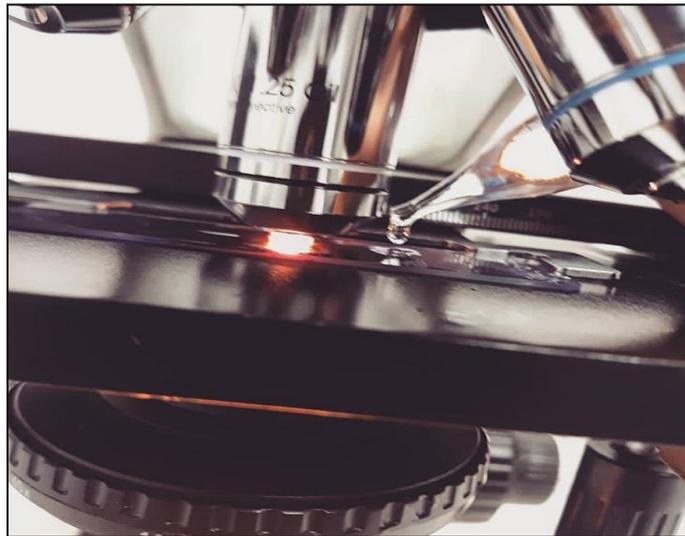


Figure 13 Photographie de l'examen microscopique après coloration de Gram.

- **Mise en culture** : 100 µl du LCR pur et de dilutions 1/10 et 1/100 sont ensemencés par râteau sur gélose au sang cuit, ensuite incubées à 37°C sous CO₂ pendant 24 heures, la figure 14 représente les étapes récapitulées de l'examen cyto bactériologique du LCR.

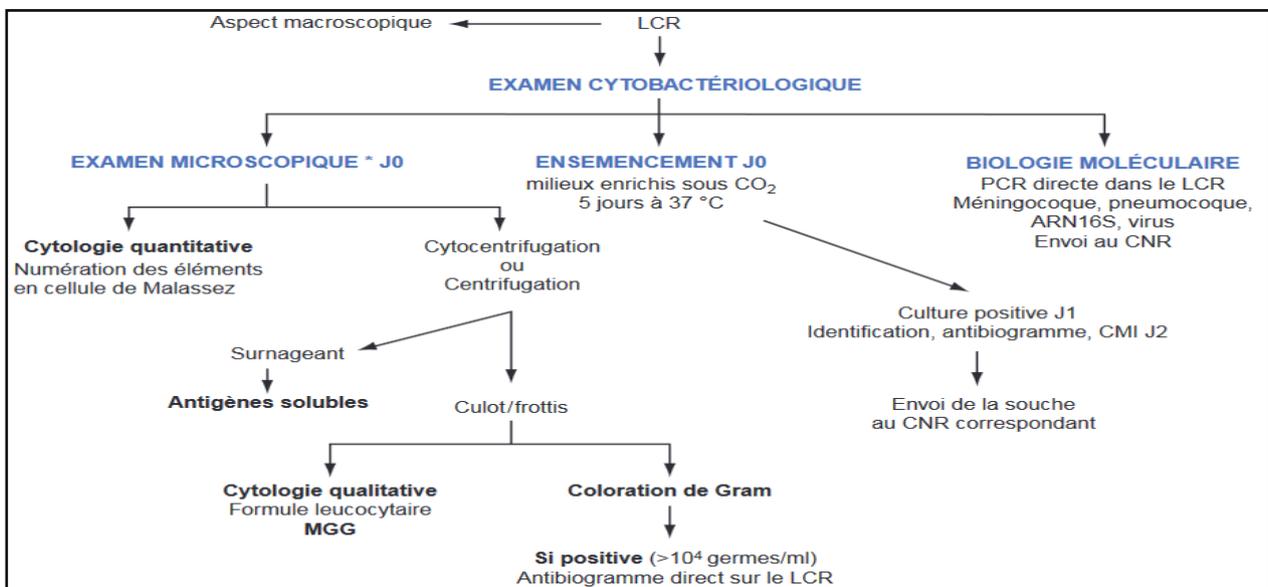


Figure 14 Schéma explicatif des étapes du diagnostic cyto bactériologique du LCR.

4.1.4 Examen cyto bactériologique des suppurations

- **Examen direct après coloration au bleu de méthylène** : après l'appréciation macroscopique du prélèvement (figure 15), nous entamons la coloration vitale (figure 16) qui nous permet de visualiser la réaction cellulaire (leucocyte, cellule épithéliale...etc)

ainsi que la morphologie et l'agencement de la bactérie (chainette, grappe..etc). La procédure est détaillée dans l'annexe 5.

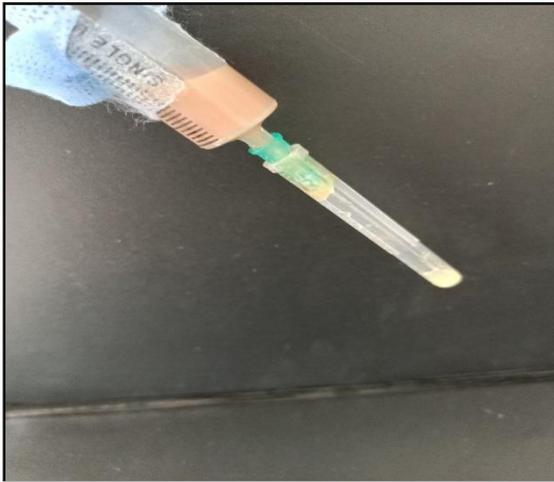


Figure 15 Photographie représentant un exemple d'échantillon de suppuration.

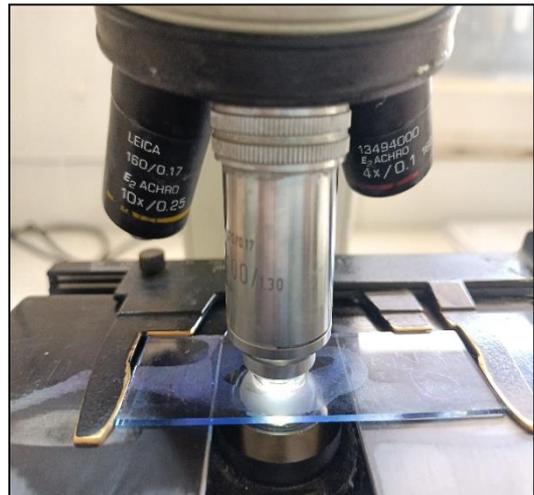


Figure 16 Photographie de l'examen direct après coloration au bleu de méthylène.

- **Mise en culture** : Ensemencement par stries serrées à l'aide d'une pipette pasteur ou une anse de platine, par la technique des 4 quadrants la gélose Hektoen et la gélose Chapman (**Annexe 2**) qui seront incubées pendant 24 heures à 37° C dans une atmosphère aérobie, la gélose au sang frais et la gélose au sang cuit seront ensemencées également par stries serrées, par la technique des 4 quadrants et incubées pendant 24 heures à 37°C dans une atmosphère anaérobie (Figure 17).



Figure 17 Photographie d'un ensemencement par stries serrées sur différents milieux de culture.

Le laboratoire de bactériologie générale reçoit fréquemment une large variété de prélèvements de natures différentes, le schéma ci-dessous récapitule la méthodologie du diagnostic bactériologique en général (Figure 18).

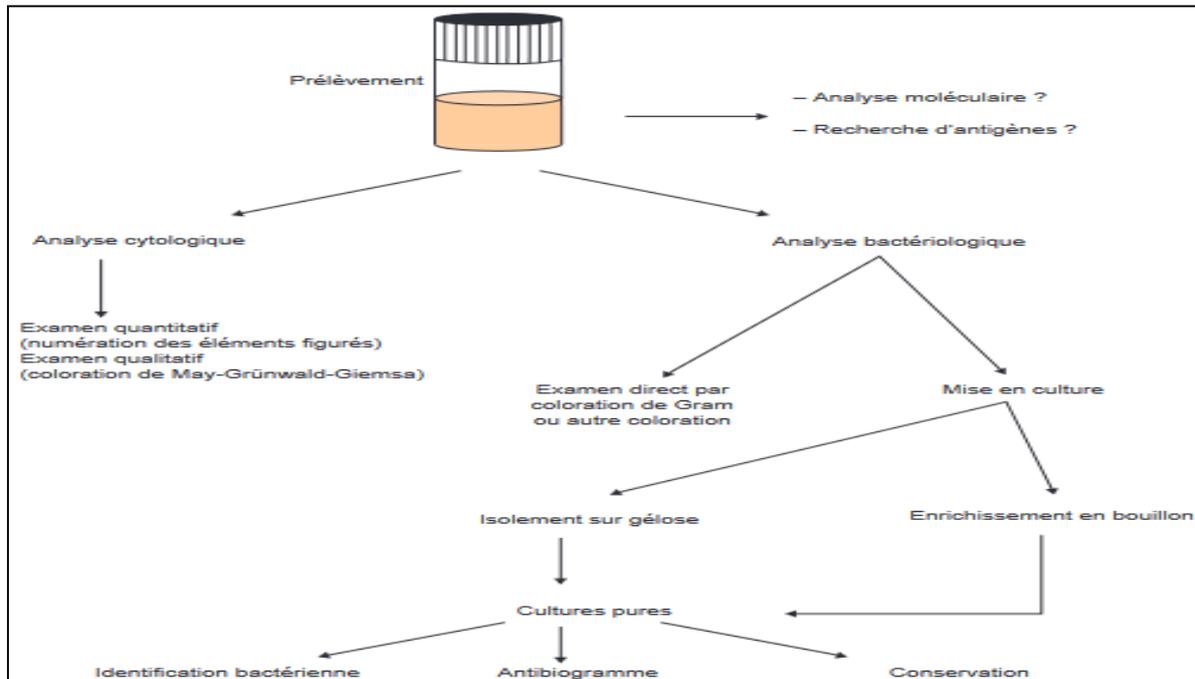


Figure 18 Schéma récapitulatif du diagnostic bactériologique.

Dans ce travail, nous nous intéressons à l'identification des entérobactéries ainsi que les bacilles à Gram négatif non fermentaires, précisément *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp*.

4.2 Purification

La purification constitue une phase qui s'effectue directement après une culture positive, elle comporte plusieurs étapes :

- Repiquer chaque type de colonies sur le même milieu d'isolement approprié (Entérobactéries, *Pseudomonas sp* ou *Acinetobacter sp*), en faisant des stries éloignées par l'anse de platine stérile ou par une pipette Pasteur stérile.
- Incuber pendant 24 à 48 h à 37 °C.
- Après incubation, vérifier si les colonies présentent le même aspect macroscopique et microscopique que celui présenté dans le premier isolement.
- Poursuivre le repiquage si nécessaire, jusqu'à l'obtention d'un isolat pur présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement.

4.3 Identification bactérienne

L'identification bactérienne est une étape primordiale qui ne peut avoir lieu que dans le cas de l'obtention de cultures positives, autrement dit, après l'obtention de colonies bactériennes ayant un aspect, une consistance et une pigmentation bien déterminées.

4.4 Identification biochimique

L'identification biochimique sert à orienter le processus d'un examen bactériologique en précisant le type respiratoire ou fermentaire, les enzymes bactériennes produites et les substrats métabolisables par la bactérie, ces informations servent à nous orienter vers l'origine, le traitement et la gravité de l'infection.

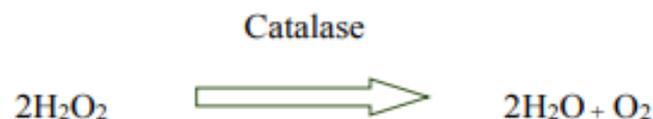
4.4.1 Test de l'oxydase

Ce test recherche la présence d'une enzyme : la cytochrome oxydase dont la mise en évidence est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries à Gram négatif. Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée, à oxyder la forme réduite incolore des dérivés méthylés du paraphénylène diamine en leur forme oxydée rose violacé.

Le test est réalisé en déposant une goutte de suspension bactérienne épaisse sur le disque incolore du réactif N-diméthyl paraphénylène diamine. Une réaction positive se traduit par un virage rapide du réactif de l'incolore au violet foncé en 2 minutes environ.

4.4.2 Test de la catalase

Il permet la détection de l'enzyme « catalase » qui décompose le peroxyde d'hydrogène, avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



Ce test s'effectue sur une lame porte objet propre, sur laquelle est déposée une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée (à 10 volumes) à l'aide d'une pipette Pasteur.

4.4.3 Galerie API 20^E

Principe

Le système API (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent la micro-galerie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs. Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif, elle est composée de 20 tests biochimiques (Figure 19).



Figure 19 Photographie d'une galerie API 20^E avant ensemencement.

Méthode

➤ Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Déposer la galerie dans la boîte d'incubation.

➤ Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule de suspension médium (ou eau physiologique stérile sans additif).
- Prélever à l'aide d'une pipette une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

➤ Inoculation de la galerie

- Remplir tubes et cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement.
- Remplir uniquement les tubes et non les cupules des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests ; ADH, LDC, ODC, URE, H2S en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine (Figure 20).
- Refermer la boîte et la placer à l'étuve à 35-37 °C pendant 18 à 24 heures.

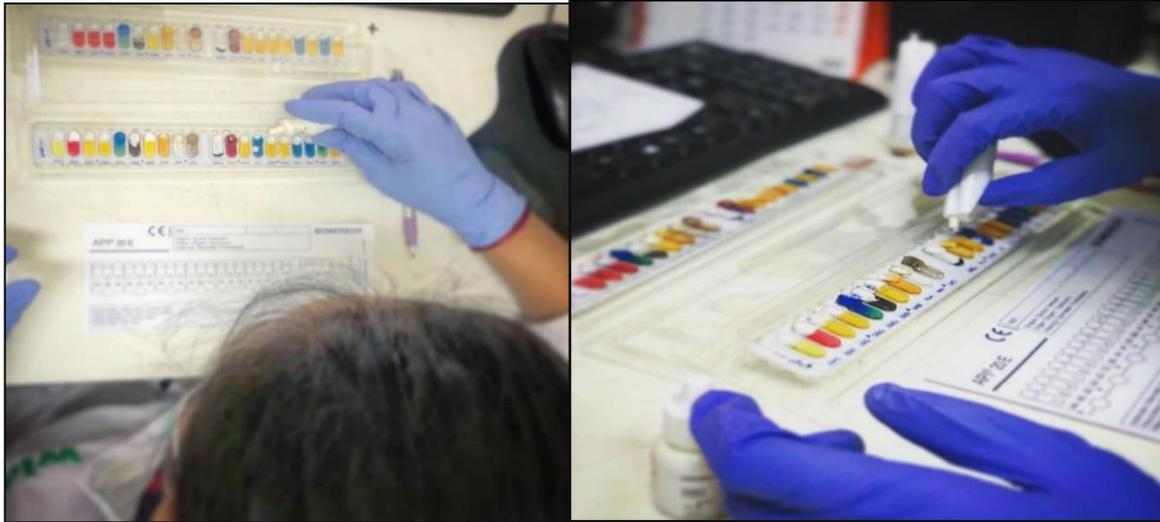


Figure 20 Photographie représentant l'ensemencement de la galerie API 20^E

Lecture

Après 18-24 heures à 35-37°C, la lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture (**Annexe 6**), les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Lorsqu'au moins 3 tests (y compris le test GLU) sont positifs, toutes les réactions spontanées doivent être notées sur la fiche de résultats, avant de révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs (TDA, IND et VP).

Les tests sont groupés par trois successivement de gauche à droite. Les tests négatifs sont toujours codés 0 alors que le code affecté aux tests positifs varie selon la position du test dans le triplet : 1 pour le premier test, 2 pour le second, 4 pour le troisième. Les 3 résultats du triplet sont additionnés (il existe seulement 8 possibilités pour la somme d'un triplé : 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Les sommes de chaque triplet lues de gauche à droite forment un code d'au moins 7 chiffres qui correspond au profil biochimique de la bactérie étudiée.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique (**Annexe 7**).

Les résultats de l'identification biochimique des espèces d'entérobactéries et des bacilles à Gram négatif non fermentaires les plus dominantes sont mentionnées dans **l'annexe 8**.

4.5 Détermination de la résistance aux antibiotiques par la méthode de l'antibiogramme standard (méthode de diffusion des disques)

L'antibiogramme standard utilise la technique de la diffusion en milieu gélosé. Il permet d'apprécier la modification de la croissance d'une souche bactérienne en présence de l'antibiotique testé.

4.5.1 Milieu pour l'antibiogramme

Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm, les géloses doivent être séchées avant l'emploi. Le milieu utilisé est la gélose Mueller-Hinton (**Annexe 2**).

4.5.2 Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

4.5.3 Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum pour éviter l'inondation.
- 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 la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

4.5.4 Application des disques d'ATB

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'ATB sur une boîte de 90 mm.
- Presser chaque disque d'ATB à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.
- Incubation à 37°C pendant 18 heures à 24 heures dans une atmosphère ordinaire.

4.5.5 Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) figurant dans les **annexes 9 et 10**.

Le germe est qualifié de sensible (S), d'intermédiaire (I) ou de résistant (R) selon le degré de sensibilité des souches, évalué par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition. Les

critères d'interprétation sont présentés dans fiches d'antibiogramme (**Annexes 11 et 12**), ces fiches comportent également les antibiotiques testés pour chaque groupe bactérien.

Les résultats de l'antibiogramme sont mentionnés dans l'**annexe 13**.

RÉSULTATS

1. Identification bactérienne

1.1 Appréciation macroscopique des entérobactéries

1.1.1 *Klebsiella pneumoniae*

Après incubation à une température optimale pendant 24 heures, les colonies de *Klebsiella pneumoniae* apparaissent avec un diamètre de 3 à 4 mm, l'allure du contour est généralement lisse avec un relief bombé, brillante, à consistance muqueuse, parfois filantes à l'anse de platine avec un aspect gras et coulant (Figure 21).

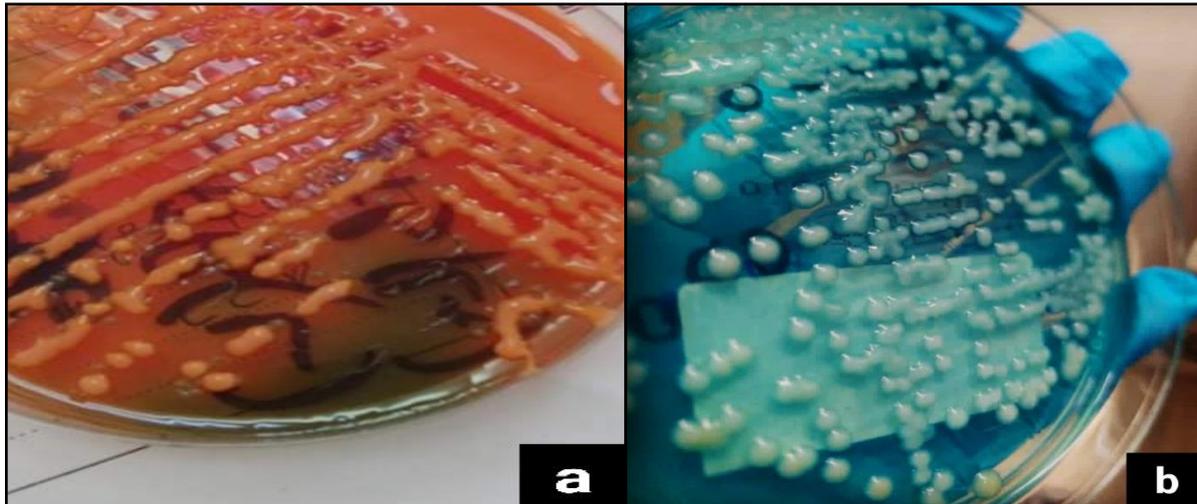


Figure 21 Photographie représentant l'aspect des colonies de *Klebsiella pneumoniae* isolée des urines. (a) culture sur gélose Hektoen ; (b) culture sur gélose CLED

1.1.2 *Escherichia coli*

Après incubation à une température optimale pendant 24 heures, les colonies d'*Escherichia coli* obtenues sont caractérisées par un diamètre de 2 à 3 mm, avec une surface lisse, arrondies, à bords réguliers, et de couleur crème (Figure 22).

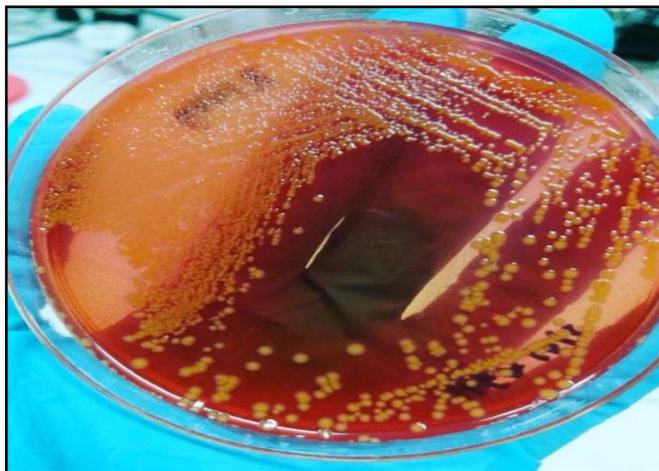


Figure 22 Photographie représentant l'aspect macroscopique des colonies d'*E. coli* sur gélose CLED isolée d'un prélèvement urinaire.

1.1.3 *Proteus mirabilis*

Après incubation à une température optimale pendant 24 heures, les colonies de *P. mirabilis* apparaissent grosses envahissantes, formant des vagues concentriques (swarming), cette propriété est liée à la mobilité de la bactérie, qui ne se produit pas sur les milieux dépourvus de NaCl et sur les milieux sélectifs dépourvus de sels biliaires (Figure 23).

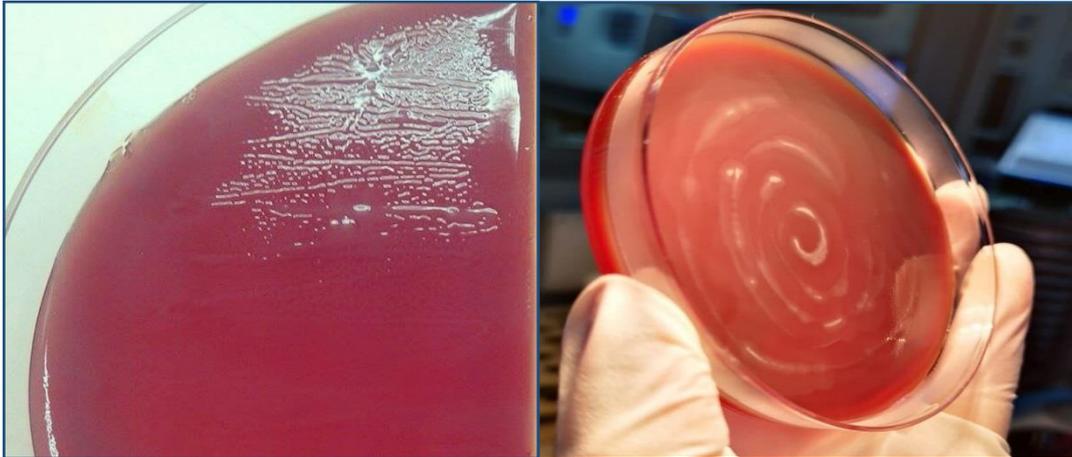


Figure 23 Photographie représentant l'aspect macroscopique des colonies de *Proteus mirabilis* sur gélose au sang frais.

1.2 Appréciation macroscopique des BGNF

1.2.1 *Acinetobacter baumannii*

Les colonies d'*A. baumannii* apparaissent rondes à bords réguliers atteignant 1 à 4 mm de diamètre en 24 heures, convexes avec une allure de contour lisse de couleur blanc-jaunâtre non pigmenté (Figure 24).

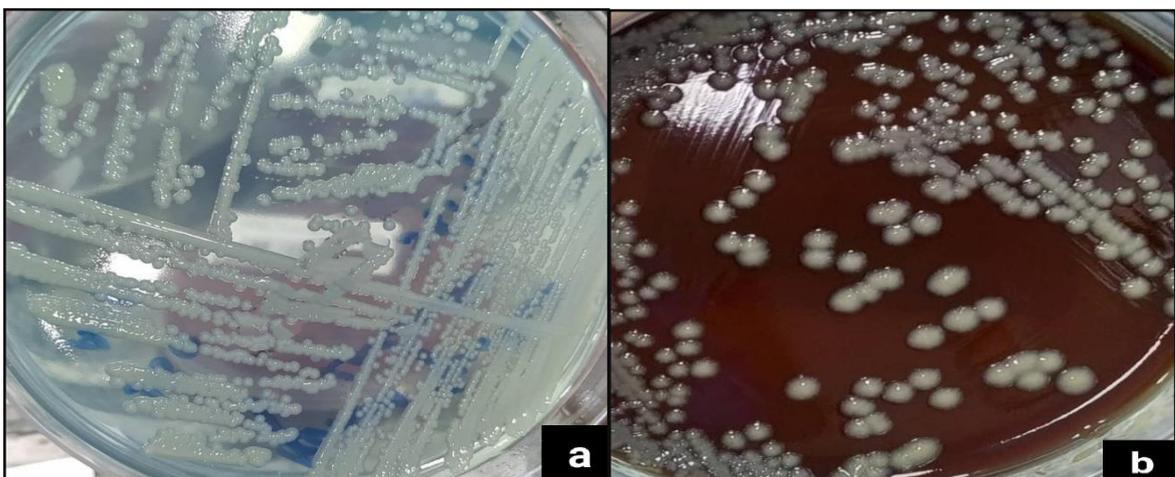


Figure 24 Photographie représentant l'aspect macroscopique des colonies d'*A. baumannii*.
(a) culture sur gélose CLED ; (b) culture sur gélose au sang cuit.

1.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Cette bactérie produit une pigmentation bleu verte (production de pyocyanine), diffusant dans toute la boîte de Pétri, avec une odeur caractéristique de la fleur de « seringa » due à la production d'orthoamino-acétophénone, les colonies isolées sont de grande taille avec un aspect bombé au centre présentant le reflet métallique et au contour irrégulier (colonies larges) (Figure 25).



Figure 25 Photographie représentant l'aspect macroscopique de *P. aeruginosa* sur gélose CLED isolée d'un prélèvement urinaire.

2. Identification biochimique

2.1 Test de l'oxydase

Le test de l'oxydase est négatif pour les entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis*) ainsi que *Acinetobacter baumannii*, contrairement à *Pseudomonas aeruginosa* qui possède l'enzyme cytochrome oxydase (Figure 26).

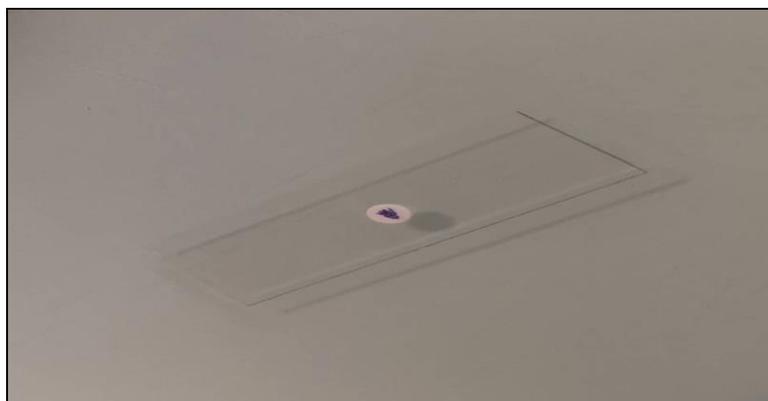


Figure 26 Photographie d'un test d'oxydase positif.

2.2 Test de la catalase

La présence d'une catalase se traduit en quelques secondes par la formation de bulles d'oxygène (Figure 27). Le test de la catalase est positif pour les entérobactéries (*K. pneumoniae*, *E. coli* et *P. mirabilis*) ainsi qu'*A. baumannii* et *P. aeruginosa*.



Figure 27 Photographie représentant un test de catalase positif.

3. Caractéristiques épidémiologiques

3.1 Fréquences des bacilles à Gram négatif

Durant la période de l'étude rétrospective, 653 souches bactériennes appartenant aux bacilles à Gram négatif ont été isolées, la figure 28 et le tableau 3 indiquent une prédominance des entérobactéries avec un pourcentage de 79,48% soit $n = 519/653$ au détriment des bacilles à Gram négatif non fermentaires qui représentent 20,52% du total des souches isolées, soit $134/653$.

Tableau 3. Répartition des bacilles à Gram négatif ($n=653$).

Souches	Effectif	Fréquence (%)
Entérobactéries	519	79,48%
BGNF	134	20,52%

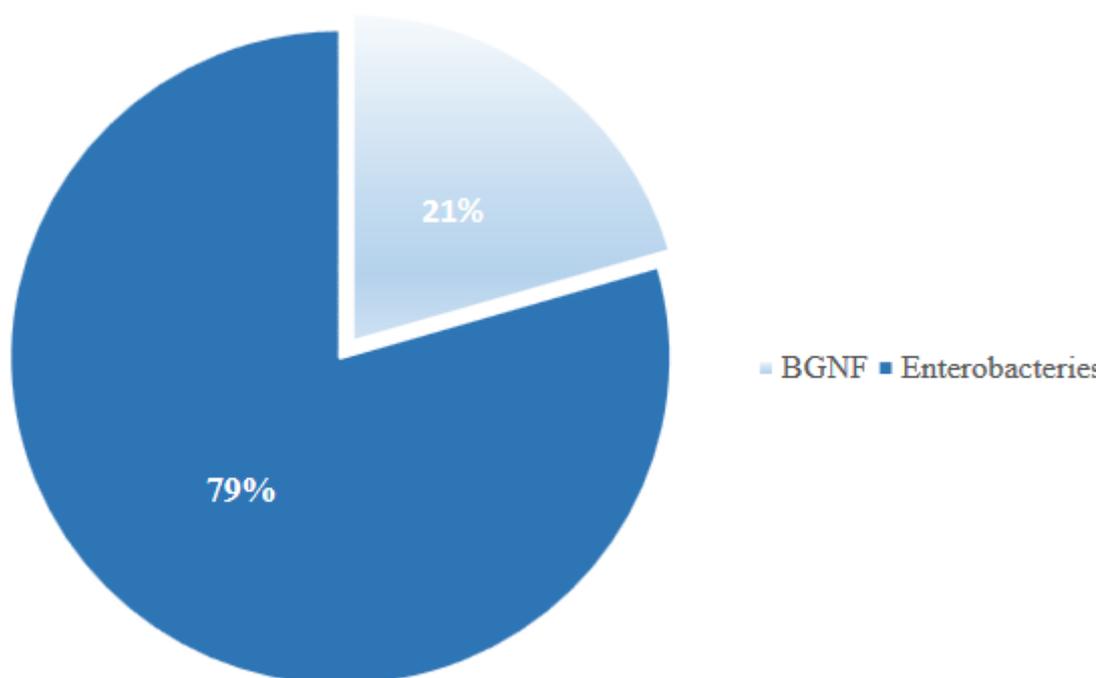


Figure 28 Répartition des bacilles à Gram négatif (n=653).

3.2 Répartition des bacilles à Gram négatif selon les espèces

3.2.1 Répartition des entérobactéries selon les espèces

Sur un total de 519 souches bactériennes appartenant aux entérobactéries, *E. coli* représente 39,11%, suivi de *K. pneumoniae* à raison de 29,09%, *P. vulgaris* parallèlement à *E. faecalis* occupent la troisième position avec un pourcentage égal à 6%, un taux assez faible est signalé chez *P. mirabilis*, *E. cloacae* et *C. junii* qui est de 4%.

Un pourcentage variant entre 0,7% et 3% a été signalé chez *S. marcescens*, *S. liquefaciens*, *M. morgani*, *Shigella sp* et *Salmonella sp* (Tableau 4, figure 29).

Tableau 4 Répartition des espèces appartenant aux entérobactéries.

Souches	Effectif	Fréquence (%)
<i>E. coli</i>	203	39,11%
<i>K. pneumoniae</i>	151	29,09%
<i>Proteus mirabilis</i>	20	3,86%
<i>Proteus vulgaris</i>	33	6,36%
<i>Enterobacter cloacae</i>	23	4,43%
<i>Enterobacter faecalis</i>	29	5,59%
<i>Citrobacter junii</i>	20	3,85%
<i>Serratia marcescens</i>	17	3,28%
<i>Serratia liquefaciens</i>	4	0,77%
<i>Salmonella sp</i>	9	1,73%
<i>Shigella sp</i>	2	0,39%
<i>Morganella morgani</i>	8	1,54%

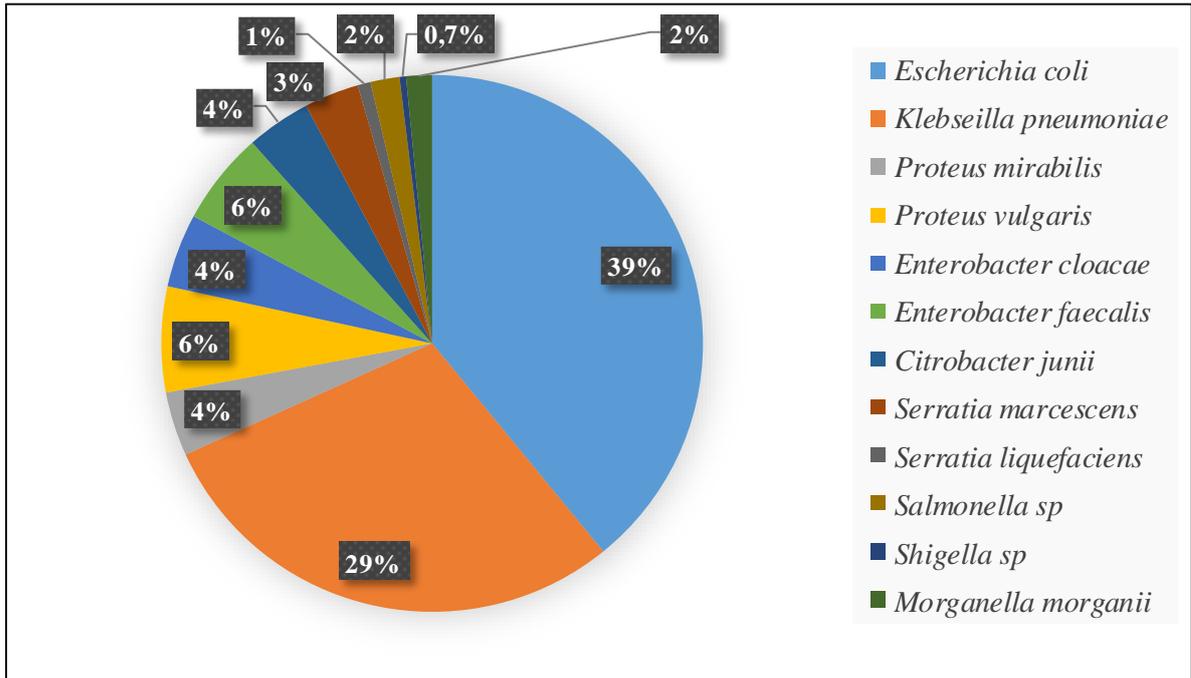


Figure 29 Répartition des espèces appartenant aux entérobactéries (n=519).

3.2.2 Répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires selon les espèces

Le tableau 5 et la figure 30 indiquent que sur un total de 134 souches bactériennes appartenant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires, *P. aeruginosa* atteint 81,34% contrairement à *A. baumannii* qui atteint 18,66%.

Tableau 5 Répartition des espèces appartenant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires.

Souche	Effectif	Fréquence (%)
<i>P. aeruginosa</i>	109	81,34%
<i>A. baumannii</i>	25	18,66%

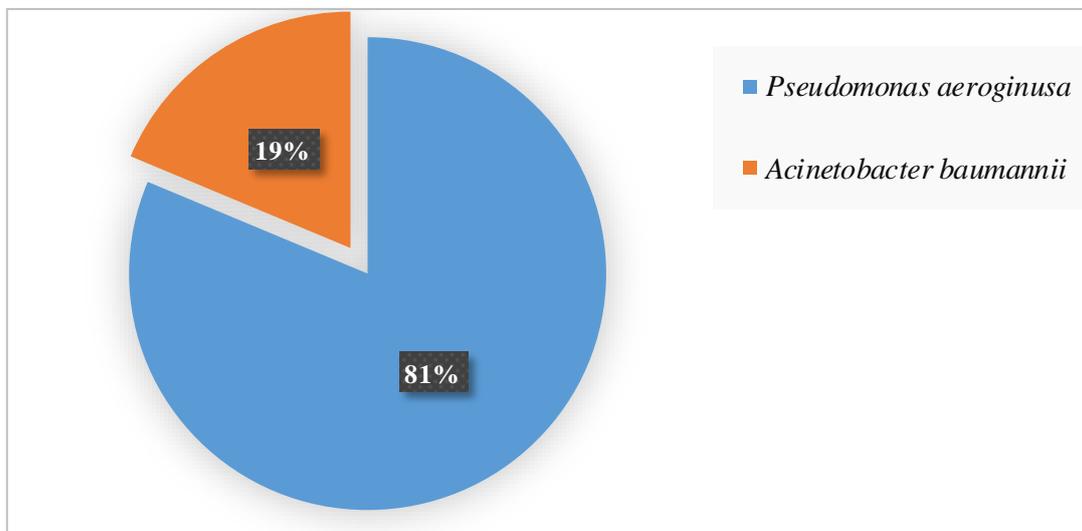


Figure 30 Répartition des espèces appartenant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires (n=134).

3.3 Répartition des bacilles à Gram négatif selon le sexe

3.3.1 Répartition des espèces d'entérobactéries selon le sexe

Sur un total de 519 patients, 39,88% sont des hommes et 60,12% des femmes sont atteints d'entérobactéries, d'où un sexe ratio H/F= 0,66.

Selon le tableau 6 (Figure 31), la répartition des espèces appartenant aux entérobactéries selon le sexe montre que les taux d'infection par *E.coli*, *K. pneumoniae* et *Shigella sp* chez les femmes sont plus élevés que chez les hommes avec des pourcentages de 76,35%, 64,24% et 100% respectivement. Contrairement aux femmes, les hommes sont plus atteints par *Enterobacter sp* (65,38%), *M. morganii* (75%), *C. junii* (55%), *Serratia sp* (67%) et *Salmonella sp* (77,78%).

Tableau 6 Répartition des espèces d'entérobactéries selon le sexe.

	Homme		Femme	
	Effectif	%	Effectif	%
<i>E. coli</i>	48	23,65%	155	76,35%
<i>K. pneumoniae</i>	54	35,76%	97	64,24%
<i>Proteus sp</i>	33	62,26%	20	37,74%
<i>Serratia sp</i>	14	67%	7	33,33%
<i>Enterobacter sp</i>	34	65,38%	18	34,62%
<i>M. morganii</i>	6	75%	2	25%
<i>Shigella sp</i>	0	0%	2	100%
<i>C. junii</i>	11	55%	9	45%
<i>Salmonella sp</i>	7	77,78%	2	22,22%

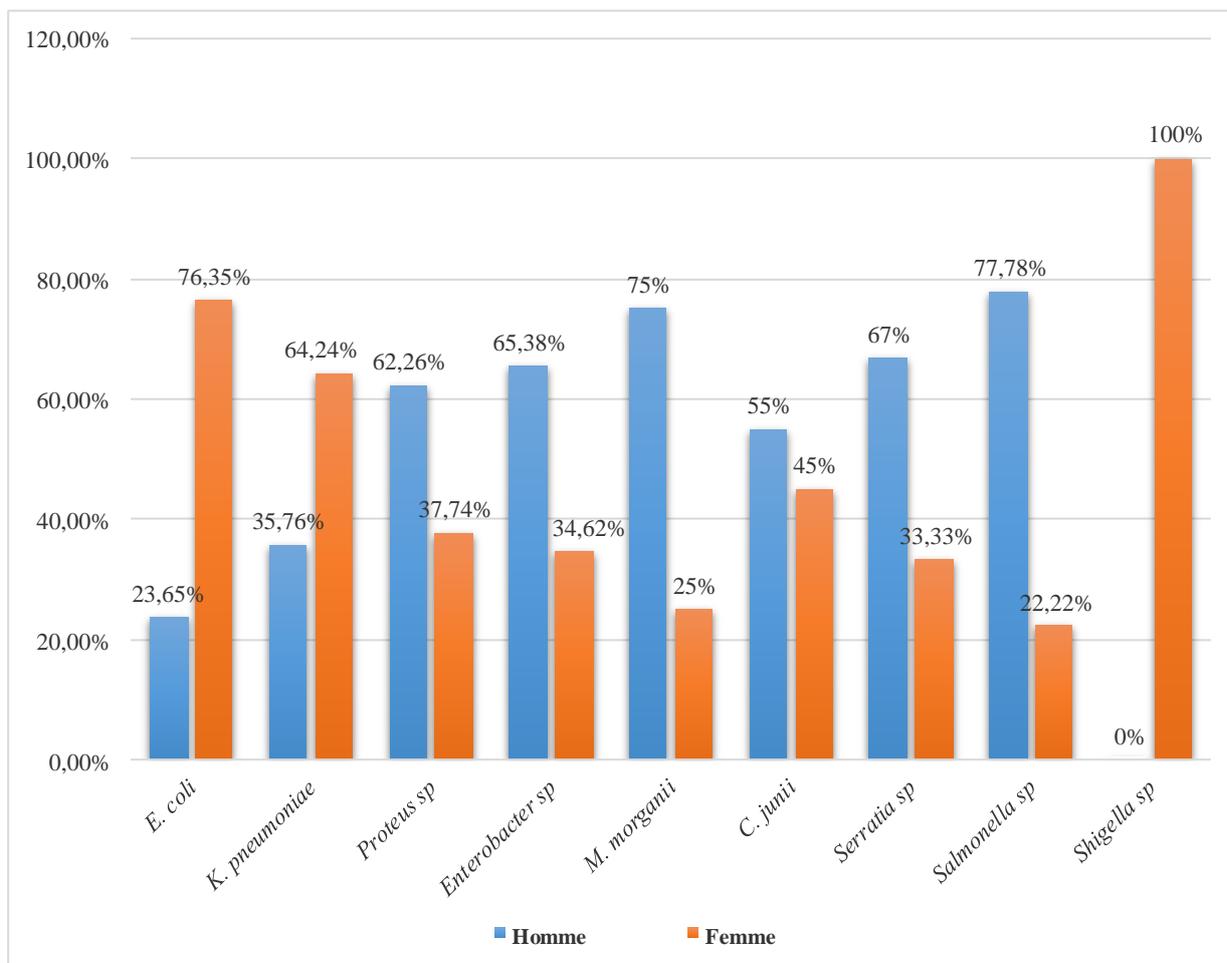


Figure 31 Répartition des espèces d'entérobactéries selon le sexe (n=519).

3.3.2 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon le sexe

Sur un total de 134 patients, 62% des hommes et 38% des femmes sont atteints d'infection causée par les bacilles à Gram négatif non fermentaires (Tableau 7, figure 32).

La répartition des BGNF selon le sexe montre une légère élévation du taux de *P. aeruginosa* chez les hommes avec un pourcentage de 58,72% que chez les femmes, et un taux d'*A. baumannii* de 56% chez les hommes par rapport à 44% chez les femmes.

Tableau 7 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon le sexe.

	Homme		Femme	
	Effectif	%	Effectif	%
<i>P. aeruginosa</i> N= 109	64	58,72%	45	41,28%
<i>A. baumannii</i> N= 25	14	56%	11	44%

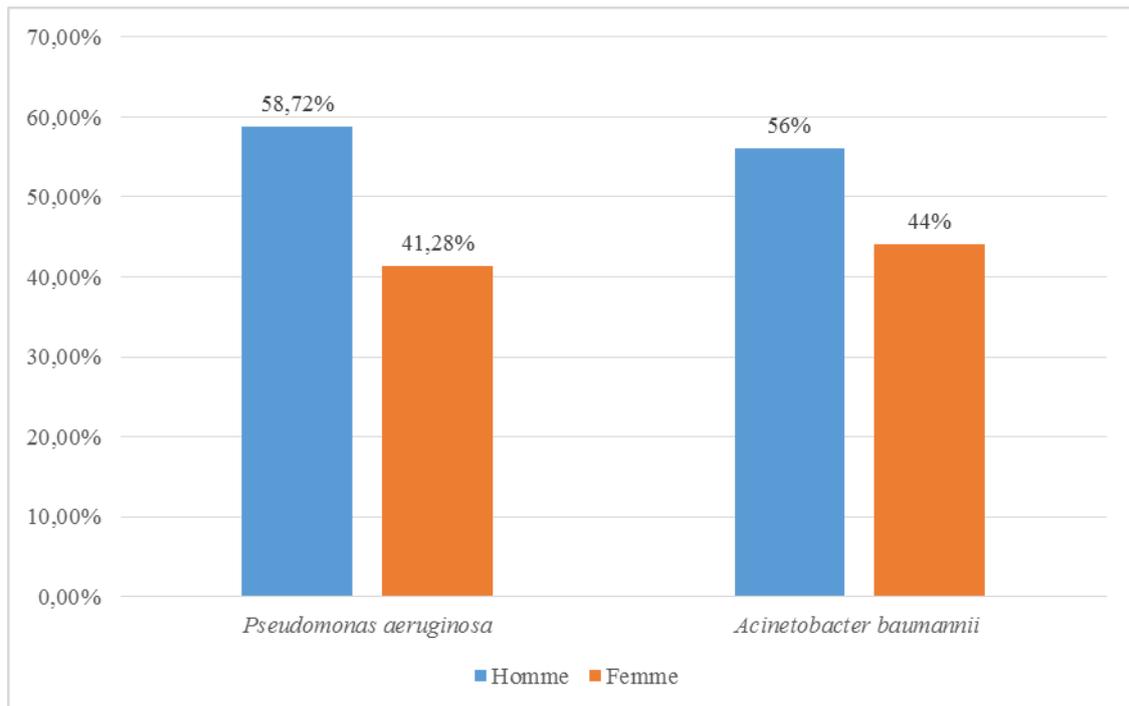


Figure 32 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon le sexe (n=134).

3.4 Répartition des bacilles à Gram négatif selon l'âge

3.4.1 Répartition des espèces d'entérobactéries selon l'âge

La figure 33 (tableau 8) représente la répartition des espèces d'entérobactéries en fonction de l'âge des patients, le taux d'*E. coli* chez le jeune adulte (entre 18-40 ans) a atteint 33,5% suivie des patients plus âgés dont l'âge est compris entre 41-60 ans.

Les enfants dont l'âge ≤ 5 ans et les adolescents (6-17 ans) et les personnes dont l'âge ≥ 61 ans sont moins touchés avec un pourcentage variant entre 11% et 14%.

Les infections à *K. pneumoniae* sont principalement observées chez les adultes (18-60 ans) avec un taux qui varie entre 23,18% et 33,11%. Quant aux adolescents (6-17 ans) et les personnes plus âgées (≥ 61 ans) sont moins atteintes.

L'espèce *Proteus sp* est plus rencontrée chez les plus âgées (≥ 61 ans) avec un taux de 45,28%, ensuite on la retrouve avec un taux variant entre 24,53% et 16,98% chez les adultes.

Serratia sp est plus présente chez les adultes de 18 à 40 ans (61,90%).

Enterbacter sp a atteint 38,46% chez les patients adultes (41-60 ans), suivi par les patients âgés et le jeune enfant avec un taux de 23,08%.

Malgré le faible effectif de *M. morgannii*, *Shigella sp* et *C. junii*, ces espèces sont observées chez l'adulte entre 41-60 ans avec un taux variant entre 35% et 40%.

RÉSULTATS

Salmonella sp est présente chez les plus âgés avec un taux de 44,44%, on la retrouve également chez les jeunes enfants et les adolescents avec un pourcentage de 22,22% chacun.

Tableau 8 Répartition des espèces d'entérobactéries en fonction de l'âge.

	≤ 5ans		6-17ans		18-40ans		41- 60ans		≥ 61ans	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<i>E. coli</i>	23	11,33%	22	10,84%	68	33,5%	60	29,56%	30	14,78%
<i>K. pneumoniae</i>	12	7,945%	24	15,89%	50	33,11%	35	23,18%	30	19,87%
<i>Proteus sp</i>	2	3,77%	5	9,43%	13	24,53%	9	16,98%	24	45,28%
<i>Serratia sp</i>	0	0%	1	4,76%	13	61,9%	4	19,05%	3	14,29%
<i>Enterobacter sp</i>	12	23,08%	10	19,23%	20	38,46%	5	9,62%	5	9,62%
<i>M. morgani</i>	0	0%	1	12,5%	2	25%	4	50	1	12,5%
<i>Shigella sp</i>	0	0%	0	0%	1	50%	1	50	0	0%
<i>C. junii</i>	2	10%	3	15%	8	40%	7	35	0	0%
<i>Salmonella sp</i>	0	0%	2	22,22%	2	22,22%	1	11,11%	4	44,44%

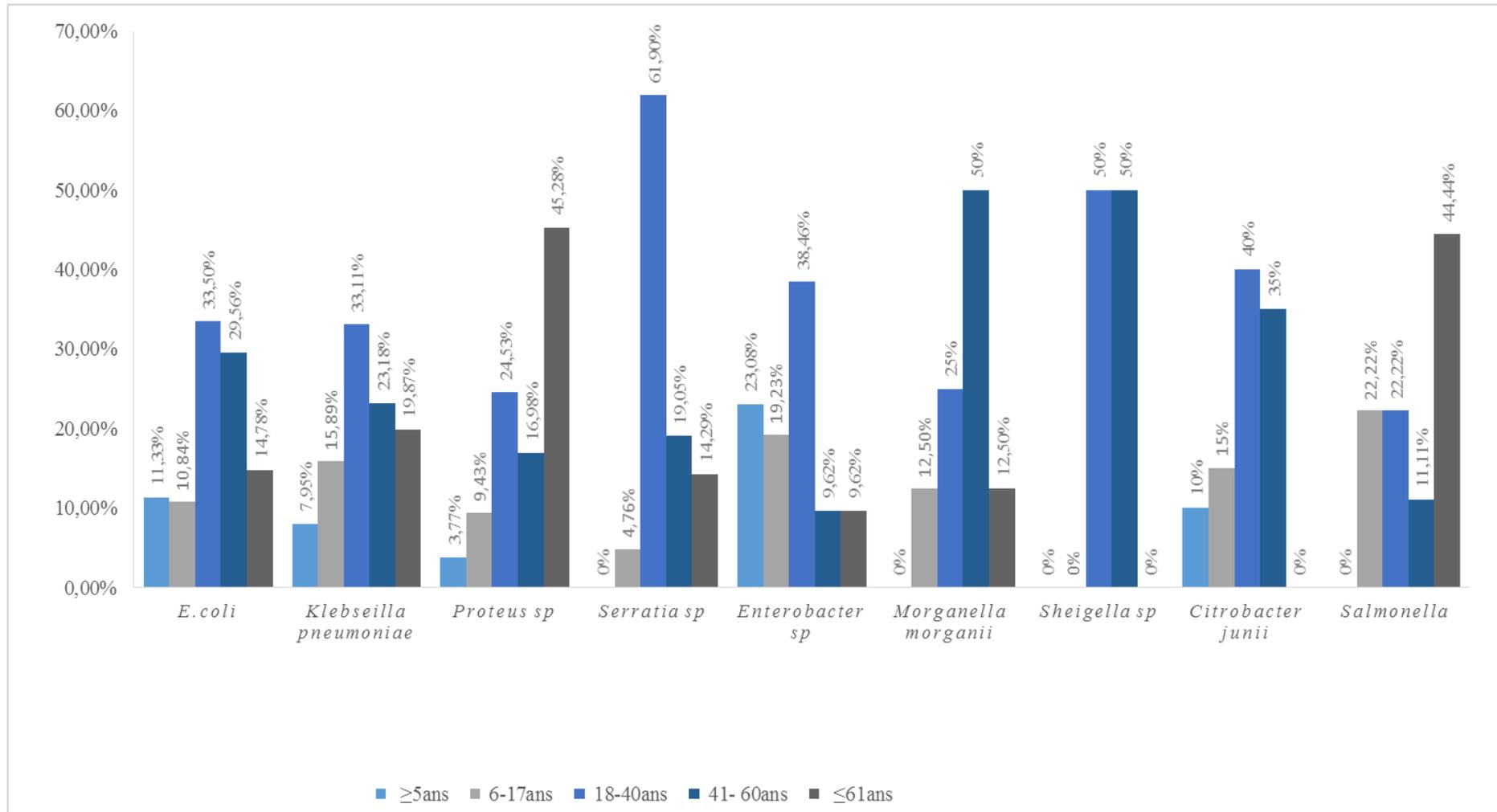


Figure 33 Répartition des espèces d'entérobactéries en fonction de l'âge (n=519).

3.4.2 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon l'âge

Le tableau 9 (Figure 34) indiquent que les patients adultes (41-60 ans) sont les plus touchés par *A. baumannii* (40%), ensuite les adolescents (24%) et les plus âgées (20%).

Les souches de *P. aeruginosa* sont présentes principalement chez les adultes (27,52%) ensuite chez les personnes âgées (41 et 60 ans) avec un pourcentage de 22,94%, les jeunes enfants et les personnes plus âgées sont faiblement atteints.

Tableau 9 Répartition des espèces de BGNF selon l'âge.

	≤ 5ans		6-17ans		18-40ans		41- 60ans		≥ 61ans	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<i>P.aeruginosa</i>	15	13,76%	23	21,10%	30	27,52%	25	22,94%	16	14,68%
<i>A.baumannii</i>	1	4%	6	24%	3	12%	10	40%	5	20%

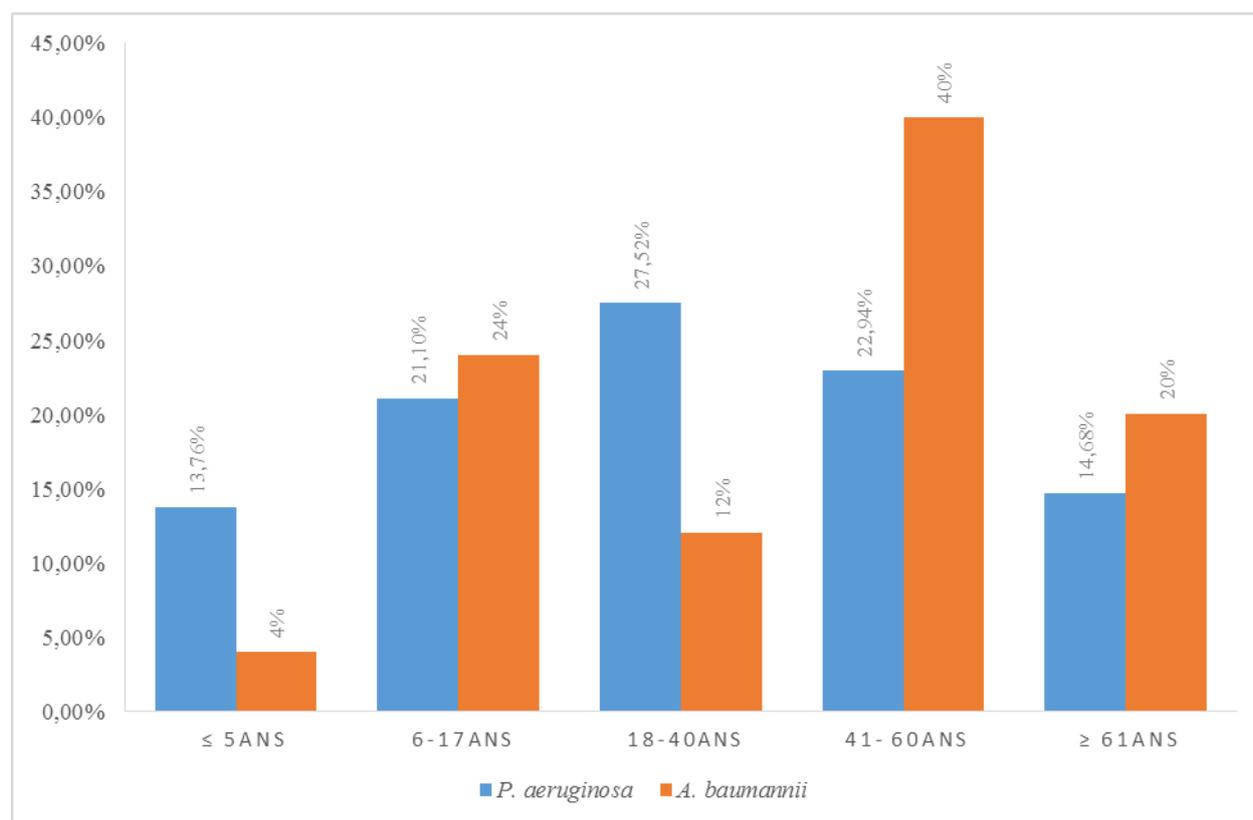


Figure 34 Répartition des espèces bacilles à Gram négatif non fermentaires selon l'âge (n=134).

3.5 Répartition des bacilles à Gram négatif selon la nature du prélèvement

3.5.1 Répartition des espèces d'entérobactéries selon la nature du prélèvement

Les résultats obtenus dans la figure 35, tableau 10 démontrent que le taux des entérobactéries dans les liquides pathologiques et les urines est élevé par rapport aux autres types de prélèvements, cependant, le taux d'*E. coli* est important dans le pus (37,44%) et les urines (36,45%), *K. pneumoniae* est également répondeuse dans le pus et les urines avec un pourcentage de 26,49% et 55,63% respectivement.

Le taux de *Serratia sp* dans les urines a atteint 57,14%, elle est moins fréquente dans le pus et moins isolée des patients sondés, quant aux souches de *M. morgannii*, *C. junii* et *Salmonella sp* elles sont plus abondantes dans le pus avec un pourcentage de 62,50%, 80% et 100% respectivement.

Deux souches de *Shigella sp* isolées dans notre étude ont été retrouvées uniquement dans les urines (100%).

Tableau 10 Répartition des espèces d'entérobactéries selon la nature du prélèvement.

	Urine		Sonde urinaire		Pus		Autres	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<i>E. coli</i>	74	36,45%	25	12,32%	76	37,44%	28	13,79%
<i>K. pneumoniae</i>	84	55,63%	11	7,28%	40	26,49%	16	10,60%
<i>Proteus sp</i>	8	15,09%	1	1,89%	39	73,58%	5	9,43%
<i>Serratia sp</i>	12	57,14%	0	0%	1	4,76%	8	38,10%
<i>Enterobacter sp</i>	21	40,38%	0	0%	30	57,69%	1	1,92%
<i>M. morgannii</i>	3	37,50%	0	0%	5	62,5%	0	0%
<i>Shigella sp</i>	2	100%	0	0%	0	0%	0	0%
<i>C. junii</i>	1	5%	1	5%	16	80%	2	10%
<i>Salmonella sp</i>	0	0%	0	0%	9	100%	0	0%

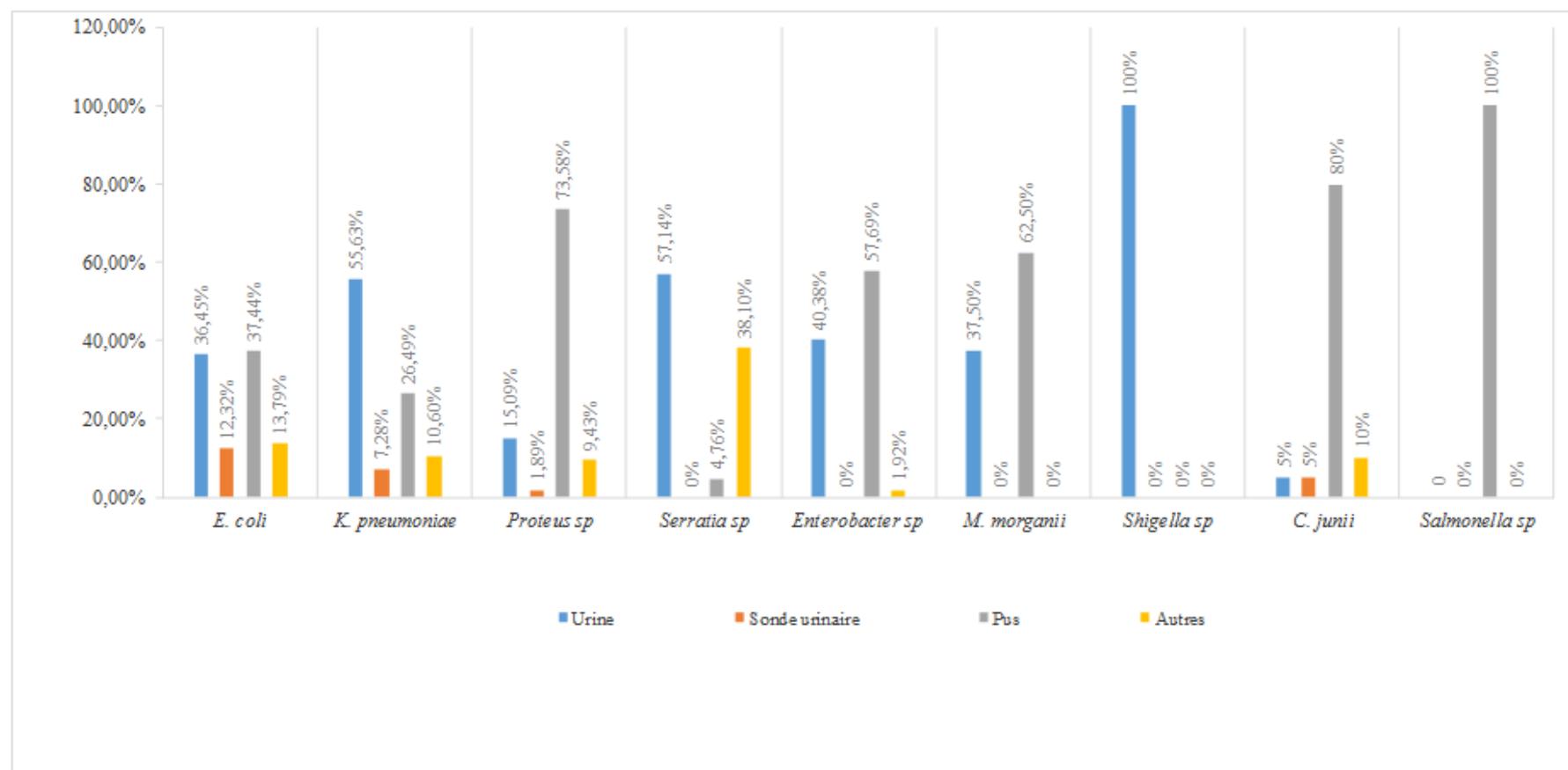


Figure 35 Répartition des espèces d'entérobactéries selon la nature du prélèvement (n=519).

3.5.2 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon la nature du prélèvement

Sur un total de 134 prélèvements positifs aux BGNF, le pourcentage d'*A. baumannii* (52,94%) dans les urines est plus élevé que celui de *P. aeruginosa* (20%), contrairement au pus où nous remarquons un taux assez élevé de *P. aeruginosa* 75,71% contre 41,18%.

chez *A. baumannii*, le pourcentage des deux espèces enregistrées dans les sondes urinaires est assez faible. La figure 36 et le tableau 11 représentent les résultats obtenus :

Tableau 11 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon la nature du prélèvement.

	Urine		Sonde urinaire		Pus	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<i>P. aeruginosa</i>	14	20%	3	4,29%	53	75,71%
<i>A. baumannii</i>	9	52,94%	1	5,88%	7	41,18%

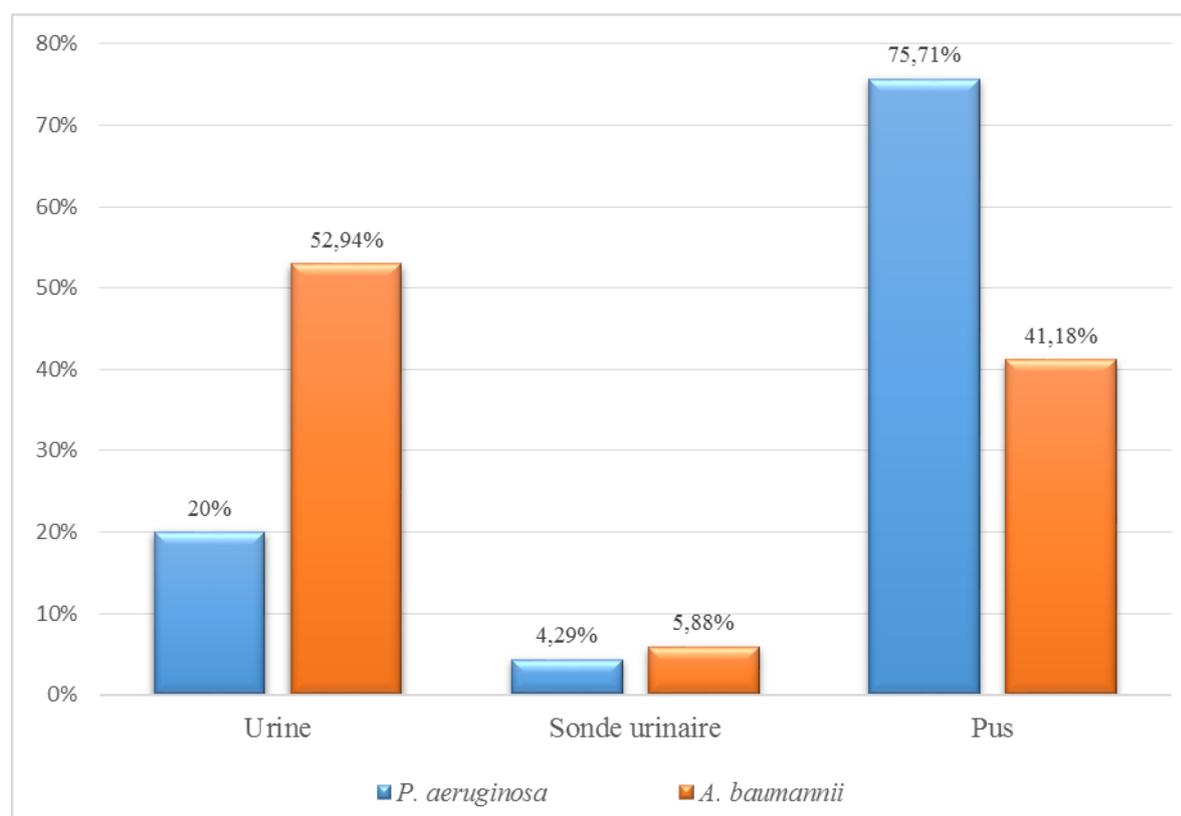


Figure 36 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon de la nature du prélèvement (n=134).

3.6 Répartition des bacilles à Gram négatif selon les services

3.6.1 Répartition des espèces d'entérobactéries selon les services

D'après nos données, les services ayant une forte diversité bactérienne sont : la médecine interne, l'urologie, la chirurgie, par conséquent le reste des services ayant un faible pourcentage de bacilles à Gram négatif a été rassemblé.

Les entérobactéries représentées dans l'histogramme ci-dessous (Tableau 12, figure37) sont les plus rencontrées au cours de la période d'étude. Cette répartition varie en fonction des services, nous constatons une prédominance d'*E. coli* dans le service d'urologie (64,97%), les autres services rassemblés ont affichés 29,30% de ce germe, suivis par la médecine interne (14,65%) et le plus faible pourcentage est signalé chez les patients externe (7,64%).

K. pneumoniae occupe la deuxième position avec un pourcentage de 64,24% en urologie et 15,23% chez les patients externes, un faible pourcentage est signalé dans le reste des services étudiés, variant entre 5% et 8%

Enterobacter sp occupe la troisième position avec un pourcentage de 53,85% dans le service d'urologie, les autres services rassemblés ont signalé un pourcentage de 25%, suivi des patients externes 11,54%, alors que 7,96% en médecine interne et 1,92% en chirurgie générale.

Serratia sp occupe la quatrième position avec un pourcentage de 47,62% en urologie et 33,33% chez les patients externes, le reste des services étudiés est faiblement atteint.

Graphiquement, le fort pourcentage signalé chez *Shigella sp*, *Salmonella sp* et *M. morganii* est dû au faible nombre des souches qui varie entre 1 et 9 souches bactériennes sur un total de 519 entérobactéries.

Tableau 12 Répartition des espèces d'entérobactéries selon les services.

	Médecine interne		Urologie		Chirurgie générale		Externe		Autres	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<i>E. coli</i>	23	14,65%	102	64,97%	20	12,74%	12	7,64%	46	29,30%
<i>K. pneumoniae</i>	10	6,62%	97	64,24%	8	5,30%	23	15,23%	13	8,61%
<i>Proteus sp</i>	5	9,43%	19	35,85%	6	11,32%	2	3,77%	21	39,62%
<i>Serratia sp</i>	2	9,52%	10	47,62%	0	0%	7	33,33%	2	9,52%
<i>Enterobacter sp</i>	4	7,69%	28	53,85%	1	1,92%	6	11,54%	13	25%
<i>M. morgani</i>	3	37,5%	1	12,5%	0	0%	2	25%	2	25%
<i>Shigella sp</i>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	2	100%
<i>C. junii</i>	1	5%	16	80%	0	0%	1	5%	2	10%
<i>Salmonella sp</i>	8	88,89%	0	0%	0	0%	0	0%	1	11,11%

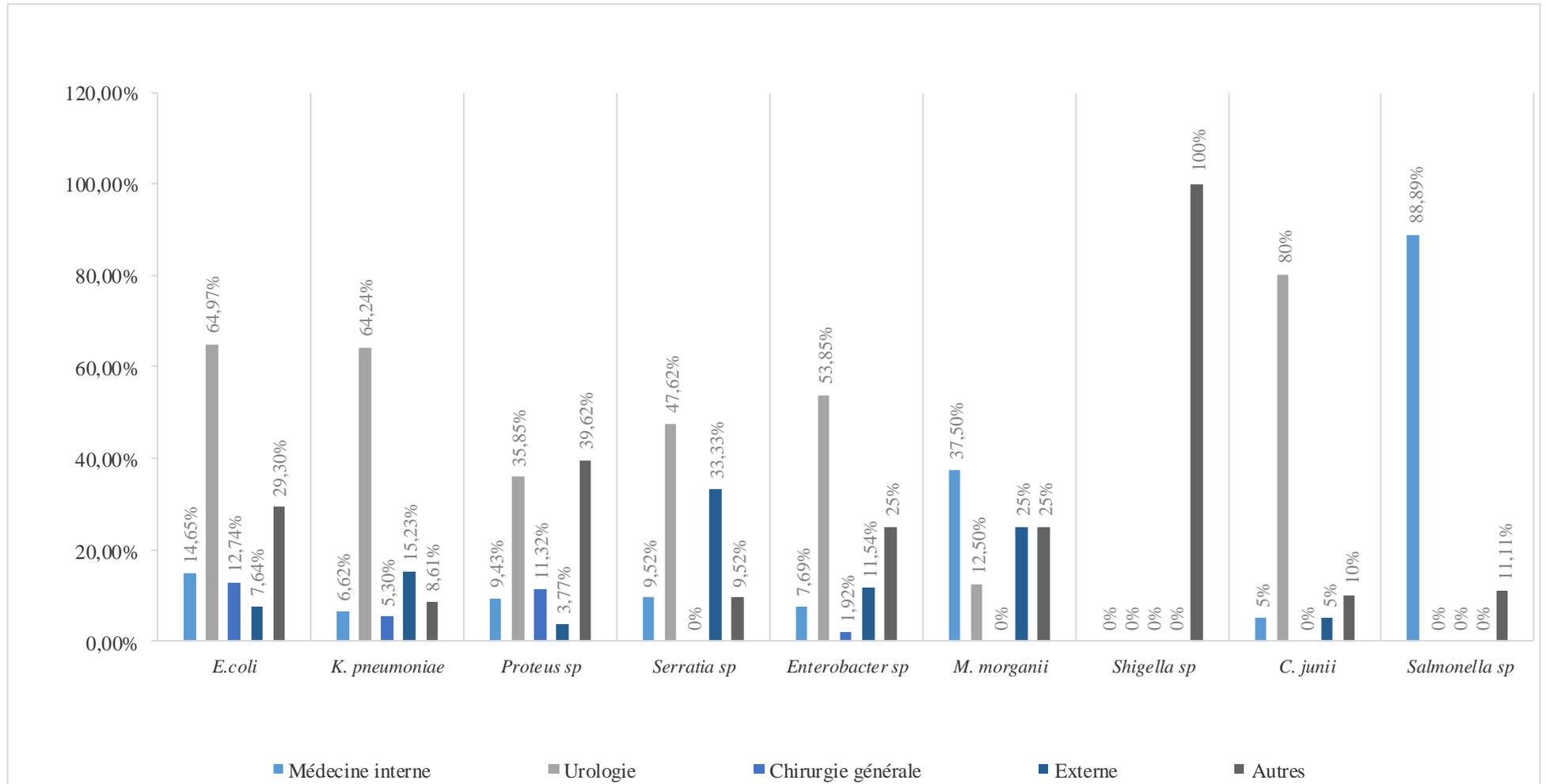


Figure 37 Répartition des espèces d'entérobactéries selon les services (n=519).

3.6.2 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon les services

Le tableau 13 et la figure 38 montrent que le service de réanimation et le service de médecine interne sont les plus touchés par *A. baumannii* avec un pourcentage de 40% et 28% respectivement suivi du service de pédiatrie (16%) et d'orthopédie (8%). Le service d'urologie, de la chirurgie générale et les autres services sont faiblement touchés avec un pourcentage variant entre 0% et 4%.

Les services de pédiatrie, malades externes, urologie et orthopédie ont signalé la présence de *P. aeruginosa* avec un pourcentage respectivement de 18,35%, 15,6% et 14,68% chacun, les autres services sont faiblement atteints avec un pourcentage variant entre 6% et 8%.

Tableau 13 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon les services (n=134).

	Médecine interne		Pédiatrie		Urologie		Réanimation		Chirurgie générale		Orthopédie		Externe		Autres	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<i>P. aeruginosa</i>	9	8,26%	20	18,35%	16	14,68%	9	8,26%	15	13,76%	16	14,68%	17	15,6%	7	6,4%
<i>A. baumannii</i>	7	28%	4	16%	1	4%	10	40%	0	0%	2	8%	0	0%	1	4%

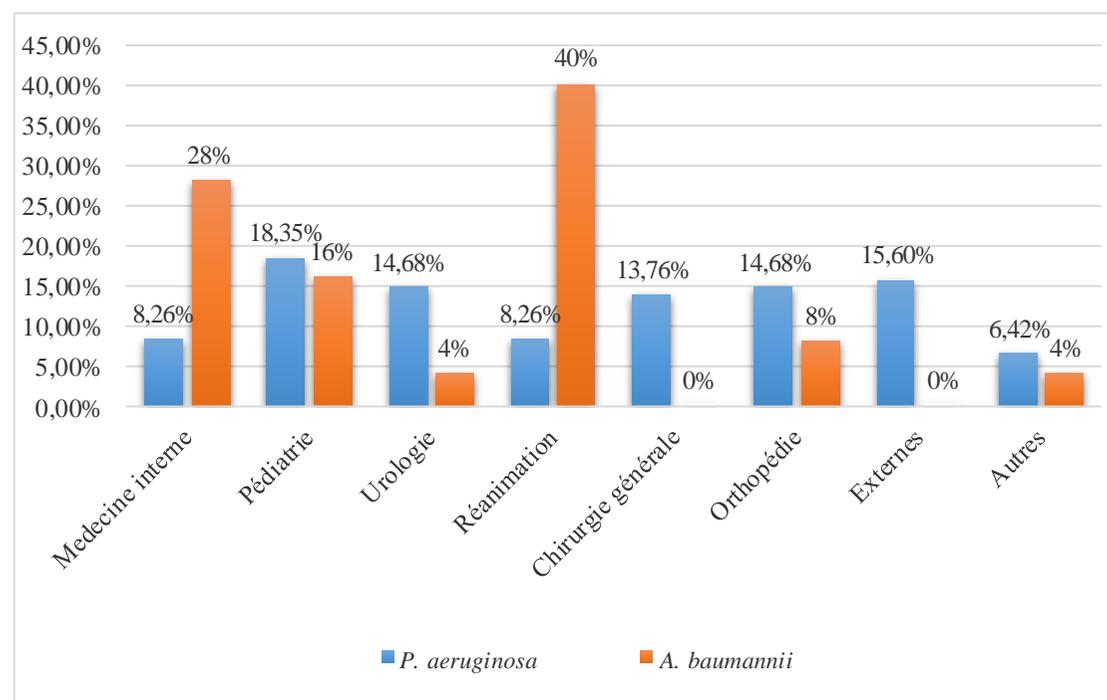


Figure 38 Répartition des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires selon les services (n=134).

4. Profil de résistance aux antibiotiques

4.1 Profil de résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries

4.1.1 Résistance aux antibiotiques d' *E.coli*

Parmi les 203 souches d'*E. coli*, les taux de résistance sont plus importants. Nous remarquons d'après la figure 39 que pour les bêta-lactamines précisément les pénicillines, les taux de résistance à la pipéracilline, ticarcilline, ampicilline, amoxicilline et amoxicilline-acide clavulanique ont atteint 92%, 90%, 90%, 88% et 50% respectivement.

Concernant les céphalosporines, C1G, C2G et C3G sont toutes touchées par la résistance : céfazoline (46%), céfoxitine (22%) et ceftriaxone (18%)

Tous les autres antibiotiques sont touchés par la résistance mais avec des taux plus bas, même l'imipénème (1%) et la colistine (1%) (Tableau 14, figure 39).

Tableau 14 Profil de résistance d'*E. coli*

Famille	ATB	Effectif N = 203	Fréquence
Pénicillines	AMP	183	90%
	AMX	179	88%
	AMC	102	50%
	TIC	183	90%
	PRL	187	92%
Céphalosporines	KZ	94	46%
	CF	61	30%
	FOX	45	22%
	CTX	37	18%
	CRO	37	18%
Carbapénèmes	IMP	2	1%
Aminosides	AK	21	10%
	GN	33	16%
	NM	21	10%
Quinolones	AN	31	15%
	NOR	21	10%
	OFX	45	22%
	CIP	49	24%
Autres	CT	2	1%
	TMP	71	35%
	FOS	2	1%
	C	2	1%

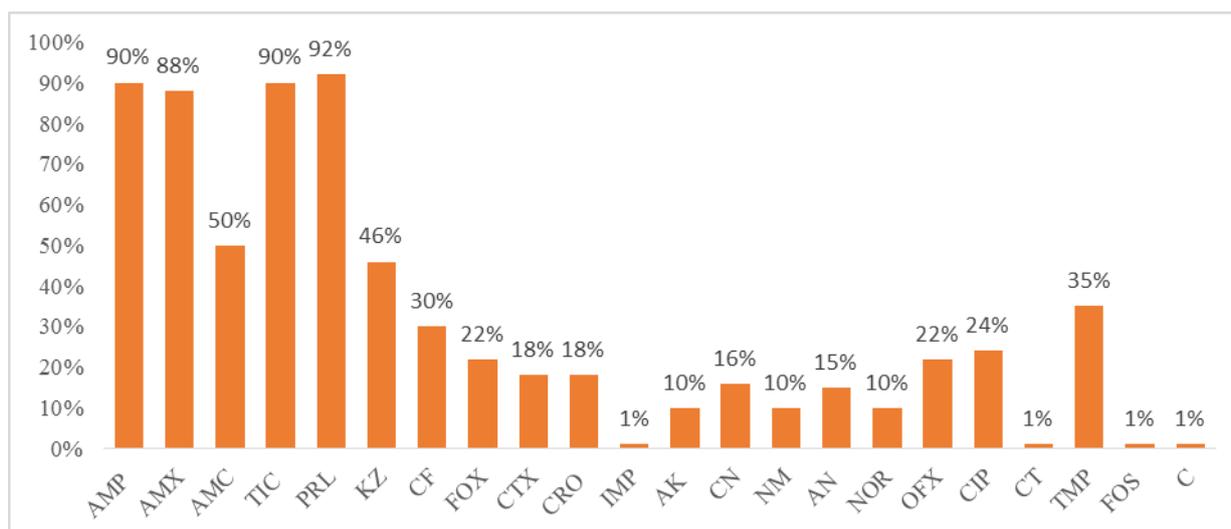


Figure 39 Profil de résistance d'*E. coli*

4.1.2 Résistance aux antibiotiques de *K. pneumoniae*

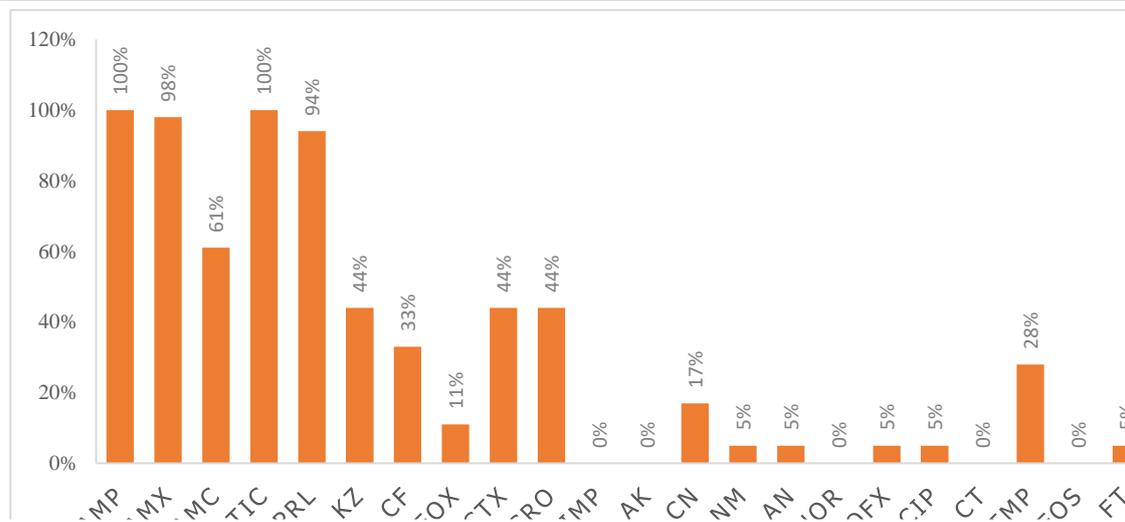
Des taux de résistance élevés sont observés pour les pénicillines : 100% de résistance concernant l'ampicilline et la ticarcilline, 98% pour l'amoxicilline et 94% pour la pipéracilline.

Les autres taux sont plus bas ou un pourcentage de résistance de 44% est observé pour les céphalosporines de 3^{ème} génération : céfotaxime et ceftriaxone et 28% pour le cotrimoxazole (Tableau 15, figure 40).

Aucune souche n'est résistante à l'imipénème ni à la colistine.

Tableau 15 Profil de résistance de *K. pneumoniae*

Famille	ATB	Effectif N =151	Fréquence
Pénicillines	AMP	151	100%
	AMX	148	98%
	AMC	92	61%
	TIC	151	100%
	PRL	142	94%
Céphalosporines	KZ	67	44%
	CF	50	33%
	FOX	17	11%
	CTX	67	44%
	CRO	67	44%
Carbapénèmes	IMP	0	0%
Aminosides	AK	0	0%
	GN	26	17%
	NM	8	5%
Quinolones	AN	8	5%
	NOR	0	0%
	OFX	8	5%
	CIP	8	5%
Autres	CT	0	0%
	TMP	42	28%
	FOS	0	0%
	FT	8	5%
	C	0	0%

Figure 40 Profil de résistance de *K. pneumoniae*.

4.1.3 Résistance aux antibiotiques d'*Enterobacter sp*

52 souches d'*Enterobacter sp.* ont été testées aux antibiotiques.

Concernant les bêtalactamines, le genre *Enterobacter* affiche des taux de résistance très élevés aux pénicillines : 96,15% pour l'ampicilline, l'amoxicilline et l'association amoxicilline-acide clavulanique, il présente dans notre étude 25% de résistance à la ticarcilline et à la pipéracilline. Quant aux céphalosporines 96%, 15% des souches sont résistantes à la céfazoline et 25% des souches sont résistantes au céfotaxime et ceftriaxone, aucune souche n'est résistante à l'imipénème (Tableau 16, figure 41).

Concernant les autres antibiotiques :

- 25% de souches résistaient à la nétilmicine et aucune aux autres aminosides.
- 25% des souches également sont résistantes aux fluoroquinolones comme la ciprofloxacine.
- Nos souches affichaient 25% de résistance au triméthoprim et à la colistine.

Tableau 16 Profil de résistance d'*Enterobacter sp.*

Famille	ATB	Effectif N = 52	Fréquence
Pénicillines	AMP	50	96,15%
	AMX	50	96,15%
	AMC	50	96,15%
	TIC	13	25%
	PRL	13	25%
Céphalosporines	KZ	50	96,15%
	CF	25	50%
	FOX	0	0%
	CTX	13	25%
	CRO	13	25%
Carbapénèmes	IMP	0	0%
Aminosides	AK	0	0%
	GN	0	0%
	NM	13	25%
Quinolones	AN	13	25%
	NOR	0	0%
	OFX	13	25%
	CIP	13	25%
Autres	CT	13	25%
	TMP	13	25%

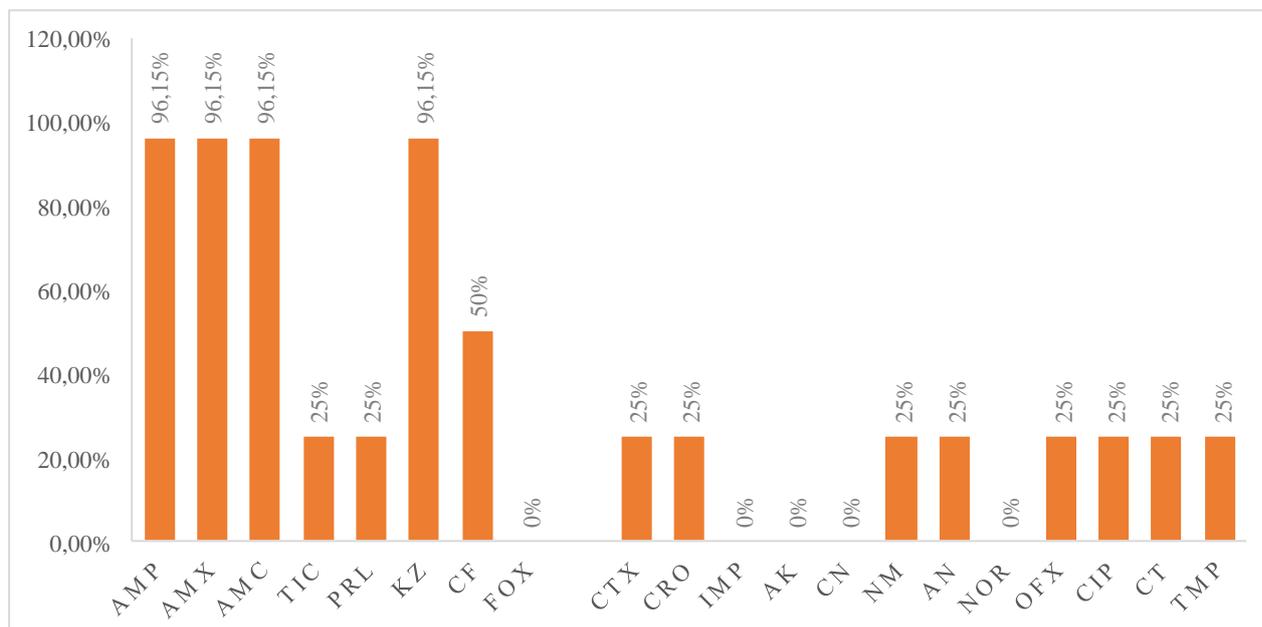


Figure 41 Profil de résistance d'*Enterobacter sp.*

4.1.4 Résistance *sp* aux antibiotiques de *Citrobacter sp*

Parmi nos souches de *Citrobacter sp* (20 souches), 100 % des souches résistantes aux pénicillines sauf la ticarcilline et la pipéracilline qui restent actives. Aucune souche n'est résistante à l'imipénème ni à la colistine (Tableau 17, figure 42).

Toutes les souches sont résistantes à la céfazoline, par ailleurs, aucune souche ne présente de résistance aux autres antibiotiques., sauf pour la kanamycine (100%).

Tableau 17 Profil de résistance de *Citrobacter sp.*

Famille	ATB	Effectif N= 20	Fréquence
Pénicillines	AMP	20	100%
	AMX	20	100%
	AMC	20	100%
	TIC	0	0%
	PRL	0	0%
Céphalosporines	KZ	20	100%
	CF	0	0%
	FOX	0	0%
	CTX	0	0%
	CRO	0	0%
Carbapénèmes	IMP	0	0%
Aminosides	AK	20	100%
	GN	0	0%
	NM	0	0%
Quinolones	AN	0	0%
	NOR	0	0%
	OFX	0	0%
	CIP	0	0%
Autres	CT	0	0%
	TMP	0	0%

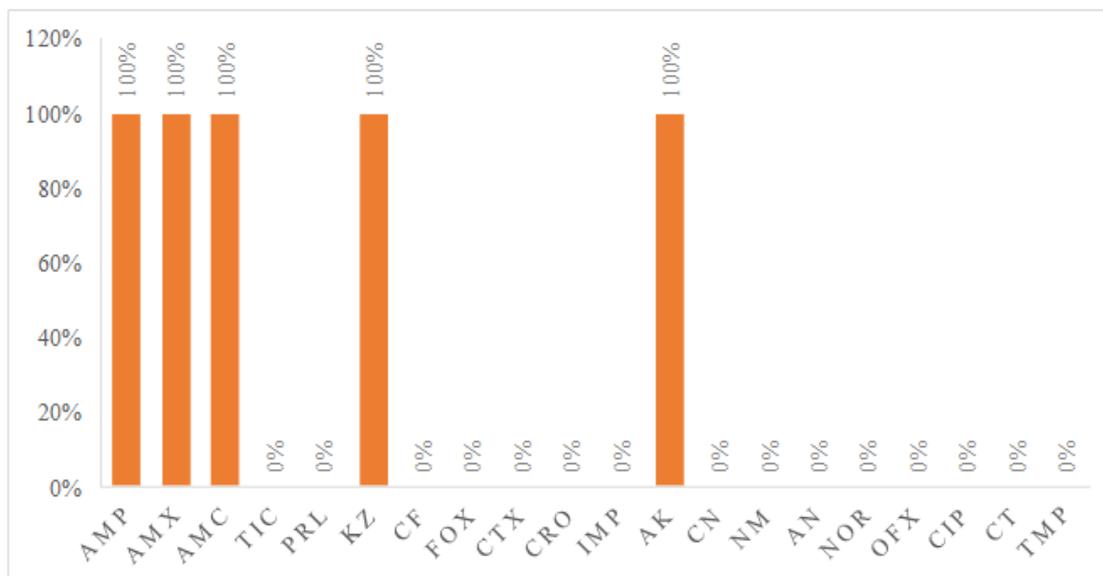


Figure 42 Profil de résistance de *Citrobacter sp*

4.1.5 Résistance aux antibiotiques de *Serratia sp*

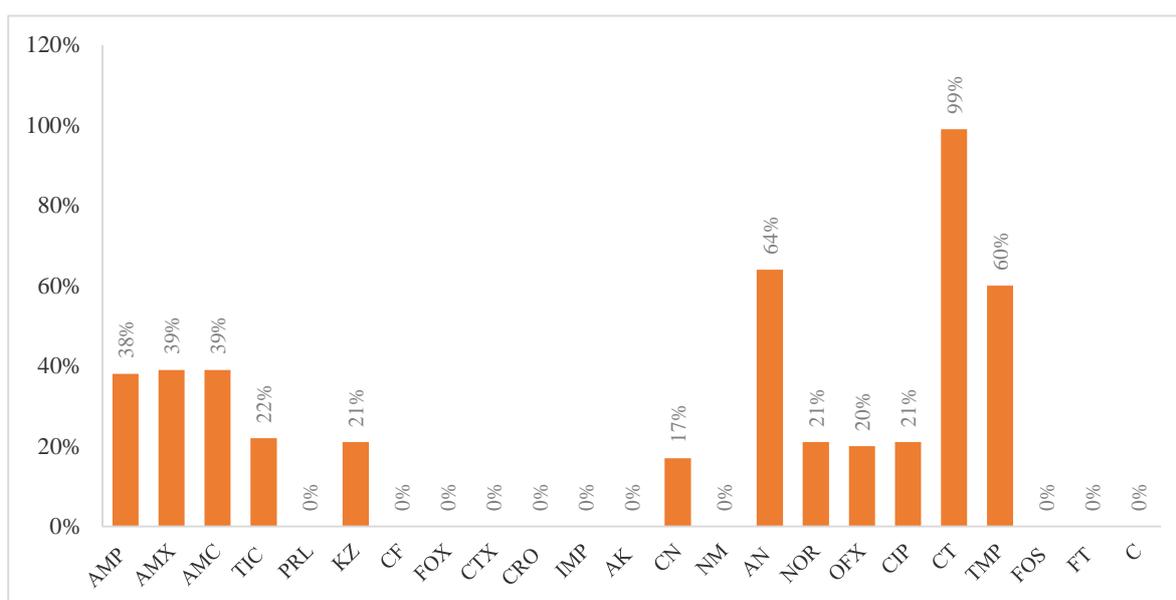
Nos souches de *Serratia sp* sont plus sensibles, sauf pour les l'amikacine (64%), le triméthoprimes sulfaméthoxazole (60%) et surtout la colistine (99%).

Les pourcentages concernant les pénicillines sont plus bas. Aucune souche n'est résistante aux céphalosporines sauf la céfazoline (22%). Aucune souche n'est résistante à l'imipénème (Tableau 18, figure 43).

Quant aux autres antibiotiques surtout les fluoroquinolones, ils restent actifs.

Tableau 18 Profil de résistance de *Serratia sp.*

Famille	ATB	Effectif N=21	Fréquence
Pénicillines	AMP	8	39%
	AMX	8	39%
	AMC	8	39%
	TIC	5	22%
	PRL	0	0%
Céphalosporines	KZ	5	22%
	CF	0	0%
	FOX	0	0%
	CTX	0	0%
	CRO	0	0%
Carbapénèmes	IMP	0	0%
Aminosides	AK	0	0%
	GN	4	17%
	NM	0	0%
Quinolones	AN	14	64%
	NOR	5	22%
	OFX	4	20%
	CIP	5	22%
Autres	CT	20	99%
	TMP	13	60%
	FOS	0	0%
	FT	0	0%
	C	0	0%

Figure 43. Profil de résistance de *Serratia sp.*

4.1.6 Résistance aux antibiotiques de *Proteus sp*

Les souches de *Proteus sp* (53 souches) ne présentent pas de résistance à tous les antibiotiques, des taux de résistance relativement bas pour les pénicillines (39%) et aucune souche n'est résistante aux céphalosporines (sauf pour la céfazoline 21%).

Les taux de résistance les plus élevés concernent le cotrimoxazole (60%) et les aminosides (amikacine 64%) (Tableau 19, figure 44).

Tableau 19 Profil de résistance de *Proteus sp*

Famille	ATB	Effectif N =53	Fréquence
Pénicillines	AMP	20	38%
	AMX	21	39%
	AMC	21	39%
	TIC	12	22%
	PRL	0	0%
Céphalosporines	KZ	11	21%
	CF	0	0%
	FOX	0	0%
	CTX	0	0%
	CRO	0	0%
Carbapénèmes	IMP	0	0%
Aminosides	AK	0	0%
	GN	9	17%
	NM	0	0%
Quinolones	AN	34	64%
	NOR	12	21%
	OFX	11	20%
	CIP	12	21%
Autres	CT	3	6%
	TMP	32	60%
	FOS	0	0%
	FT	0	0%
	C	0	0%

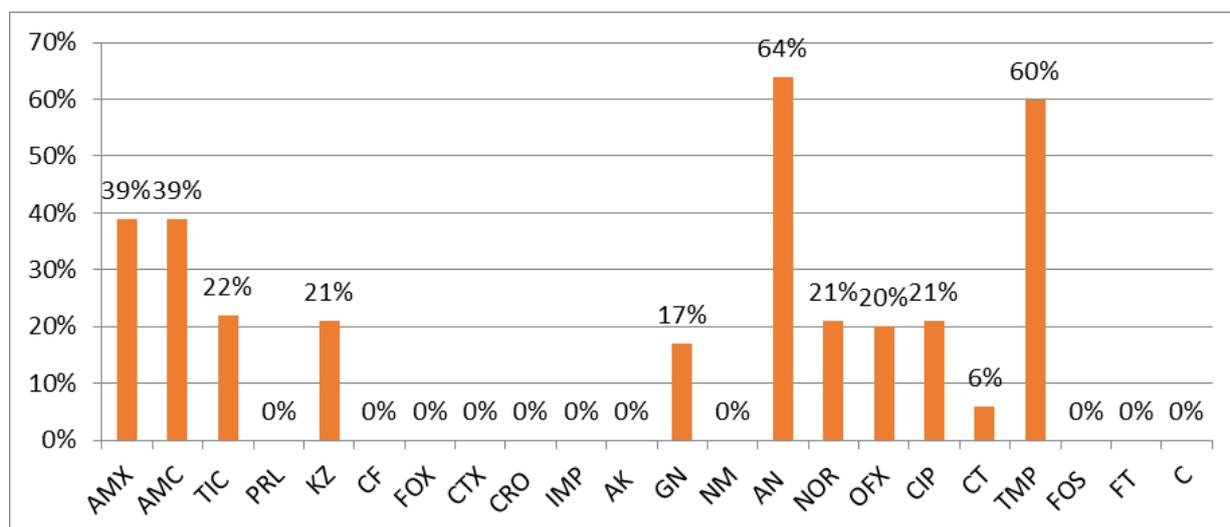


Figure 44 Profil de résistance de *Proteus sp.*

4.2 Profil de résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif non fermentaires

4.2.1 Résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa*

Concernant les bêta-lactamines et pour les pénicillines, des taux de résistance élevés sont remarqués, 76,15% pour les ticarcilline, 75,23% pour la ticarcilline- acide clavulanique, la pipéracilline et l'association pipéracilline- acide clavulanique respectivement.

Nos souches sont également résistantes à l'aztréonam (44,03%) et aux carbapénèmes, imipénème et méropénème (44,03% chacun) (Tableau 20, figure 45).

Les taux de résistance aux aminosides sont élevés comme pour la gentamicine et la tobramycine (77,06% et 71,56% respectivement).

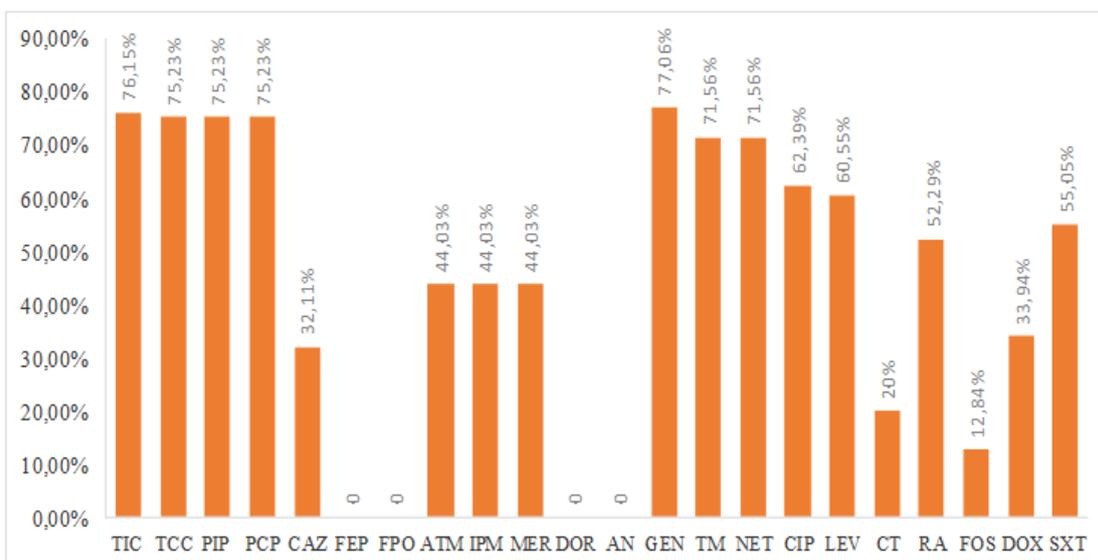
Des taux de résistance assez élevés sont remarqués concernant les fluoroquinolones (62,39% pour la ciprofloxacine et 60,55% pour la lévofloxacine).

Concernant les autres résistances, nos souches affichent 55,05% de résistance au triméthoprime-sulfaméthoxazole, 52,29% pour la rifampicine et 33,94% pour les cyclines.

Le fait alarmant est la résistance à la colistine dont le taux a atteint 20% dans notre étude.

Tableau 20 Profil de résistance de *P. aeruginosa*

Famille	Antibiotique	Effectif N = 109	Fréquence
Pénicillines	TIC	83	76,15%
	TCC	82	75,23%
	PIP	82	75,23%
	PCP	82	75,23%
Céphalosporines	CAZ	35	32,11%
	FEP	/	/
	FPO	/	/
Monobactames	ATM	48	44,03%
Carbapénèmes	IPM	48	44,03%
	MER	48	44,03%
	DOR	/	/
Aminosides	AN	/	/
	GEN	84	77,06%
	TM	78	71,56%
	NET	78	71,56%
Quinolones	CIP	68	62,39%
	LEV	66	60,55%
Autres	CT	22	20%
	RA	57	52,29%
	FOS	14	12,84%
	DOX	37	33,94%
	SXT	60	55,05%

Figure 45 Profil de résistance de *P. aeruginosa*

4.2.2 Résistance aux antibiotiques de *A. baumannii*

Les taux de résistance de *A. baumannii* sont plus élevés.

Concernant les bêtalactamines, le taux de résistance aux pénicillines est de 96% pour l'association Ticarcilline- Acide clavulanique, 92% pour la ticarcilline et la piperacilline.

Pour les céphalosporines, 92% des souches résistent à la céftazidime, céfépime et céfpirome.

D'un autre coté, 60% des souches résistent à l'aztréonam (Tableau 21, figure 46).

Les taux de résistance vis-à-vis des carbapénèmes sont plus bas : 64% pour l'imipénème et 60% pour le méropénème.

Concernant les aminosides, le taux de résistance le plus élevé concerne l'amikacine (96%) puis la gentamicine (76%). La tobramycine et la nétilmicine représentent des taux de 72% et 52% respectivement.

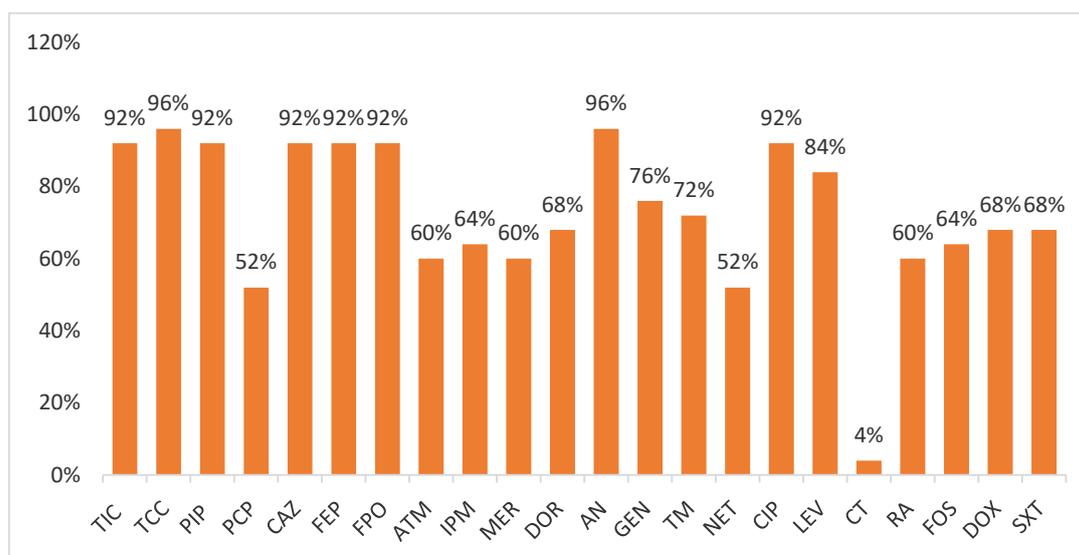
Nos souches sont également très résistantes aux fluoroquinolones, avec un taux de 92% pour la ciprofloxacine et 84% pour la lévofloxacine.

Les taux de résistance des autres antibiotiques sont plus bas comme pour la triméthoprime-sulfaméthoxazole et la doxycycline (68% chacun).

Nous remarquons également un taux plus élevé à la colistine qui atteint 4 %.

Tableau 21 Profil de résistance aux antibiotiques d'*A. baumannii*.

	Antibiotiques	Effectifs N = 25	Fréquence %
Pénicillines	TIC	23	92%
	TCC	24	96%
	PIP	23	92%
	PCP	13	52%
Céphalosporines	CAZ	23	92%
	FEP	23	92%
	FPO	23	92%
Monobactames	ATM	17	60%
Carbapénèmes	IPM	16	64%
	MER	15	60%
	DOR	17	68%
Aminosides	AN	24	96%
	GEN	19	76%
	TM	18	72%
	NET	13	52%
Quinolones	CIP	23	92%
	LEV	21	84%
Divers	CT	1	4%
	RA	15	60%
	FOS	16	64%
	DOX	17	68%
	SXT	17	68%

**Figure 46** Profil de résistance de *A. baumannii*.

4.3 Répartition des souches multirésistantes

Une bactérie multirésistante aux antibiotiques (BMR) est une bactérie qui n'est plus sensible qu'à un très petit nombre d'antibiotiques. Toutes les bactéries peuvent développer une multirésistance, qu'elles soient impliquées dans les infections communautaires ou dans les infections nosocomiales.

Le taux global de multirésistance a atteint 28,63%, sur un total de 653 bacilles à Gram négatif, 187 souches sont multirésistantes.

4.3.1 Répartition des bacilles à Gram négatif multirésistants selon l'espèce

Parmi les souches d'entérobactéries, sur un total de 519, 147 sont multirésistantes d'où un pourcentage de 28,32%, en parallèle, les souches appartenant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires ont atteint 29,85% de multirésistance.

➤ Répartition des entérobactéries multirésistantes selon l'espèce

Au sein des entérobactéries, la multirésistance est observée uniquement chez les deux espèces *E. coli* et *K. pneumoniae* (Tableau 22, figure 47). Parmi 203 souches d'*E.coli*, 82 sont multirésistantes d'où un pourcentage de 40,39% et parmi 151 souches de *K. pneumoniae*, 65 sont multirésistantes d'où un pourcentage de 43,05%.

Tableau 22 Répartition des entérobactéries multirésistantes selon l'espèce

	Effectif	Fréquence
<i>E. coli</i> 203	82	40,39%
<i>K. pneumoniae</i> 151	65	43,05%
<i>Proteus sp</i>	0	0%
<i>M. morgannii</i>	0	0%
<i>C. junii</i>	0	0%
<i>Enterobacter sp</i>	0	0%
<i>Shigella sp</i>	0	0%
<i>Salmonella sp</i>	0	0%
<i>Serratia sp</i>	0	0%

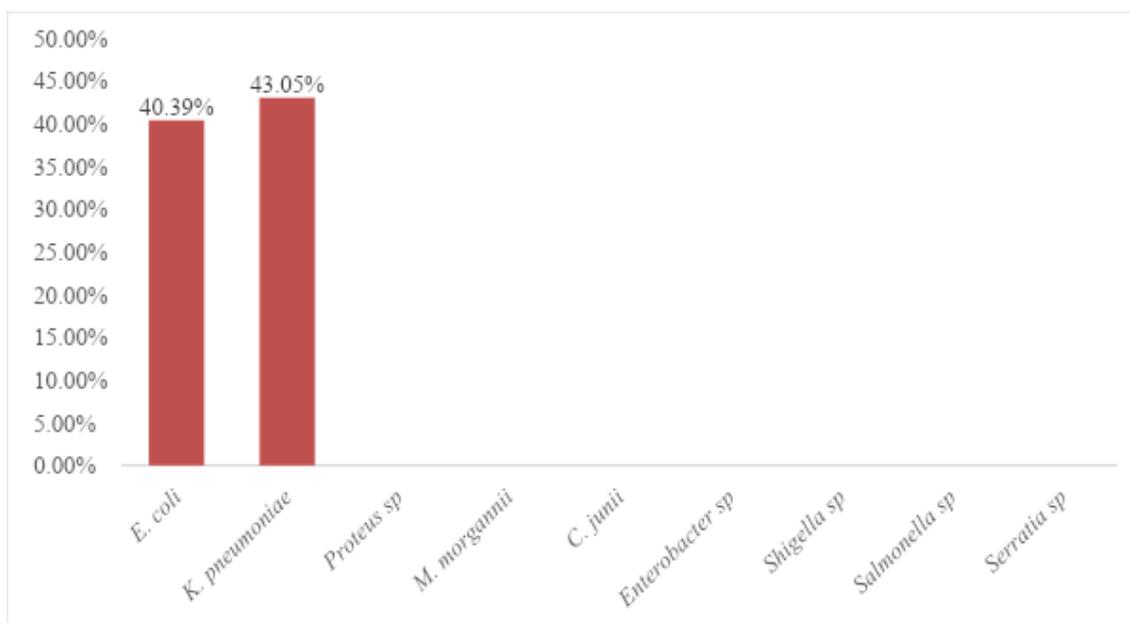


Figure 47 Répartition des entérobactéries multirésistantes selon l'espèce.

➤ **Répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multirésistants selon l'espèce**

Concernant *P. aeruginosa*, 21 souches sont multirésistantes dans notre étude, ce qui nous ramène à un taux de plus bas de 19,26%. Parmi 25 souches d'*A. baumannii*, 19 sont multirésistantes d'où une fréquence de 76% (Tableau 23, figure 48).

Tableau 23 Répartition des bacilles à Gram négatif non fermentant multirésistants selon l'espèce

	Effectif	Fréquence
<i>P. aeruginosa</i>	21	19,26%
<i>A.baumannii</i>	19	76%

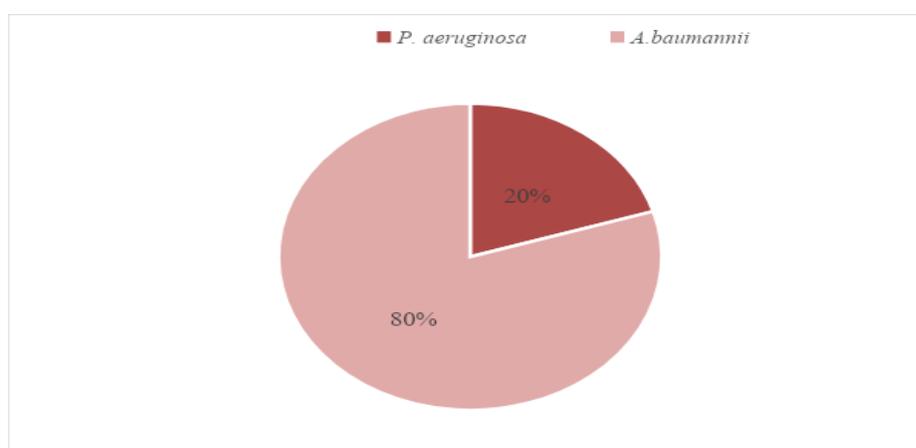


Figure 48 Répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multirésistants selon l'espèce.

4.3.2 Répartition des bacilles à Gram négatif multirésistants selon les services

➤ Répartition des entérobactéries multirésistantes selon les services

Selon les services, les taux de souches multirésistantes les plus élevés sont observés au niveau du service d'urologie.

Parmi les souches d'*E.coli* multirésistantes, 36 souches sont observées au niveau du service d'urologie représentant un pourcentage de 17,74%. Parmi les souches de *K. pneumoniae* multirésistantes, 28 souches sont observées au niveau du service d'urologie représentant un pourcentage légèrement plus élevé de 18,54% (Tableau 24, figure 49).

Les autres souches multirésistantes sont réparties sur le reste des services :

- Pour *E. coli*, 4,34% en médecine interne, 2,95% en chirurgie générale, 3,94% en ambulatoire et 15,76 % autres.
- *K. pneumoniae*, 3,97% sont observés en médecine interne et en ambulatoire, 3,11% en chirurgie générale et 7,28% autres.

Tableau 24 Fréquences des entérobactéries multirésistantes selon les services.

Service Espèce	Médecine interne		Urologie		Chirurgie générale		Externe		Autres	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<i>E. coli</i>	9	4,34%	36	17,74%	6	2,95%	8	3,94%	32	15,76%
<i>K. pneumoniae</i>	6	3,97%	28	18,54%	5	3,11%	6	3,97%	11	7,28%
<i>Proteus sp</i>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
<i>M. morgani</i>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
<i>C. junni</i>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
<i>Enterobacter sp</i>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
<i>Shigella sp</i>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
<i>Salmonella sp</i>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
<i>Serratia sp</i>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%

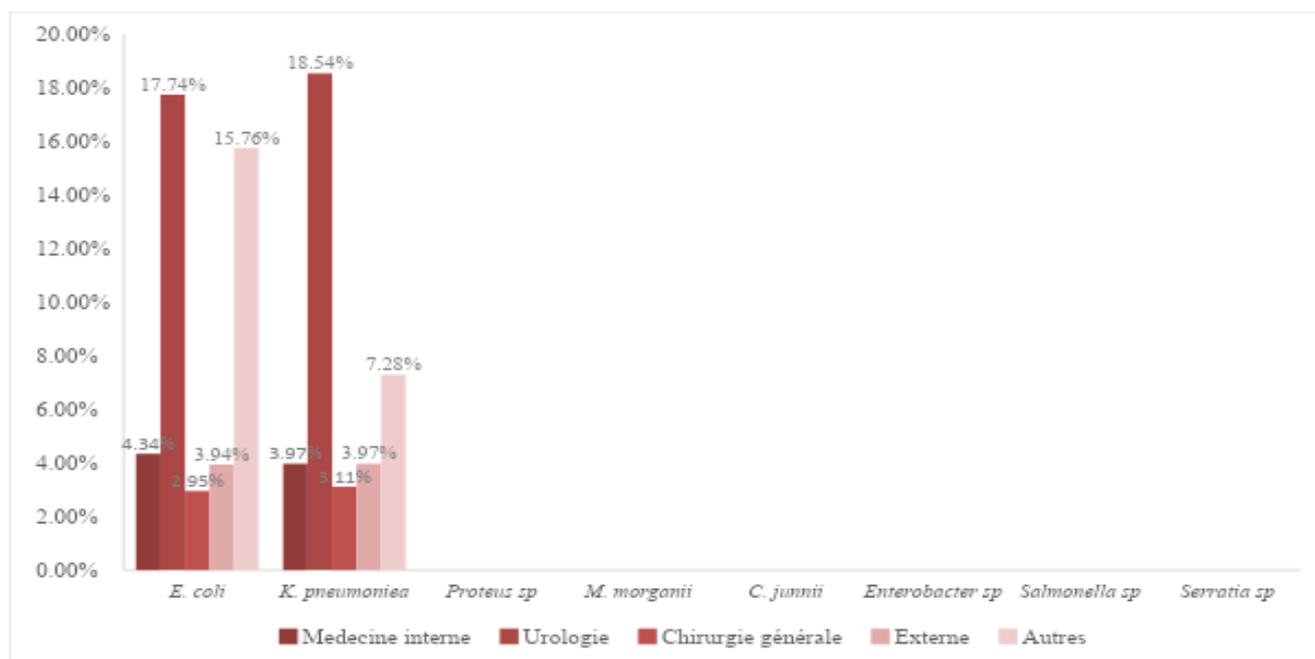


Figure 49 Fréquences des entérobactéries multirésistantes selon les services.

➤ **Répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multirésistants selon les services**

Parmi les souches de *P.aeruginosa*, les 25 bactéries multirésistantes sont réparties sur les autres services : 5,5% en réanimation, en ambulatoire et autres, 2,75% en pédiatrie et 1,83% en orthopédie et en urologie.

Quant aux souches d'*A. baumannii* multirésistantes, le taux le plus élevé est observé au niveau de la réanimation d'où une fréquence de 24% (6 souches), ensuite 16% sont retrouvés en pédiatrie, 12% en orthopédie, 4% en urologie et autres (Tableau 25, figure 50).

Tableau 25 Fréquences des bacilles à Gram négatif non fermentaires multirésistants selon les services

Service	Réanimation		Pédiatrie		Orthopédie		Urologie		Externe		Autres	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<i>P.aeruginosa</i>	6	5,50%	3	2,75%	2	1,83%	2	1,83%	6	5,50%	6	5,50%
<i>A.baumannii</i>	6	24%	4	16%	3	12%	1	4%	0	0%	1	4%

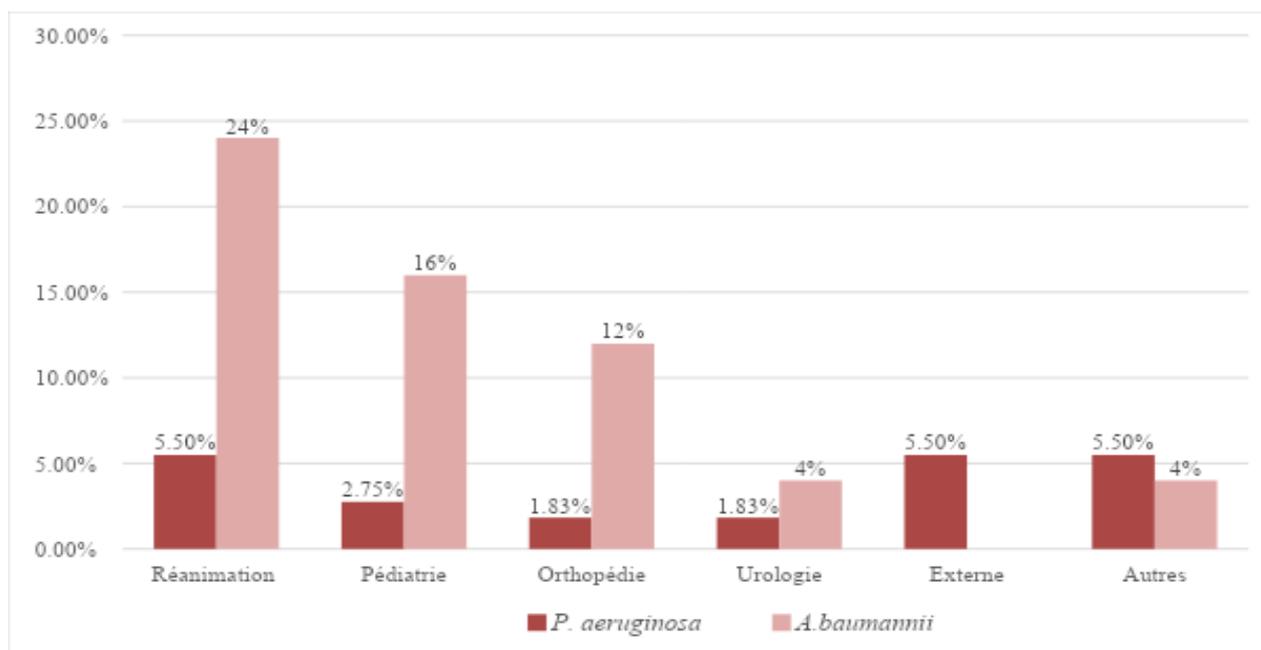


Figure 50 Répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multi résistants selon les services.

5. Évolution de la répartition des bacilles à Gram négatif multirésistants dans le temps

5.1 Évolution de la répartition des entérobactéries multirésistantes dans le temps

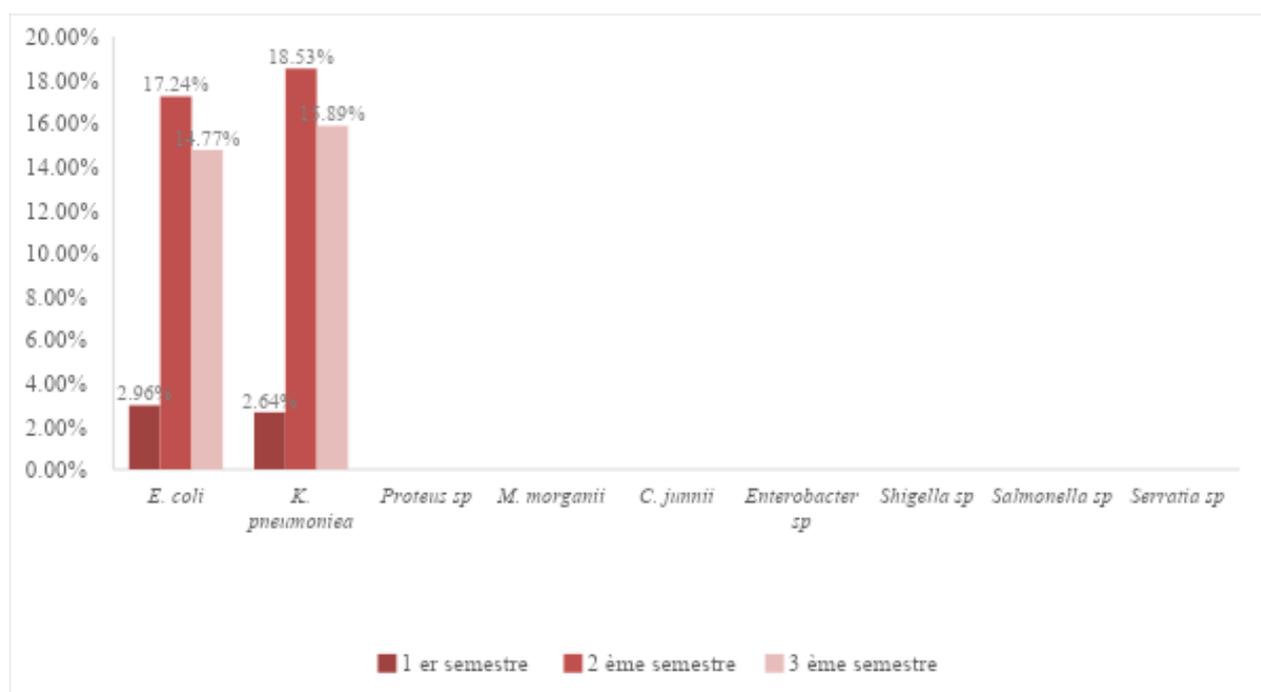
Concernant l'évolution de la multirésistance dans le temps, Nous remarquons :

Pour *E. coli*, une augmentation de la multirésistance entre le premier semestre et le deuxième de 2,96% à 17,24%, ensuite une légère chute au troisième trimestre atteignant 14,77% (Tableau 26, figure 51).

Une évolution remarquable de *K. pneumoniae* entre les deux premiers semestres (de 2,64% à 18,53%) ensuite 15,89% au troisième.

Tableau 26 Évolution de la répartition des entérobactéries multirésistantes dans le temps

Semestres Espèces	1 er semestre		2 ème semestre		3 ème semestre	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<i>E. coli</i>	6	2,96%	35	17,24%	30	14,77%
<i>K. pneumoniae</i>	4	2,64%	28	18,53%	24	15,89%
<i>Proteus sp</i>	0	0%	0	0%	0	0%
<i>M. morganii</i>	0	0%	0	0%	0	0%
<i>C. junnii</i>	0	0%	0	0%	0	0%
<i>Enterobacter sp</i>	0	0%	0	0%	0	0%
<i>Shigella sp</i>	0	0%	0	0%	0	0%
<i>Salmonella sp</i>	0	0%	0	0%	0	0%
<i>Serratia sp</i>	0	0%	0	0%	0	0%

**Figure 51** Évolution de la répartition des entérobactéries multirésistantes dans le temps.

5.2 Évolution de la répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multirésistants dans le temps

Pour les deux bacilles, une augmentation de la multirésistance est observée entre les deux premiers semestres comme pour les entérobactéries, suivie par une phase de déclin importante :

- Pour *P. aeruginosa*, la même chose est observée, augmentation de 0,91% à 19,27% suivie d'une chute à 3,67% (Tableau 27, figure 52).
- Pour *A. baumannii*, le taux de multirésistance croît de 8% à 36% entre les semestres 1 et 2 suivie d'une chute à 12%.

Tableau 27 Évolution de la répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multirésistants dans le temps

Espèce	1er semestre		2ème semestre		3ème semestre	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<i>P. aeruginosa</i>	1	0,91%	21	19,27%	4	3,67%
<i>A. baumannii</i>	2	8%	9	36%	3	12%

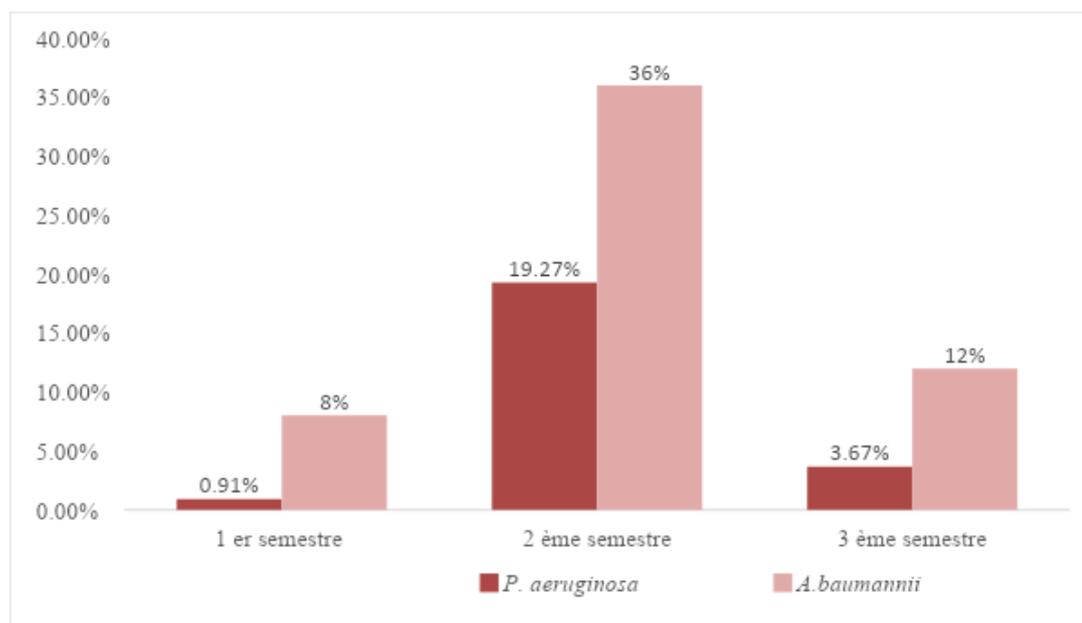


Figure 52 Évolution de la répartition des bacilles à Gram négatif non fermentaires multirésistants dans le temps.

DISCUSSION

Durant la période de l'étude rétrospective, 653 souches bactériennes appartenant aux bacilles à Gram négatif ont été isolées, nous avons constaté une prédominance des entérobactéries avec un pourcentage de 79% soit $n = 519/653$ au détriment des bacilles à Gram négatif non fermentaires qui représentent 21% du total des souches isolées, soit 134/653, les entérobactéries sont fréquemment isolées dans les laboratoires de bactériologie, elles sont responsables de nombreuses infections communautaires et nosocomiales, particulièrement dans les pays en voie de développement (64). À travers plusieurs études menées, l'analyse des espèces identifiées par rapport à l'ensemble des souches d'entérobactéries isolées, a montré que l'espèce *Escherichia coli* (39,11%) est prédominante suivie de *Klebsiella pneumoniae* (29,09%), comme cela était rapporté dans plusieurs études (62), (63), une étude au Maroc a montré qu'*Escherichia coli* représentait l'espèce prédominante dans 80% des cas, suivie de *Klebsiella pneumoniae* (65). En Tunisie *Escherichia coli* occupait aussi la première place mais avec un pourcentage plus élevé, suivie de *Klebsiella pneumoniae* (66). Une autre étude au Maroc réalisée sur des échantillons d'hémoculture confirme la prédominance d'*E. coli* et *K. pneumoniae* chez les entérobactéries avec un pourcentage de 23,03 % et 10,91% respectivement (67), nos résultats sont proches de ceux d'une étude réalisée par Ait-miloud au Maroc en 2011 (68).

Cette prédominance est en rapport avec leurs caractères de virulence ainsi, *E. coli* possède des adhésines capable de lier la bactérie à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales, en plus elle est l'espèce la plus dominante de la flore intestinale qui peut migrer de l'intestin vers l'appareil urinaire et fait partie des coliformes fécaux, donc un mauvais nettoyage de la partie intime peut facilement provoquer l'entrée de la bactérie dans la vessie

Proteus sp parallèlement à *Enterobacter sp* occupent la troisième position avec un pourcentage égal à 6%, nos résultats sont en accord avec une étude réalisée sur trois hôpitaux en Algérie (69) qui ont montré des taux de *Proteus sp* et *Enterobacter sp* égaux à 6,25% et 7,81% respectivement, des résultats proches ont été révélés par une étude européenne en 2004 qui indique que le taux de *Proteus sp* et *Enterobacter sp* égaux à 2,2% et 2,9% respectivement (70). Les autres espèces sont faiblement représentées avec une répartition plus ou moins homogène.

Les bacilles à Gram négatif non fermentaires constituent 20,52 % des bactéries isolées, représentés principalement par *P. aeruginosa* qui est de loin l'espèce la plus fréquentée (81%) ainsi que par *A. baumannii* 19%. Sur un total de 519 patients, 39,88% sont des hommes et

60,12% des femmes sont atteints d'entérobactéries, d'où un sexe ratio H/F= 0,66. Nous remarquons que le sexe féminin est plus exposé à des infections aux entérobactéries que le sexe masculin. Cette prédominance féminine pourrait s'expliquer par le fait que les prélèvements d'origine urogénitale étaient très largement majoritaires. En effet, les infections urinaires sont beaucoup plus fréquentes chez la femme que chez l'homme cela s'explique par le fait que :

- Les glandes périurétrales n'ont pas d'activité antibactérienne contrairement au liquide prostatique.
- Des caractéristiques anatomiques de l'urètre féminin qui est court, large, droit et proche de la région péri-anale
- La grossesse est aussi un facteur favorisant l'infection car la compression de l'utérus entraîne une dilatation voire une certaine obstruction des uretères, la ménopause et le manque d'hygiène.

En Algérie, cette prédominance féminine est confirmée par plusieurs auteurs, Balahouane en 2013 (71), Ould Baba ali et Taibi en 2019 (72) et Nadmi en 2010 (73) avec une fréquence de 71,62 %, 54 % et 85 % respectivement.

Concernant les BGNF, sur un total de 134 patients, 62% des hommes et 38% des femmes sont atteints d'infection causée par les bacilles à Gram négatif non fermentaires, la répartition des BGNF selon le sexe montre une légère élévation du taux d'*A. baumannii* de 56% chez les hommes par rapport à 44% chez les femmes, ce résultat est en accord avec une étude réalisée en 2016 par Khaldi qui a mené une recherche épidémiologique sur l'infection à *Acinetobacter baumannii* au CHU de Marrakech (74), une étude menée en France (2001) confirme la prédominance d'*A. baumannii* dans la population masculine (75), une autre étude réalisée par Villard en 2014 confirme la prédominance d'*A. baumannii* chez les hommes (76), la prédominance masculine peut être expliquée par le constat que l'*A. baumannii* est souvent associé à des conditions sous-jacentes comme le tabagisme, l'alcoolisme, le diabète ainsi que d'autres pneumopathies chroniques (75), (76), une étude américaine réalisée par Magnotti confirme une prédominance de *A. baumannii* chez le sexe masculin avec un pourcentage de 75% (77), selon le tunisien Trifi, un taux de *A. baumannii* atteint 68,75% est confirmé chez les hommes (78), tandis que le taux de Motaouakkil est de 61,5% (79).

En parallèle, *P. aeruginosa* représente un pourcentage de 58,72% chez les hommes, moins élevé chez les femmes (41,28%), Nos résultats sont similaires à une étude marocaine. Mais il faut noter que d'autres études rapportent une équivalence d'isolement chez les deux sexes ou même une prédominance du sexe féminin (80), (81) et (82).

En fonction de l'âge des patients, le taux d'*E. coli* chez le jeune adulte (entre 18-40 ans) a atteint 33,5% suivie des patients plus âgés dont l'âge est compris entre 41-60 ans, les infections à *K. pneumoniae* sont principalement observées chez les adultes (18-60 ans) avec un taux variant entre 23,18% et 33,11%, l'espèce *Proteus sp* est plus rencontrée chez les plus âgées (≥ 61 ans) avec un taux de 45,28%. Les infections causées par les bacilles à Gram négatif semble augmenter avec l'âge, il y a donc un rapport entre le risque infectieux et l'âge, la baisse des défenses immunitaires, alitement, effet des médicaments, déshydratation (particulièrement pour les infections urinaires), présence de beaucoup de dispositifs médicaux...etc sont donc des facteurs intervenant dans l'augmentation de l'incidence des infections aux entérobactéries.

La plupart des études montre que les taux d'infection obtenus sont variables chez les différentes catégories d'âge, la tranche d'âge allant de 39 ans à 63 ans renferme le plus de patients, ceci rejoint les résultats de l'étude faite à Dakar **(83)**.

Les souches de *P. aeruginosa* sont présentes principalement chez les adultes (27,52%), ensuite chez les personnes âgées avec un pourcentage de 22,94% , les patients adultes (41-60 ans) sont les plus touchés par *A. baumannii* (40%), la grande vulnérabilité du sujet âgé aux infections à BGNF s'explique par des facteurs associés généraux (vieillesse, comorbidités, dénutrition...) et locaux (altération du réflexe de la toux, trouble de la déglutition...), nos résultats sont en concordance avec l'étude de Motaouakkil au service de réanimation médicale à l'hôpital Ibn Rochd en 2006 **(84)** et avec Magnotti dans son étude américaine de 6 ans portée sur 100 isolats d' *A baumannii* qui a indiqué un âge moyen de 43 ans **(85)**, l'hospitalisation est un facteur de risque majeur pour les infections nosocomiales, en fait le milieu au sein de l'hôpital est chargé de différents germes, la transmission est souvent inévitable entre les malades ou par l'intermédiaire des personnels de santé ou les objets et dispositifs médicaux, les conditions d'hygiène, l'utilisation du matériel de soins, favorisent les infections avec l'émergence des bactéries multi-résistantes **(86)**.

En fonction de la nature du prélèvement, le taux d'*E.coli* est important dans le pus (37,44%) et les urines (36,45%), *K. pneumoniae* est également répondeur dans le pus et les urines avec un pourcentage de 26,49% et 55,63% respectivement, puis par celle des autres prélèvements, ces résultats sont conformes à ceux rapportés dans la littérature au Cameroun en 2007 **(91)**, la fréquence des infections urinaires causées par *E. coli* peut probablement s'expliquer par le fait que cette espèce est la plus dominante de la flore intestinale et qu'elle peut migrer vers l'intestin puis vers l'appareil urinaire. Il a été noté que les entérobactéries (particulièrement *E. coli*) représentaient plus de 80 % des germes responsables des infections

urinaires. En Tunisie, un taux de 60 % des souches isolées dans les urines est rapporté par Mkaouar en 2008 (92).

Les BGNFs sont recherchés dans différents types de prélèvements : les pus, les urines et autre, 75,71% des souches de *P. aeruginosa* ont été isolées à partir de prélèvements des pus, (20%) à partir des urines. 52,94% des souches d'*A. baumannii* ont été isolées des urines et 41,18% de pus, cela est expliqué par le fait qu'ils soient des germes nosocomiaux responsables surtout de surinfection des plaies chirurgicales chez des patients fragilisés par l'acte chirurgical invasif, l'antibiothérapie ainsi que l'immunosuppression. Nos résultats sont en concordance avec ceux d'une étude réalisée à Rabat entre 2006-2008 et celle dans un centre hospitalier universitaire à Monastir en 2004, qui rapportent que *P. aeruginosa* est isolée essentiellement à partir des pus et des urines (87), d'autres études confirment que les prélèvements de pus et d'urines sont couramment retrouvés en tête dans les études sur le pyocyanique (88), (89) et (90).

Concernant la répartition des infections selon les services, une prédominance d'*E.coli* et *K. pneumoniae* dans le service d'urologie (64,97, 64,24% respectivement) est observée.

Ceci pourrait être expliqué par le fait que la majorité de ces souches étaient isolées d'urines, le site urinaire est le principal site d'infection, la flore digestive est le principal réservoir d'entérobactéries responsables d'infection urinaire.

Nos statistiques montrent que le service de pédiatrie semble être le plus incriminé avec 18,35% des isolats de *P. aeruginosa*, suivi par le service de la consultation externe 15.6 %, ces résultats sont différents de ceux retrouvés dans l'étude réalisée à Constantine (93), qui rapporte que les souches proviennent essentiellement du centre des brûlés (19.68 %), suivi par le service de la chirurgie viscérale (15.71 %) et le service de réanimation médicale (8.89 %). Nous pouvons expliquer nos résultats par le risque de survenue d'infections nosocomiales chez l'enfant dépend non seulement de l'exposition à un réservoir donné (risque existant à tous les âges), mais aussi de la maturité du système immunitaire et de l'existence ou non d'une protection maternelle résiduelle (94).

Les souches d'*A.baumannii* isolées provenaient en grande proportion (40%) des patients hospitalisés dans les services de réanimation, ces résultats rejoignent les données de la littérature étant donné que la réanimation est toujours le service le plus pourvoyeur d'infection à *A. baumannii* mais avec des taux variables, le taux retrouvé dans cette étude est proche de celui rapporté en Espagne en 2014 (46%) (76), les patients au niveau des services de réanimation présentent un risque plus élevé de développer une infection à *A. baumannii*, ce qui

est expliqué par la sévérité des pathologies sous-jacentes, l'hospitalisation prolongée, le recours à une antibiothérapie à large spectre et l'utilisation de multiples procédures invasives notamment : intubation, sonde vésicale, cathéters centraux **(76)**.

Sur le plan résistance aux antibiotiques, Les β -lactamines étaient depuis longtemps couramment utilisées dans le traitement des infections à entérobactéries. Actuellement, l'augmentation de la résistance à cette famille d'antibiotiques est de plus en plus inquiétante.

Le profil de résistance d'*Escherichia coli* aux antibiotiques révèle que parmi les 203 souches d'*E. coli* les taux de résistance sont plus importants dans de la famille de pénicilline (AMP, AMX, PRL, TIC) avec un pourcentage supérieur à 87% et 50 % pour l'association amoxicilline-acide clavulanique (AMC), une étude portée sur les caractéristiques épidémiologiques et bactériologiques des bactéries uropathogènes en Tunisie avait révélé que la résistance d'*E. coli* à l'amoxicilline est à 85% **(95)**, en 2018 une études sur le profil de résistance aux antibiotiques des agents pathogènes des voies urinaires chez les enfants, l'augmentation de la résistance était plus marquée pour la famille des pénicillines (ampicilline 58,2% et amoxicilline-acide clavulanique 16%) **(96)**. La résistance aux pénicillines, amoxicilline et ticarcilline est acquise ce qui induit la pression de sélection liée à la consommation abusive de ces antibiotiques, par conséquent, l'émergence de nouvelles souches résistantes suite à l'automédication et aussi aux traitements mal conduits (doses insuffisantes et traitements de courtes durées), la résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique peut s'expliquer par une baisse de l'activité de l'inhibiteur des bêta-lactamases résultante d'une hyperproduction de pénicillinases, ou de l'inactivation de l'inhibiteur lui-même. Pour les céphalosporines, le taux de résistance a atteint 46% pour la céfazoline (KZ), 30% pour la céfalotine (CF), 22% pour cefoxitine (FOX) et 18% pour céfotaxime (CTX) et céftriaxone (CRO), une étude réalisée en 2014 sur la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes avait montré un taux de résistance aux céphalosporines de 3ème génération de 21% **(97)**, ces résultats expliquent l'augmentation continue de la fréquence des souches productrices de BLSE dans les hôpitaux. Les aminosides (GN, NM) et les quinolones (AN, NOR, OFX, CIP) ont présenté les taux les plus faibles, une étude élaborée sur l'épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées des infections urinaires en 2009 confirme nos résultats **(98)**. Le taux de résistance à la Triméthoprim-sulfaméthoxazole (TMP) a atteint 35%. Ce qui est inférieure des résultats obtenu dans une étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections dans un CHU de Tunis sur 1930 cas (46,9%) **(99)**. La colistine (CT), fosfomycine (FOS), le chloramphénicol

(C) et l'imipénème (IMP) restent les antibiotiques les plus actifs sur *Escherichia coli* avec un très faible taux de résistance, ils doivent donc être envisagés en priorité thérapeutique, les résultats d'une étude réalisée en 2007 sur la sensibilité d'*E. coli* aux antibiotiques en fonction des antécédents sont compatibles avec notre où la fosfomycine garde une excellente activité sur *E. coli* (100).

En ce qui concerne le profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques, nous pouvons constater un taux de résistance élevé à la famille des pénicillines : AMP (100%) AMX (98%), TIC (100%), PRL (94%), AMC (61%) et une résistance aux céphalosporines comprise entre 11% à 44% ces résultats sont expliqués par la production de cette bactérie d'une β - lactamase de classe A de nature chromosomique ce qui fait de ce germe une bactérie naturellement résistante (101), suivi des aminosides qui sont moins actifs sur les souches de *Klebsiella sp*, nous avons noté des taux de résistances égaux à 5% pour la tobramycine (NM), 17% la gentamycine (GN). Pour les quinolones, nous avons marqué un taux de résistance compris entre 0% et 5% et 28% pour la triméthoprime (TMP), par contre *K. pneumoniae* est à 100% sensible à la colistine (CT), fosfomycine (FOS), chloramphénicol (C), l'imipénème (IMP), norfloxacine (NOR), amikacine (AK), ces derniers gardent une très forte activité vis à vis de *K. pneumoniae*, une étude réalisée en France 2015 sur l'évolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'hôpital général de Douala de 2005 à 2012 confirme que l'amikacine et la fosfomycine étaient les molécules les plus actives sur les souches de *Klebsiella sp* (102).

En ce qui concerne le profil de résistance d'*Enterobacter sp* aux antibiotiques, nous avons obtenu une résistance de 96,15% à l'ampicilline (AMP), amoxicilline (AMX) et à l'association amoxicilline-acide clavulanique (AMC), 25% pour la ticarcilline (TIC) et la pipéracilline (PRL). Ainsi elles ont un haut niveau de résistance aux céphalosporines 1^{ère} génération (KZ, CF) (96,15% et 50% respectivement), le plus bas taux de résistance (25%) était pour CTX, CRO, NM, AN, OFX, CIP, CT, TMP, une étude réalisée en 2015 sur le profil de résistance des isolats d'entérobactéries provenant d'infections urinaires ont montré un taux de résistance des *Enterobacter sp* aux quinolones de 30,8% (103). Par contre les *Enterobacter sp* ont une sensibilité totale vis à vis de l'imipénème (IMP), Céfoxitine (FOX), amikacine (AK), gentamycine (GN), norfloxacine (NOR), cette résistance repose principalement sur la pression de sélection exercée par les antibiotiques. Mais à côté du mode d'utilisation des antibiotiques, il est probable que de nombreux autres facteurs interviennent, tels que les modalités

d'administration, les durées de traitement, la connaissance de l'écologie locale et bien sûr l'efficacité des mesures visant à diminuer la dissémination de ces souches.

En ce qui concerne le profil de résistance de *Citrobacter sp* aux antibiotiques, 100 % des souches résistent aux pénicillines sauf la ticarcilline (TIC) et la pipéracilline (PRL) qui restent actives, une étude française sur la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les infections urinaires signale que *Citrobacter freundii* possède une résistance naturelle constante aux pénicillines (donc à l'ampicilline, l'amoxicilline et l'amoxicilline-acide clavulanique) (105). Une résistance totale est également notée chez la céfazoline (KZ), la résistance à la céphalosporine est justifiée par le fait que certaines espèces de *Citrobacter* produisent des céphalosporinases inductibles, pas faciles à détecter au laboratoire. Sous traitement aux céphalosporines, ces germes peuvent donc développer une résistance (inductible) à toutes les céphalosporines et elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique (104), par contre on observe une sensibilité totale pour l'imipénème (IMP), les quinolones et la ticarcilline (TIC), la pipéracilline (PRL), la colistine (CT) et la triméthoprim (TMP).

En ce qui concerne le profil de résistance de *Serratia sp* aux antibiotiques, nos souches sont plus sensibles, sauf pour les l'amikacine (64%), le triméthoprim sulfaméthoxazole (60%) et surtout la colistine (99%). Les pourcentages concernant les pénicillines sont plus bas. Aucune souche n'est résistante aux céphalosporines sauf la céfazoline (21%) ni à l'imipénème, Quant aux autres antibiotiques surtout les fluoroquinolones, ils restent actifs, une étude réalisé au Niger sur le profil des germes uropathogènes communautaires isolés en milieu pédiatrique montre un taux de résistance de *Serratia sp* aux pénicillines de 49% et 15,18% aux céphalosporines (106).

Le profil de résistance de *Proteus sp* aux antibiotiques indique que le taux de résistance vis-à-vis des pénicillines testées est de 38% pour l'ampicilline (AMP), 39% pour l'amoxicilline (AMX) et 22% ticarcilline (TIC). En ce qui concerne l'association de l'Amoxicilline+ acide clavulanique (AMC) 39%, *Proteus sp* est naturellement sensible à toutes les β -lactamines, l'élévation de la résistance de nos souches isolées se traduit par une résistance acquise qui peut être due à une mutagénèse ou à un transfert de gènes (107), Aussi peut être associé à l'émergence et l'extension de nouveaux mécanismes de résistance liée à la sécrétion de β -lactamases. En effet, *Proteus sp* est capable de sécréter une grande diversité de β -lactamases plasmidiques et pourrait constituer ainsi un réservoir de plasmides (108). L'acide nalixidique (AN), la colistine (CT) et la triméthoprim (TMP) agissent de façon remarquable sur *Proteus sp* avec un taux de 64%, 6%, 60% respectivement, un taux variant entre 20% et 21% pour les

quinolones, par contre nous constatons une sensibilité totale est remarquable pour l'imipénème (IMP), l'amikacine (AK), la tobramycine (NM), la fosfomycine (FOS), les furanes (FT) et le chloramphénicol (C), une étude turque de Gunduz en 2018 qui a trouvé un taux faible ou négligeable pour l'amikacine et l'imipénème **(95)**.

Parmi les BNF isolées, nous avons trouvées deux espèces qui sont *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*, les taux de résistance d'*A. baumannii* sont élevés. Concernant les bêtalactamines, le taux de résistance aux pénicillines est de 96% pour l'association Ticarcilline- Acide clavulanique, 92% pour la ticarcilline et la piperacilline. Pour les céphalosporines, 92% des souches résistent à la céftazidime, céfépime et céfpirome. D'un autre coté, 60% des souches résistent à l'aztréonam. Les taux de résistance vis-à-vis des carbapénèmes sont plus bas : 64% pour l'imipénème et 60% pour le méropénème. Concernant les aminosides, le taux de résistance le plus élevé concerne l'amikacine (96%) puis la gentamicine (76%). La tobramycine et la nétilmicine représentent des taux de 72% et 52% respectivement. Nos souches sont également très résistantes aux fluoroquinolones, avec un taux de 92% pour la ciprofloxacine et 84% pour la lévofloxacine. Les taux de résistance des autres antibiotiques sont plus bas comme pour la triméthoprime-sulfaméthoxazole et la doxycycline (68% chacun). Nous remarquons également un taux plus élevé à la colistine qui atteint 4 %.

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 et en France **(109)**, **(110)** et **(111)** cette importante résistance aux antibiotiques en résulte 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 **(112)**.

En ce qui concerne *P. aeruginosa*, des taux de résistance élevés sont remarqués 76,15% pour les ticarcilline, 79,23% pour la ticarcilline-acide clavulanique, la pipéracilline et l'association pipéracilline- acide clavulanique respectivement. Nos souches sont également résistantes à l'aztréonam (44,03%) et aux carbapénèmes, imipénème et méropénème (44,03% chacun), au Maroc, la résistance à la ceftazidime est supérieure à celle notée au cours de notre étude **(113)**. Les taux de résistance aux aminosides sont élevés comme pour la gentamicine et la tobramycine (77,06% et 71,56% respectivement). Des taux de résistance assez élevés sont remarqués concernant les fluoroquinolones (62,39% pour la ciprofloxacine et 60,55% pour la lévofloxacine), ces résultats sont proche de ceux d'une étude iranienne qui affiche un taux de résistance aux fluoroquinolones (55%) et inférieur des résultats obtenus dans une étude Bulgare

(80,3%) **(114)**. Concernant les autres résistances, nos souches affichent 55,05% de résistance au Triméthoprim-sulfaméthoxazole, 52,29% pour la rifampicine et 33,94% pour les cyclines.

Ces résistances acquises peuvent être soit enzymatiques (les bêtalactamases : pénicillinases, céphalosporinases, bêtalactamases à spectre étendu, métallobetallactamases) ou soit non enzymatiques (impermeabilité système d'efflux, modification de cibles). La nature de cette résistance devient de plus en plus inquiétante avec l'émergence de carbapénèmases, ceci doit donc appeler à une forte vigilance grâce au dépistage précoce de ces mécanismes de résistance et au renforcement des mesures d'hygiène autour des cas d'infection ou de portage afin d'éviter leur transmission **(115)**.

« Réputé d'être le meilleure alternative dans le traitement des infections a *Pseudomonas* multirésistants (le phénotype « *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la colistine » étant considéré comme exceptionnel), la résistance à la colistine est un phénomène très inquiétants et génèrent d'importants problèmes thérapeutiques. L'émergence de telles souches dans l'écosystème microbien de l'hôpital peut s'expliquer principalement par la capacité des *Pseudomonas* à survivre longtemps dans l'environnement hospitalier, mais aussi par la pression de sélection due au large usage des antibiotiques, ainsi probablement par le fait que la majorité des patients (notamment de la réanimation) ont déjà transité dans des services où il y'avait une prescription forte ou aveugle de la colistine » **(118)**.

Une bactérie multirésistante aux antibiotiques (BMR) est une bactérie qui n'est plus sensible qu'à un très petit nombre d'antibiotiques. Toutes les bactéries peuvent développer une multirésistance, qu'elles soient impliquées dans les infections communautaires ou dans les infections nosocomiales. Le taux global de multirésistance a atteint 28,63%, sur un total de 653 bacilles à Gram négatif, 187 souches sont multirésistante, une étude menée en Tunisie par Saidani en 2006 avait signalée un taux globale de multirésistance de 38.4% **(116)**, encore moins dans une étude sur l'épidémiologie des bactéries multirésistante à l'hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006 et septembre 2009 (entre 17% et 20%) **(117)**.

Le taux des entérobactéries productrices de BLSE a considérablement augmenté au cours de ces dernières décennies, avec des disparités entre les différentes institutions et pays **(119)**, Parmi les 519 souches d'entérobactéries isolées dans notre étude, 147 sont multirésistante d'où un pourcentage de 28,32%, ces résultats sont proche de ceux d'une étude menée à Tlemcen en 2019 **(120)** où le taux global des EBLSE était 32,5%, une autre étude réalisée au sein du laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Saâdna Mohamed Abdenour de Sétif sur les infections urinaire à BGN a afficher un résultat global de EBLSE de

26,8% **(121)**, ces taux élevés sont dues principalement au mésusage des antibiotiques surtout ceux à large spectre, à l'absence de dépistage systématique des EBLSE chez les malades hospitalisés ce qui conduit à une diffusion rapide de ces souches en absence de pratique des mesures d'hygiène et d'isolement de ces malades porteurs ainsi que l'insuffisance dans les moyens de lutte contre la diffusion de ces EBLSE.

Au sein des entérobactéries, la multirésistance est observée uniquement chez les deux espèces *E. coli* et *K. pneumoniae*, parmi 203 souches d'*E. coli*, 82 sont multirésistante d'où un pourcentage de 40,39% et parmi 151 souches de *K. pneumoniae*, 65 sont multirésistante d'où un pourcentage de 43,05%, une thèse de doctorat faite au Maroc a concrétisé une prédominance de *Klebsiella pneumoniae* BLSE (41%) suivie d'*E. coli* (39%) **(122)**, un taux moins élevé est signalé dans une étude réalisée en Algérie à Sétif qui rapporte une capacité de production de BLSE plus importante chez *Klebsiella pneumoniae* avec 29,41% suivie d'*E. coli* dans 20,89% des cas **(123)**, dans une autre étude en Inde, les résultats révèlent qu'*E. coli* est le principal producteur de BLSE (50,14%) suivi de *Klebsiella pneumoniae* (48,27%) et d'autres : *Proteus sp* (42,59), *Providentia sp* (37,5%), *Enterobacter sp* (33,33), *Citrobacter sp* (18,18%), *Morganella sp* (12,5) **(124)**, ces résultats concordent avec ceux obtenus par El Bouamri montrant que *E. coli* et *K. pneumoniae* sont les deux espèces les plus fréquemment responsable de BLSE **(125)**.

Selon les services, les taux des EBLSE les plus élevés sont observés au niveau du service d'urologie, une étude réalisée en 2011 sur les entérobactéries productrices des bêta-lactamases à spectre élargi avait mentionné un taux d'EBLSE de 26% **(126)**, contrairement à une étude réalisée au Maroc en 2016 au laboratoire de Microbiologie du CHU de Rabat **(127)** et une autre en Algérie **(128)** qui confirment une prédominance des EBLSE dans le service de la réanimation.

L'émergence des entérobactéries sécrétrices de BLSE en milieu communautaire est un phénomène en évolution continue noté dans plusieurs travaux rendant ainsi l'épidémiologie des infections qui résultent de bactéries productrices de BLSE encore plus délicates **(129)**.

La répartition des bacilles à Gram négatif multirésistants selon l'espèce indique que les souches appartenant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires ont atteint 29,85% de multirésistance.

Concernant *P. aeruginosa*, 21 souches sont multirésistantes dans notre étude, ce qui nous ramène à un taux de plus bas de 19,36%, nos résultats sont inférieur comparativement à ce qui a été retrouvé au Cameroun dans les services de réanimation où le taux de multirésistance était de 88.8 % **(130)**, pareil pour l'étude multicentrique menée sur les pneumonies

nosocomiales dues à *P. aeruginosa* dans lequel ce taux était de 30.5 % **(131)**, nous remarquons ainsi une disparité d'une étude à une autre sur la multirésistance. Ces écarts peuvent être dus à l'écologie bactérienne de chacune d'entre elles, du contexte (une pathologie précise, un service donné). Avec un taux de 5,5 % en réanimation, nos résultats sont loin des données de l'enquête Réa-RAISIN de 2009 qui met en évidence une part relative de 14,8 % d'infection à *Pseudomonas aeruginosa* dans 176 services de réanimation en France **(132)**, ceci s'explique par la mauvaise observance et surtout la prescription abusive des antibiotiques.

Parmi 25 souches d'*A. baumannii*, 19 sont multirésistantes d'où une fréquence de 76%, le taux le plus élevé est observé au niveau de la réanimation d'où une fréquence de 24% est déclarée, ce qui coïncide parfaitement avec les données de la littérature scientifique étant donné que la réanimation est toujours le service le plus pourvoyeur des infections à *A. baumannii* mais avec des taux variables, selon Mkaouar (2008), un taux élevé de souches résistantes a été observé dans les unités de soins intensifs (48%), de pédiatrie (25%). Les patients admis dans ces services sont particulièrement vulnérables aux infections par des bactéries résistantes à cause de leurs défenses immunitaires affaiblies et de leur exposition aux antibiotiques à large spectre **(92)**. Les mécanismes de résistance de cette bactérie sont extrêmement nombreux : production de céphalosporinases, production de pénicillinases plasmidiques, acquisition de plasmides ou de transposons codant pour des enzymes modifiant les aminosides, mutations de l'ADN-gyrase provoquant une résistance aux quinolones, résistance plasmidique au triméthoprim, transposon codant pour une acétyl transférase inhibant le chloramphénicol, mécanismes d'imperméabilité, mécanismes d'efflux **(133)**.

L'Organisation Mondiale de la Santé a recommandé des mesures de contrôle et de prévention afin de réduire le risque de transmission des bactéries à Gram négatif productrices de BLSE ou de carbapénémases. Ces stratégies incluent l'identification des bactéries productrices de BLSE et de carbapénémases par des méthodes diagnostiques rapides de même que la mise en place d'une surveillance épidémiologique des principaux gènes de résistance encodant à ces enzymes.

Pour le clinicien, la connaissance des espèces bactériennes les plus fréquemment rencontrées dans une pathologie et de leur sensibilité aux principaux antibiotiques est essentielle pour initier un traitement efficace, cela est particulièrement vrai pour les infections graves. Dans ce cas, l'antibiothérapie probabiliste doit être d'emblée adaptée car elle conditionne le pronostic de la maladie **(67)**.

CONCLUSION

Les espèces de bacilles à Gram négatif les plus importantes en clinique demeurent les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.

Parmi nos isolats, 653 souches bactériennes appartenant aux bacilles à Gram négatif indiquant une prédominance des entérobactéries avec un pourcentage de 79,48%. Parmi les entérobactéries, *E. coli* était le germe le plus fréquemment isolé dans 39,11% des cas. Venaient ensuite *K. pneumoniae* et autres entérobactéries.

La prédominance d'*E. coli* pourrait s'expliquer par le fait que cette espèce est la plus abondante dans la flore intestinale et pouvant facilement entrer dans la vessie et être responsable d'infections urinaires.

Parmi les autres bacilles à Gram-négatif, les entérobactéries constituent certainement en pathologie humaine, un groupe prédominant. Cependant, de nombreuses autres espèces ont été identifiées, en particulier les bacilles à Gram-négatif non fermentaires aérobies stricts tels les genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter*.

Nos résultats indiquent que sur un total de 134 souches bactériennes appartenant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires, *P. aeruginosa* a atteint 81,34% contrairement à *A. baumannii* (18,66%).

La répartition des espèces appartenant aux entérobactéries selon le sexe montre que le taux d'infection par *E. coli* et *K. pneumoniae* chez les femmes est plus élevé que chez les hommes avec un pourcentage de 76,35% et 64,24%. Sur un total de 134 patients, 62% des hommes et 38% des femmes sont atteints d'infections causées par les bacilles à Gram négatif non fermentaires.

Pour les entérobactéries, ceci pourrait s'expliquer par le fait que ces deux espèces fréquemment responsables d'infection urinaires toucheraient plus les femmes vu l'anatomie de leur appareil urinaire.

Quant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires, la prédominance masculine peut être expliquée par le constat que *P. aeruginosa* et *A. baumannii* sont souvent associés à des conditions sous-jacentes comme le tabagisme, l'alcoolisme, le diabète ainsi que d'autres pneumopathies chroniques. Mais il existe une disparité entre les études qui serait reliée probablement à des biais méthodologiques.

En fonction de l'âge des patients, les infections à entérobactéries sont prédominantes chez le sujet âgé, 33,5% d'*E. coli* et 33,11% de *K. pneumoniae* sont isolées chez le patient âgé de plus de 60 ans.

Les infections à *A. baumannii* et à *P. aeruginosa* sont également fréquentes chez l'adulte et la personne âgée (40% et 20%).

L'âge de plus de 60 ans, pourrait s'expliquer par la diminution des défenses immunitaires et l'existence de co-morbidités présentes à cet âge, le risque d'infection nosocomiale augmenterait avec l'âge.

En fonction de la nature du prélèvement, le taux d'*E. coli* est important dans le pus (37,44%) et les urines (36,45%), *K. pneumoniae* est également répondeur dans le pus et les urines avec un pourcentage de 26,49% et 55,63% respectivement dans notre étude. Beaucoup d'études mentionnent une prédominance des prélèvements urinaires. Ces sites infectieux sont les sites préférentiels des infections causées par des entérobactéries.

Pour les bacilles à Gram négatif fermentaires, les fréquences d'*A. baumannii* et de *P. aeruginosa* sont plus élevées dans le pus (75,71%, 41%) puis les urines (52,94%, 20%).

En effet, certaines études rapportent la prédominance des isolats à partir des prélèvements de pus. Les infections à *P. aeruginosa* et à *A. baumannii* sont des infections nosocomiales et normalement les pneumonies sont le premier site infectieux atteint par contamination de l'environnement et du matériel utilisé lors de la ventilation mécanique. Les autres infections comme les infections urinaires et les infections suppurées sont également des sites de prédilection des infections nosocomiales.

Concernant la répartition des infections selon les services, une prédominance d'*E. coli* et *K. pneumoniae* dans le service d'urologie (64,97, 64,24%) est observée. Ceci pourrait être expliqué par le fait que la majorité de ces souches étaient isolées d'urines.

On note par ailleurs que le service de réanimation a abrité 40% d'*A. baumannii*, contrairement aux souches de *P. aeruginosa* réparties un peu partout.

Les patients au niveau des services dits à risque, réanimation, soins intensifs et autres, sont plus exposés au développement d'une infection à *P. aeruginosa* et à *A. baumannii*, pour plusieurs raisons, comme la sévérité de la maladie et la présence de comorbidités, l'usage d'un certain nombre de dispositifs invasifs (sondes urinaires, cathéters, intubation...), ainsi que la durée de leur utilisation, les traitements antibiotiques multiples ou à large spectre, la pression de sélection antimicrobienne élevée et la densité de soins.

Concernant la résistance aux antibiotiques, des taux élevés sont observés chez tous les bacilles à Gram négatif. Les souches d'*E. coli* présentent des valeurs élevées concernant la piperacilline (92%), ticarcilline (90%), moins pour les céphalosporines, céfazoline (46%),

céfoxitine (22%) et ceftriaxone (18%). Les taux de résistance à l'imipénème (1%) et la colistine (1%) restent faibles.

Chez *P. aeruginosa* et à *A. baumannii*, les taux de résistance sont beaucoup plus élevés, surtout chez *A. baumannii* avec 92% de résistance à la céftazidime, 60% à l'aztréonam et 64% pour l'imipénème. Les aminosides (l'amikacine 96%) et les fluoroquinolones (ciprofloxacine 92%) sont également touchés. Nous remarquons par ailleurs, un taux plus élevé à la colistine qui a atteint 6%.

Le taux global de multirésistance a atteint 28,63%, plus élevé chez *A. baumannii* (76%), le plus au niveau du service de réanimation (24%).

L'émergence de bactéries résistantes voire multirésistante aux antibiotiques (BMR) en milieu hospitalier est un phénomène préoccupant. La lutte contre les bactéries multirésistante constitue un enjeu majeur de santé publique. Les céphalosporines et les carbapénèmes, molécules de choix dans le traitement des infections à bacilles à Gram négatif, sont touchés par la résistance. L'optimisation de l'utilisation clinique de la colistine a une importance croissante et constitue la priorité actuelle.

La maîtrise de la résistance bactérienne aux antibiotiques est une priorité de santé publique qui nécessite des actions concertées dans les établissements de santé. La prévention de la transmission croisée et la réduction de la pression de sélection, par un usage rationnel des antibiotiques, en sont les deux composantes essentielles.

Il est nécessaire de poursuivre et de renforcer les efforts de mise en place de mesures pour la prévention de la diffusion des bactéries multirésistantes dans les différentes unités de soin hospitaliers et extrahospitaliers.

*RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES*

1. Vallée, M (2015) Résistance aux lactamines à large spectre chez les bactéries à Gram négatif. Épidémiologie et diagnostic. Mémoire pour l'obtention d'une maîtrise en Microbiologie et immunologie. Québec : Université de Laval.
2. Carsenti-Dellamonica, H (2008) Infections associées aux implants orthopédiques. *Antibiotiques*, 10(1), P 3-15.
3. Lemsanni, M (2016) Les infections nosocomiales en réanimation pédiatrique. Université Cadi Ayyad. Thèse pour l'obtention de doctorat en médecine, Maroc-Marrakeche : Université Kadi Ayyad.
4. Pistre, P (2017) Effet d'une liste de vérification sur la thérapie antimicrobienne au centre hospitalier de l' université de Montréal. Thèse pour l'obtention de doctorat en médecine, France : Université de Lorraine.
5. Diene, S. M (2012) Analyse génomique et moléculaire d'isolats cliniques de bactéries multirésistantes aux antibiotiques. Thèse pour l'obtention de doctorat en Pathologie humaine, Marseille : Université Aix Marseille.
6. Martin, C (2011) Bacilles à Gram négative non fermentaires. In: Denis F, Poly M-C, Martin, C ; Bingén, E et Quentin, R. Microbiologie médicale. *Elsevier Masson*. France.
7. Procop, G. W ; Church, D. L ; Hall, G. S ; Janda, W. M ; Koneman, E. W ; Schrenzenburger, P. C et Woods, G. L (2017) The nonfermentative Gram-negative bacilli. In: Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Seventh Edition. wolters kluwer health. Philadelphie - Etats-Unis. P 519-520.
8. Monteil, H (2007) Bacilles à Gram négatif non fermentantaires. *EMC - Biologie médicale*, France. 2(1), P 01.
9. Elmeskini, M. K (2011) Étude épidémiologique des infections a *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse en vue d'obtention de doctorat en médecine. Maroc : Université Mohammed v -rabat-.
10. Madigan, M. T et Martinko, M. J (2017) Diversité des procaryotes : les bacteries dans : Brock Biologie des micro-organismes, Onzième édition, *Pearson Education*, Royaume-Uni, P 348-350.
11. Avril, J. L ; Debernat, H ; Denis, F et Monteil, H (2000) *Pseudomonas* : bacilles a gramnégatif aérobies stricts. Dans : bactériologie clinique, deuxième édition. *Ellipses*. Paris, P 266.
12. Driscoll, J. A ; Brody, S. L et Kollef, M. H (2007) The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs*, wolters kluwer, 67(3), P 351.

13. Mérens, A, Jault, P, Bargues, L et Cavallo, J. D (2013) Infections à *Pseudomonas aeruginosa*. *EMC - Maladies infectieuses*, 10(1).
14. Bentzmann, S et Plésiat, P (2011) *Pseudomonas aeruginosa*: une virulence complexe. *Revue francophone des laboratoires*, 2011(435), P 74–81.
15. Juni, E (2015) *Acinetobacter*. In: *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria*.
16. Kim, U. J ; Kim, H. K ; An, J. H ; Cho, S. K ; Park, K. H et Jang, H. C (2014) Update on the epidemiology, treatment, and outcomes of carbapenem resistant *acinetobacter* infections. *Chonnam medical journal*, 50(2), P 37.
17. Dortet, L ; Brécharard, L ; Poirel, L et Nordmann, P (2014) Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from blood cultures. *Clinical microbiology and infection*, 20(4), P 341.
18. Martin, C (2016) *Acinetobacter* dans : Denis, F ; Cattoir, V ; Martin, C ; Ploy, M. C et Poyart, C. Bactériologie médicale : techniques usuelles. *Elsevier Masson*. France. P 382, 383, 384.
19. Tomaras, A. P ; Dorsey, C. W ; Edelmann, R. E et Actis, L. A (2003) Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. *Microbiology*, 149(12), P 3473.
20. Guillou, J. M. L et Bergogne-Bérézin, E (2006) Les bactéries du genre *Acinetobacter* revisitées : leur importance actuelle. *Antibiotiques*, Elsevier Masson, 8(2), P 94.
21. Choi, C. H ; Hyun, S. H ; Lee, J. Y ; Lee, J. S ; Lee, Y. S ; Kim, S. A & Lee, J. C (2008) *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein A targets the nucleus and induces cytotoxicity. *Cellular microbiology*, 10(2), P 310.
22. Dijkshoorn, L ; Nemeč, A & Seifert, H (2007) An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature reviews microbiology*, 5(12), P 940.
23. Guillou, J. M. L (2005) Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clinical microbiology and infection*, Elsevier Masson, 11(11), P 868.
24. Crosa, J. H et Walsh, C. T (2002) Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 66(2), P 223.

25. Zadeh, P. K (2009) Formation de biofilm à *Pseudomonas aeruginosa* : évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing. Thèse en vue de l'obtention du doctorat en Microbiologie. France : Université de Toulouse. P 40.
26. Wikipédia, Aspect microscopique après coloration de Gram de *A. baumannii* et *P. aeruginosa*, (en ligne).
27. Bidet, P et Bingen, E (2016) *Enterobacteriaceae* (à l'exception du genre *Yersinia*) dans : Denis, F ; Cattoir, V ; Martin, C ; Ploy, M. C et Poyart, C. Bactériologie médicale : techniques usuelles. Elsevier Masson. France. P 331- 336.
28. Mariani-Kurkdjian, P ; Bonacorsi, S & Bingen, E (2016). Diagnostic bactériologique des infections gastro-intestinales. *Bactériologie Médicale*.
29. Société Marocaine d'Infectiologie Pédiatrique et de la Vaccinologie (2017) Guide pratique des bactéries pathogènes.
30. Benhadj, K. A et Khedher, M (2009) Epidemiological study of *Klebsiella sp.* Uropatogenic strains producing extended spectrum β -lactamase in a Tunisian university hospital. *Pathol Biol*, 148 (1).
31. Vildé, J. L (2003) Infections urinaires nosocomiales de l'adulte. La lettre de l'infectiologue - Tome XVIII. (4). P 157.
32. Wikipédia, Aspect microscopique après coloration de Gram de *K. pneumoniae* et *E. coli*, (en ligne).
33. Sira alicé, D (2008) Épidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi au chu du point G. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Bamako : Université bamako, faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, P 12.
34. Christensen, G. D ; Korones, S. B ; Reed, L ; Bulley, R ; McLaughlin, B et Bisno, A. L (1982). Epidemic *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit: importance of the gastrointestinal tract as a reservoir. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 3(2), P-128.
35. Emonet S ; Harbarth S. et van Delden C (2011) Infection urinaire de l'adulte. *Médecine suisse*. (7). P : 912.
36. Espèces des entérobactéries et pouvoir pathogène, Wikipédia.
37. Bonnet R (2012) Bêta -lactamines et entérobactéries. Paris : ESKA16. P 165.
38. Grare, M (2009) De la genèse d'une nouvelle classe d'antibactériens à base de polyphénols cycliques de type calixarène: études moléculaire (s), cellulaires (s) et

- structurale (s) en vue de l'identification des cibles d'action: le cas du paraganidinoéthylcalix [4] arène. Thèse pour l'obtention du doctorat en Médecine humaine et pathologie. France : Université Henri Poincaré-Nancy 1.
39. Saye, M (2010) Étude de la prescription des antibiotiques dans le CSRef de Bandiagara. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Bamako : Université de bamako faculté de médecine de pharmacie et d'odonto-stomatologie.
 40. Sidibé, B (2021) Évaluation de la prescription de l'antibiothérapie chez les patients hospitalisés dans les services du centre hospitalier et universitaire du Point G. Thèse pour l'obtention de doctorat en Médecine. Mali : Université des sciences, des techniques et des technologies.
 41. Zidouh, A (2019) Le profil bactériologique des bactériémies et l'état de résistance aux antibiotiques. Thèse pour l'obtention de doctorat en médecine. Maroc-Marrakeche : université Kadi Ayyad.
 42. Carle, S (2009) La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*, 42, P10-13.
 43. <https://www.antibiotique.eu/le-fonctionnement-de-la-reacutesistance.html>
 44. Tani, Z. B. A. K. et Arlet, G (2014) Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie*, 62(3), P 169-178.
 45. Maamar, B ; Messadi, A. A & Thabet, L (2019) Profil moléculaire et résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de carbapénèmases chez le brûlé. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 32(3), P 203.
 46. Toudji, A. G ; Djeri, B ; Karou, S. D ; Tigossou, S ; Ameyapoh, Y & De Souza, C (2017) Prévalence des souches d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi isolées au Togo et de leur sensibilité aux antibiotiques. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(3), P 1165.
 47. Nordmann, P (2014) Carbapenemase-producing enterobacteriaceae: overview of a major public health challenge. *Medecine et maladies infectieuses*, 44(2), P 51-56.
 48. Nordmann, P & Poirel, L (2014) Résistances aux antibiotiques émergentes et importantes chez les bactéries Gram négatif: épidémiologie, aspects théoriques et détection. *Rev Med Suisse*, 10, P 902.
 49. Khalifa, A. B. H & Khedher, M (2012) Épidémiologie des souches de *Klebsiella sp.* uropathogènes productrices de β -lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien, 2009. *Pathologie Biologie*, 60(2).
 50. Pitout, J. D ; Nordmann, P, Laupland, K. B & Poirel, L (2005) Emergence of enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in the community. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(1), P 52-59.

51. Pasricha, J ; Koessler, T ; Harbarth, S ; Schrenzel, J ; Camus, V ; Cohen, G et Iten, A (2013) Carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae among internal medicine patients in Switzerland. *Antimicrobial resistance and infection control*, 2(1), P 1-7.
52. Bonnin, R. A ; Nordmann, P et Poirel, L (2013) Screening and deciphering antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*: a state of the art. *Expert review of anti-infective therapy*, 11(6), P 571-583.
53. Nordmann, P ; Poirel, L ; Walsh, T. R et Livermore, D. M (2011) The emerging NDM carbapenemases. *Trends in microbiology*, 19(12), P 588.
54. Nordmann, P ; Dortet, L et Poirel, L (2012) Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm. *Trends in molecular medicine*, 18(5), P 263-272.
55. Potron, A ; Poirel, L ; Rondinaud, E et Nordmann, P (2013) Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* over a 11-year period, 2001 to 2011. *Eurosurveillance*, 18(31).
56. Poirel, L ; Potron, A et Nordmann, P (2012) OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(7), P 1597.
57. Poirel, L ; Pitout, J. D et Nordmann, P (2007) Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences.
58. Bonnin, R. A ; Nordmann, P et Poirel, L (2013) Screening and deciphering antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*: a state of the art. *Expert review of anti-infective therapy*, 11(6), P 571-583.
59. Wachino, J. I et Arakawa, Y (2012) Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: an update. *Drug Resistance Updates*, 15(3), P 133-148.
60. Berçot, B ; Poirel, L et Nordmann, P (2011) Updated multiplex polymerase chain reaction for detection of 16S rRNA methylases: high prevalence among NDM-1 producers. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 71(4), P 442-445.
61. Lemmenmeier, E ; Kohler, P ; Bruderer, T ; Goldenberger, D ; Kleger, G. R et Schlegel, M (2014) First documented outbreak of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in Switzerland: infection control measures and clinical management. *Infection*, 42(3), P 529-53.
62. Ahmanach, S et kaci, O (2019) Étude de la résistance des bacilles à Gram négatif aux β lactamines à partir de divers prélèvements pathologiques. Mémoire de Master : Microbiologie appliquée. Bouira, Algérie : Université Akli Mohand Oulhadj, P 81.
63. Slimi, C et Boucefiane L (2019) Étude du profil épidémiologique des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées dans la région d'Ain

- Defla. Mémoire de master : Microbiologie appliquée. Khemis miliana, Algérie : Université djilali bounaama, P108.
64. Bao, L ; Peng, R ; Ren, X ; Ma, R. L et Wang, Y (2013) Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 29, P 135–139.
65. Lahlou, A ; Chegri, M et L’Kassmi, H (2009) Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d’infections urinaires à l’hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès .*J.antib*, 11(2), P 90-96.
66. Péan, Y ; Goldstein F. W et De Bels, F (2001) Évolution de la sensibilité et épidémiologie de la résistance des entérobactéries de ville au cours des enquêtes Vigil’Roc. *Méd Mal Infect*, 31, P 609-621.
67. Berrezzouk, M (2008) Hémoculture : profil bactériologique de sensibilité aux antibiotiques à propos de prélèvements collectés au laboratoire de l’hôpital Cheikh Zaïed. Maroc-Rabat : Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Mohamed V, P 62-70-80.
68. Ait Miloud Kh (2011) L’infection urinaire : expérience du laboratoire de microbiologie de l’hôpital de spécialiste de Rabat. Thèse de doctorat : pharmacie. Maroc-Rabat : Université Mohammed V, P 11-12, 20, 56, 57, 58, 63, 65
69. Messai, Y ; Iabadene, H ; Benhassine, T ; Alouache, S ; Tazir, M ; Gautier, V ; Arlet G et Bakour, R (2007) Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie*, (56), P 319–325.
70. Nijssen, S ; Florijnb, A ; Bontena, M. J. M ; Schmitz, F. J ; Verhoef, J et Fluit, A. C (2004) β -lactam susceptibilities and prevalence of ESBL-producing isolates among more than 5000 European Enterobacteriaceae isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (24), P 585-591.
71. Balahouane N (2013) Étude de la résistance aux antibiotiques des souches d’entérobactéries isolées à partir de divers prélèvements pathologiques au niveau de l’hôpital de Koléa. Mémoire de master : Microbiologie. Blida, Algérie : Université Saad Dahlab, P 76.
72. Ould Baba Ali, R et Taïbi K (2019) Étude de l’antibiorésistance des entérobactéries productrices de Beta-lactamases à spectre étendu isolées à l’Hôpital de Boufarik. Mémoire de Master : Microbiologie. Blida, Algérie. Université de Blida 1, P 76.
73. Nadmi, H ; Elotmani, F ; Talmi, M et Zerouali, K (2010) Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes communautaires à El Jadida (Maroc). *Médecine et maladies infectieuses*, 40(5), P 303-305.

74. Khaldi, H (2016) Épidémiologie de l'infection à *Acinetobacter baumannii* au CHU de Marrakech. Thèse de Doctorat en Médecine. Université CADI AYYAD. Faculté de Médecine et de Pharmacie. Marrakech.
75. Drault, J. N ; Herbland, A ; Kaidomar, S ; Mehdaoui, H ; Olive, C et Jouanelle, J (2001) Community-acquired *Acinetobacter baumannii*.. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 20(9).
76. Villar, M ; Cano, M. E ; Gato, E ; Garnacho-Montero, J ; Miguel Cisneros, J et Ruíz de Alegría C (2014) Epidemiologic and clinical impact of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection: areappraisal. *Medicine*, 93(5).
77. Magnotti, L. J ; Croce, M. A ; Zarzaur, B. L ; Swanson, J. M ; Wood, G. C ; Weinberg, J. A et Fabian, T. C (2011) Causative pathogen dictates optimal duration of antimicrobial therapy for ventilator-associated pneumonia in trauma patients. *Journal of the American College of Surgeons*. 212 (4), P 476-84.
78. Trifi, A ; Nasri, R ; Abdellatif, S ; Mahjoub, K ; Khedher, S ; Bouguerba, A et Ben lakhal, S (2010) Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique à *Acinetobacter baumannii*: Étude rétrospective sur 48 patients de réanimation. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 4 (1).
79. Motaouakkil, S ; Charra, B ; Hachimi, A ; Benslama, A (2006) Pneumonies nosocomiales à *Acinetobacter baumanii* multirésistant traitées par colistine et rifampicine. *Ann Fr Anesth Réa*, 25 (5).
80. Aissa, k (2012) Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux ATB dans les services de réanimation de l'HMIM V de rabat entre 2006 et 2010. Thèse de doctorat. Rabat-Maroc : Université Mohammed V, Faculté de médecine et de pharmacie.
81. Déziel, E ; Lépine, F ; Dennie, D ; Boismenu, D ; Mamer, O. A et Villemur, R (1999) Liquid chromatography/mass spectrometry analysis of mixtures of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* strain 57RP grown on mannitol or naphthalene. *Biochim Biophys Acta*, (1440), P 244-252.
82. Jensen, P. O ; Bjarnsholt, T ; Phipps, R ; Rasmussen, T. B ; Calum, H. ; Christoffersen, L ; Moser, C ; Williams, P ; Pressler, T ; Givskov, M et Høiby, N (2007) Rapid necrotic killing of polymorphonuclear leukocytes is caused by quorumsensingcontrolled production of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, (153), P 1329-1338.
83. Dia, M. L ; Chabouny, H ; Diagne, R (2015) Profil antibiotypique des bactéries uropathogènes isolées au CHU de Dakar. *Revue Africaine d'Urologie et d'Andrologie*. 1(4), P 112- 17.

84. Motaouakkil, S ; Charra, B ; Hachimi, A et Benslama, A (2006) Pneumonies nosocomiales à *Acinetobacter baumannii* multirésistant traitées par colistine et rifampicine. *Ann Fr Anesth Réa*, 25 (5), P 543.
85. Magnotti, L. J ; Croce, M. A ; Zarzaur, B. L ; Swanson, J. M ; Wood, G. C ; Weinberg, J. A et Fabian, T. C (2011) Causative pathogen dictates optimal duration of antimicrobial therapy for ventilator-associated pneumonia in trauma patients. *Journal of the American College of Surgeons*, 212 (4), P 476.
86. Zrardi, M (2020) Les entérobactéries : épidémiologie et résistance aux antibiotiques, Mémoire de Master : Microbiologie. Constantine, Algérie. Université de Mentouri Constantine-1, P 27
87. Chokri, K (2009) La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* dans l'hôpital Cheikh Zaid à Rabat entre 2006-2008. Thèse du doctorat en pharmacie. P 49.
88. Ben Abdallah, H ; Ben Elhadj Khélifa S. N ; Sahnoun, O ; Elargoubi, A et Mastouri, M (2008) Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas*, *Médecine et maladies infectieuses*, 8(10), P 554-556.
89. Thuong, M ; Arvaniti, K ; Ruimy, R ; De la Salmoniere, P ; Scanvic-Hameg, A ; Lucet, J. C et Régnier, B (2003) Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* and risk factors for carriage acquisition in an intensive care unit. *Journal of Hospital Infection*, 53(4), P 274-282.
90. Jung, R ; Fish, D. N ; Obritsch, M. D et MacLaren, R (2004) Surveillance of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an urban tertiary-care teaching hospital. *Journal of Hospital Infection*, 57(2), P 105-111.
91. Gangoue-Piéboji, J ; Koulla-Shiro, S ; Ngassam, P ; Adiogo, D et Ndumbe, P (2006) Antimicrobial activity against gram negative bacilli from Yaounde Central Hospital, Cameroon. *African Health Sciences*, 6(4), P 232.
92. Mkaouar, D ; Mahjoubi, F et Mezghani (2008) Étude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie (1999–2005). *Méd mal infect*, (38), P 293-298.
93. Memdouh, S et Reddaj, N (2018) Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Constantine. Mémoire master recherche : Microbiologie et hygiène hospitalière. Constantine : Université des frères Mentouri, P 69.
94. Minchella, A ; Molinari, L ; Alonso, S ; Bouziges, N ; Sotto, A et Lavigne, P (2006) Évolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. *Pathologie Biologie*, 58(1).
95. Gunduz S (2018) Antibiotic resistance patterns of urinary tract pathogens in Turkish children. *Glob health res policy*. 3 (10), P 2.

96. Ferjani A (2010) Caractéristiques épidémiologiques et bactériologiques des bactéries uropathogènes isolées dans un milieu pédiatrique. *Archives de pédiatries*. (18), P 232.
97. Moutachakkir M (2014) La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique au CHU de Marrakech. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, (28). P 3.
98. Amine, I. L ; Chegri, M et L'kassmi, H (2009) Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès. *Antibiotiques*, 11(2), P 90-96.
99. Larabi, K ; Masmoudi, A et Fendri, C (2003) Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis: à propos de 1930 cas. *Médecine et maladies infectieuses*, 33(7), P 348-352.
100. De Mouy, D ; Fabre, R et Cavallo, J. D (2007) Infections urinaires communautaires de la femme de 15 à 65 ans : sensibilité aux antibiotiques de *E. coli* en fonction des antécédents : étude AFORCOPI-BIO 2003. *Médecine et maladies infectieuses*, 37(9), P 594-598.
101. Vora, S et Auckenthaler, R (2009) Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique. *Rev Med Suisse*, 5, P 1991.
102. Ebongue, C. O ; Tsiyok, M. D ; Mefo'o, J. P ; Ngaba, G. P ; Beyiha, G et Adio, D (2015) Evolution of antibiotic resistance of *Enterobacteriaceae* isolated at the Douala General Hospital from 2005 to 2012. *The Pan African Medical Journal*, (20), P 227.
103. Talibi, Y (2008) Infections urinaires a l'hopital ibn sina: Experience de laboratoire de bactériologie, sérologie et hygiène 2006-2007 : Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V. P 100.
104. Vora, S et Auckenthaler, R (2009) Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique. *Rev Med Suisse*, (5), P 1991.
105. Vu-Thien, H (1998) Sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les infections urinaires en pédiatrie. *Archives de pédiatrie*, (5). P 267.
106. Abdoulaye, O ; Moumouni, A ; Amadou, M. L. H ; Amadou, O ; Hamidou, A. A. ; Biraïma, A et Mamadou, S (2019) Profil des Germes Uropathogènes Communautaires Isolés en Milieu Pédiatrique à Niamey au Niger. *HEALTH SCIENCES AND DISEASE*, 20(1).
107. SIHEM, M (2015) Profil de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries uropathogènes (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*): Mémoire de Master. Université des frères Mentouri Constantine-Algérie, P 44.

- 108.** Mahamat, A ; Lavigne, J. P ; Bouziges, N ; Daurès, J. P et Sotto, A (2006) Profils de résistance des souches urinaires de *Proteus mirabilis* de 1999 à 2005 au CHU de Nîmes. *Pathologie biologique*, 54(8-9), P 460.
- 109.** Bakour, S ; Touati, A ; Sahli, F ; Ameer, A et Haouchine, D (2013) Antibiotic resistance determinants of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Algeria. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 76(4), 529-31.
- 110.** Uwingabiye , J ; Frikh , M. ; Lemnouer , A ; Bssaibis , F ; Belefquih , B et 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*.
- 111.** Crémieux, A. C ; Lefèvre, L. A ; Jarlier, V ; Ploy, M. C ; Buisson, Y et Commission, V. I. I (2020) Rapport 20-03. La lutte contre l'antibiorésistance dans la politique nationale de santé. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 204(9), 955-960.
- 112.** Elmouali, A (2012) Hémoculture : profil bactériologique et antibiorésistance à l'hôpital Ibn Sina de Rabat (Doctoral dissertation).
- 113.** Touati M (2013) Antibiorésistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar. Annaba.
- 114.** Saderi, H (2010) Detection of Metallo- β -lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in Tehran, Iran, LABMEDICINE. (3).
- 115.** Achari, N ; Benchaita A ; Benchikh et fegoun, R (2016) *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Constantine. Mémoire pour l'obtention de diplôme d'état de Docteur en Pharmacie : pharmacie. Constantine : Université de constantine3.
- 116.** Saïdani, M ; Boutiba, I ; Ghozzi, R ; Kammoun , A et Ben Redjeb, S (2006) Profil bactériologique des bactériémies à germes multirésistants à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis. *Med Mal Infect*, (36), P 163-166.
- 117.** Arsalane, L ; Qamouss, Y ; Chafik, A ; Boughalem, M et Louzi, L (2010) Épidémiologie des bactéries multirésistante dans un service de réanimation polyvalente d'un hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006et septembre 2009. *Les Technologies de laboratoire*, 5(21).
- 118.** Terki hassaine, S (2016) Diagnostic bactériologique des infections urinaires à *Pseudomonas aeruginosa* dans les services de réanimation et d'urologie au niveau du C.H.U de Tlemcen, mémoire En vue de l'obtention du Diplôme de master En Microbiologie : Tlemcen : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers.

119. Raja, N. S (2019) Oral treatment options for patients with urinary tract infections caused by extended spectrum β -lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae*. *Journal of infection and public health*, (12), P 6.
120. Zenati, F ; Barguigua, A ; Nayme, K (2019) Characterization of uropathogenic ESBL producing *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in western Algeria. *Journal of infection in developing countries*, (13).
121. Djouder, I et Bouzeroura, M (2017) Les infections urinaires à bacilles Gram négatif. Mémoire Master Recherche, P 67-91.
122. Ajdakar, S (2015) Les entérobactéries productrices de betalactamases à spectre élargi (BLSE) : Profil épidémiologique actuel et conséquences thérapeutiques. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine, P 22-25.
123. Mekhoukh, N (2017) La place des entérobactéries productrices de BLSE isolées des infections urinaires du CHU de Sétif. 1 ère journée de microbiologie de Constantine.
124. Shashwati, N ; Kiran, T et Dhanvijay, A. G (2014) Study of extended spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae* and antibiotic coresistance in a tertiary care teaching hospital. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 5 (1).
125. El Bouamri, M (2017) Étude épidémio-moléculaire des entérobactéries productrices de β lactamases a spectre élargi au CHU de Marrakech. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie, P 102.
126. Quachaou, A (2011) Entérobactérie productrice des bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie et profil de résistance aux antibiotiques. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie, P 27.
127. Foulal, L (2016) Profil épidémiologique des entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre élargi diagnostiquées au sein du laboratoire de microbiologie du CHU de Rabat. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie, P 78-83.
128. Rahal, K ; Belouni, R ; Tali Maamar, H (2016) Surveillance de la résistance aux antibiotiques. 17ème rapport d'évaluation.
129. Meier, S ; Weber, R et Zbinden, R (2011) Extended-spectrum β -lactamase-producing Gram-negative pathogens in community-acquired urinary tract infections: an increasing challenge for antimicrobial therapy. *Infection*, (39).
130. Scott, T ; Richard, G ; Marin, H.; Catherine, C ; Jordi, R ; Jean, Massim, A ; Tobias, W ; Bernard, C ; Helmut, O ; Esther, C ; Antoni, T ; Francesco, M ; Garrett, E et Vandana, M (2015) An international multicenter retrospective study of *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial pneumonia impact of multidrug resistance. *Critical Care*, 19 (1), P 1-8.

131. Clotilde, N ; André, B ; Noel, A ; Gérald, S ; Basile, K ; Fidèle, B et Romain, T (2015) Écologie bactérienne de l'infection nosocomiale au service de réanimation de l'hôpital La quintinie de Douala. Cameroun. *Pan African. Médical Journal*, 14 (140).
132. Bertrand X ; Slekovec C ; Cholley P et Talon D (2011) Épidémiologie des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. *Revue Francophone des Laboratoires*. (435), P 35-40.
133. Joly-Guillou, M et Bergogne-Bérézin, E (2006). Les bactéries du genre *Acinetobacter* revisitées : leur importance actuelle. *Antibiotiques*, P 94-99.

ANNEXES

Annexe 1.

Fiche des renseignements des prélèvements vierge pour les examens bactériologiques



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 MINISTERE DE LA DEFENSE NATIONALE
 CINQUIEME REGION MILITAIRE ZIGHOUT YUCEF
 HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE
 ABDELALI BENBAATOUCHE DE CONSTANTINE
 LABORATOIRE CENTRALE - UNITE DE MICROBIOLOGIE ET DE PARASITOLOGIE
 Tél : 031.95.81.81/82.82 Poste : 50-551



Fiche de renseignement des prélèvements pour examens bactériologiques

A fin de poster un diagnostic fiable, veuillez SVP reporter ci-joint les renseignements suivants :

▪ Identification du patient :

N° Consultation :

Nom : Prénom : Age : Sexe :

Service :

▪ Les renseignements cliniques et paracliniques :

Présence de fièvre : Non Persistence Intermittente Sudoroalgique ou au long court
 Frissons Diabète Présence de sonde urinaire Grossesse Corticothérapie Traitement immunosuppresseur
 Processus tumoral avec traitement en cours Amaigrissement Sueurs nocturnes Malade en Postopératoire
 Autres signes cliniques

Si Oui,

Antibiothérapie : Non En cours Arrêtée depuis de 72 heures Quel Antibiotique(s) ?Présence de prothèse : SiteTaux de la CRP : Non demandé CRP (≤ 6) CRP (> 6) Taux des Globules blancs : Non demandé Valeur référenciée normale (\geq) 12000/mm³

Diagnostic suspecté

Résultats microbiologiques de prélèvement(s) antérieur(s) envoyé(s) au labo de Microbiologie :

Si oui, SVP indiquez : - Prélèvement N°1 : N° de résultat bactériologique

- Prélèvement N°2 : N° de résultat bactériologique

▪ Type du prélèvement :

LCS Urine Sonde urinaire Plus & ponction de kyste Hémoculture Ponction Abscès L. ascite L. Pleurale L. péritonéal PDP KT central KT périphérique L. dialyse péritonéale Gorge Crachats L. Péricardique Prélèvement vaginal Prélèvement vulvaire Sperme Selles L. articulaire Aspiration endotrachéale Aspération bronchique non protégée L. phlegmon amygdalien Biopsie de tissu Biopsie osseuse L. gastrique Sécrétion rhinopharyngées Tubage gastrique Autres

- Sites du prélèvement (pour Plus-Abscès-Biopsie)

- Autre(s) type(s) de prélèvement (si ne figurant pas ci-dessus)

- Recherche spécifique supplémentaires : BK Brucelle Chlamydia Mycoplasme Autres

HMRUC LE :

Signature et griffe du médecin traitant

▪ Partie réservée au laboratoire de microbiologie :

- Date de réception :

- N° identifiant du malade :

Annexe 2. Milieux de culture stériles

GNO (Gélose Nutritive Ordinaire)

Milieu de culture qui permet la croissance et la numération des microorganismes non exigeants.

Pour un litre d'eau distillée :

- extrait de viande de bœuf.....3g
- Peptone.....10g
- Extrait de levure.....3g
- Chlorure de sodium.....5g
- Agar.....18g

pH=7.2



Gélose au sang frais

Milieu de culture qui permet la croissance des bactéries exigeantes grâce à la présence de facteurs de croissance contenus dans le sang. En fonction de l'origine des hématies, le caractère hémolytique des bactéries peut varier.

Pour un litre d'eau distillée

- Peptone de viande.....10g
- Peptone de caséine.....5g
- Extrait de levure.....3g
- Chlorure de sodium.....5g
- Agar.....18g
- Sang de mouton.....50 ml

pH=6.9



Gélose au sang cuit

La gélose au sang cuit permet de libérer par la cuisson des facteurs de croissance supplémentaires, ces géloses sont souvent supplémentées en vitamines, elles permettent la croissance des bactéries exigeantes.

Pour un litre d'eau distillée :

- Peptone de viande.....7.5g
- Peptone de caséine.....7.5g
- Amidon de maïs.....1g
- Phosphate dipotassique.....4g
- Chlorure de sodium.....5g
- Hémoglobine.....10g
- Agar.....10g
- Sang de mouton.....50 ml

pH = 6.9



Gélose Hektoen

Milieu de culture sélectif par rapport à sa composition en sels biliaires qui inhibent la croissance des bactéries à Gram positif et assurent la croissance des bactéries à Gram négatif, il est également différentiel par rapport à la fermentation du lactose.

- Peptonepepsique de viande.....15g
- Extrait de viande.....3g
- Extrait de levure.....3g
- Lactose.....12g
- Salicine.....2g
- Saccharose.....12g
- Chlorure de sodium.....5g
- Sels biliaires.....4g
- Bleu de Bromothymol.....0.064g
- Fuchsine acide.....0.1g
- Agar.....18g

pH=7.4



Gélose Chapman (Mannitol Salt Agar)

C'est un milieu de culture sélectif par rapport à sa forte teneur en Na Cl ce qui assure la croissance des bactéries halophiles et halotolérants, il différentiel par rapport à la fermentation du mannitol.

- Peptone.....11g
- Extrait de viande.....1g
- Chlorure de sodium.....75g
- Mannitol.....10g
- Rouge de phénol.....0.025g
- Agar.....15g

pH=7.4



Gélose Cystine Lactose Electrolyte Deficient (CLED)

La gélose CLED est un milieu non sélectif lactosé qui permet la culture des bactéries non exigeantes, et différentielle par rapport à la fermentation du lactose.

- Peptones.....4 g
- Extrait de viande.....3 g
- Hydrolysât tryptique de caséine....4g
- L-cystine.....0.128 g
- Lactose.....10 g
- Bleu de Bromothymol0.002g
- Agar.....15 g
- Eau distillée.....1 L

pH= 7.3



Gélose Mueller-Hinton (MH)

Milieu relativement riche, mais qui reste un milieu de base qui permet la culture des bactéries non exigeantes. Il est utilisé dans l'antibiogramme standard (principale utilisation).

- Infusion de viande de bœuf300ml
- Peptone de caséine.....17.5g
- Amidon de maïs.....1.5g
- Agar.....10g

pH= 7.4



Annexe 3.

Coloration de Gram (coloration double)

Un frottis coloré au Gram représente l'analyse la plus courante pour l'identification et la classification des bactéries, elle est effectuée sur les liquides biologiques, les excréta et les colonies-bactériennes.

Objectif

- ❖ Détection et classification des bactéries dans un échantillon.
- ❖ Valeur clinique du test : la coloration de Gram permet de définir le diagnostic des infections bactériennes dans les liquides biologiques et les excréta.

Principe

- ❖ Le cristal violet (ou violet de Gentiane) est le colorant primaire, qui va colorer la totalité du frottis en bleu. Le mordantage est effectué par une solution de Lugol (iode), qui fait pénétrer le cristal violet dans les cellules et le fait adhérer aux organismes Gram-positifs. Un mélange d'acétone et d'alcool agit comme décolorant, qui élimine le violet de Gentiane de tout ce qui est fixé sur le frottis, sauf des bactéries Gram positive.
- ❖ La safranine permet une contre-coloration, qui va colorer toutes les structures décolorées, dont les polynucléaires, le mucus et les organismes Gram négatif, les organismes à Gram négatif vont prendre une couleur rose plus foncée que les polynucléaires.
- ❖ La différence de comportement des bactéries lors de la coloration de Gram est due à des différences dans la perméabilité de la paroi cellulaire des organismes à Gram négatif et Gram positif. La rétention du violet de Gentiane par les organismes à Gram positif est vraisemblablement aussi favorisée par la présence d'un protoplasme plus acide, qui va fixer le premier colorant (avec l'aide de l'iode).

Échantillon

- ❖ Type d'échantillon : au moins 0,5 ml de LCR ou de tout autre fluide biologique.
- ❖ Stérilité : éviter de contaminer l'échantillon avec des bactéries de l'environnement.
- ❖ Délai optimal entre le prélèvement et le test : les échantillons de LCR doivent être examinés sans retard.

Procédure

Avant de procéder à la coloration de Gram, une préparation de frotti indispensable, elle dépend principalement du type de fluide biologique à examiner, le frotti doit être épais et sera fixé à la chaleur ou à l'alcool.

- ❖ Fixation à la chaleur : laisser le frottis sécher complètement à l'air libre, puis passer la lame (frottis sur la face supérieure) trois fois dans la flamme d'une lampe à alcool, laisser le frottis refroidir avant de le colorer.
- ❖ Fixation à l'alcool : laisser le frottis sécher complètement à l'air libre, ensuite fixer avec une ou deux gouttes d'éthanol ou de méthanol absolu et laisser l'alcool sur la lame au moins deux minutes ou jusqu'à ce qu'il s'évapore.
- ❖ L'étape de la coloration de Gram débute par le déposer la lame sur le support de coloration et recouvrir l'échantillon de violet de Gentiane pendant 30 secondes à 1 minute
- ❖ Rincer à l'eau filtrée propre, puis retirer l'excès d'eau en agitant délicatement la lame.
- ❖ Recouvrir l'échantillon avec la solution iodée de Lugol pendant 30 secondes à une minute.
- ❖ Rincer à l'eau filtrée propre, puis retirer l'excès d'eau en agitant délicatement la lame.
- ❖ Incliner la lame à un angle de 45° et décolorer en rinçant avec la solution d'acétone-alcool jusqu'à ce que le filet de liquide n'emporte plus de couleur violette. Rincer immédiatement à l'eau propre, puis retirer l'excès d'eau.
- ❖ Recouvrir l'échantillon de safranine pendant 30 secondes à une minute.
- ❖ Rincer à l'eau propre, puis retirer l'excès d'eau et laisser sécher.
- ❖ Examiner le frottis au microscope, d'abord à l'objectif x40 pour vérifier la qualité de la coloration et la répartition du matériel biologique, puis à l'objectif à immersion x100 pour analyser les cellules.

Lecture après la coloration à Gram

- ❖ Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet foncé.
- ❖ Les levures apparaissent en violet foncé.
- ❖ Bactéries à Gram négatif apparaissent en rouge-rosé clair à foncé.
- ❖ Les noyaux des polynucléaires apparaissent en rouge.
- ❖ Les cellules épithéliales apparaissent en rouge-rosé clair.

Contrôle de qualité

- ❖ Toujours vérifier la qualité des nouveaux lots de colorants et réactifs en colorant un frottis d'organismes connus à Gram positif et à Gram négatif.

- ❖ Vérifier une fois par semaine que les solutions de colorant ne contiennent ni précipité ni contamination.

Réactifs de la coloration de Gram

❖ Violet de Gentiane

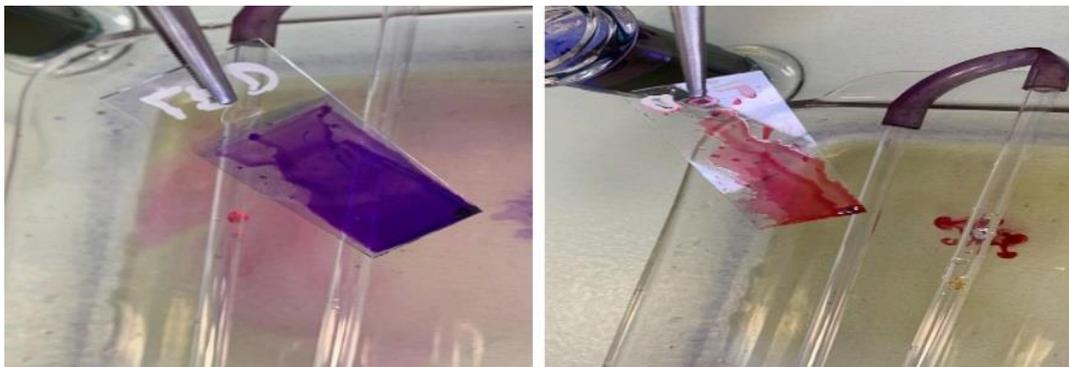
- Phénol 2.0 g
- Violet de gentiane 1.0 g
- Éthanol à 90° 10 ml
- Eau distillée 100 ml

❖ Lugol

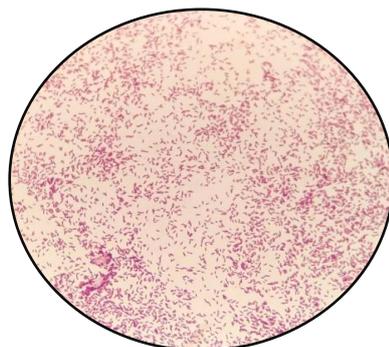
- Iodure de potassium 2.0 g
- Iode métalloïde 1.0 g
- Eau distillée 300 ml

❖ Fuchsine de Ziehl

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



Photographie représentant la coloration de Gram.



Observation microscopique après coloration de Gram.

Annexe 4.

Numération leucocytaire du LCR

Objectif

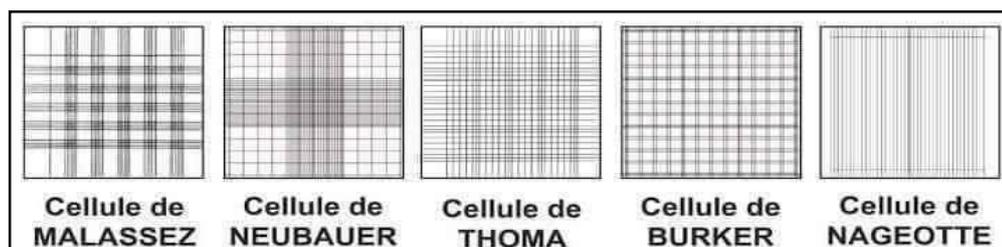
- ❖ Déterminer la numération leucocytaire dans le LCR.
- ❖ Valeur clinique : la numération leucocytaire du LCR permet d'orienter le diagnostic de méningite et d'aider à différencier entre une méningite virale ou bactérienne.

Principe

- ❖ Le LCR est déposé dans une cellule de numération pour lecture microscopique, un quadrillage visible permet la numération cellulaire et le calcul subséquent de la concentration cellulaire par ml de liquide.
- ❖ On peut utiliser du bleu de toluidine pour colorer les lymphocytes et les noyaux des polynucléaires, les globules rouges ne seront pas colorés.

Procédure

- ❖ Recouvrir une cellule de numération microscopique propre avec une lamelle propre.
- ❖ Mélanger 9 gouttes du LCR avec une goutte d'acide acétique dans un tube dans le cas d'un LCR hémorragique pour lysées les hématies.
- ❖ Remplir la cellule de numération avec une petite quantité du mélange précédemment préparé, à la pipette automatique ou avec une pipette Pasteur à bout effilé, ou encore avec un tube capillaire.
- ❖ Laisser reposer la cellule de numération à plat sur la platine du microscope, pendant au moins deux minutes pour assurer la sédimentation des cellules.
- ❖ Fermer le diaphragme du condenseur pour permettre un bon contraste. Si nécessaire, passer à l'objectif x40 pour s'assurer que les cellules comptées sont bien des globules blancs et estimer ensuite le pourcentage de lymphocytes et de polynucléaires



Cellules de numération microscopique.

Annexe 5. **Coloration au bleu de méthylène**

Principe

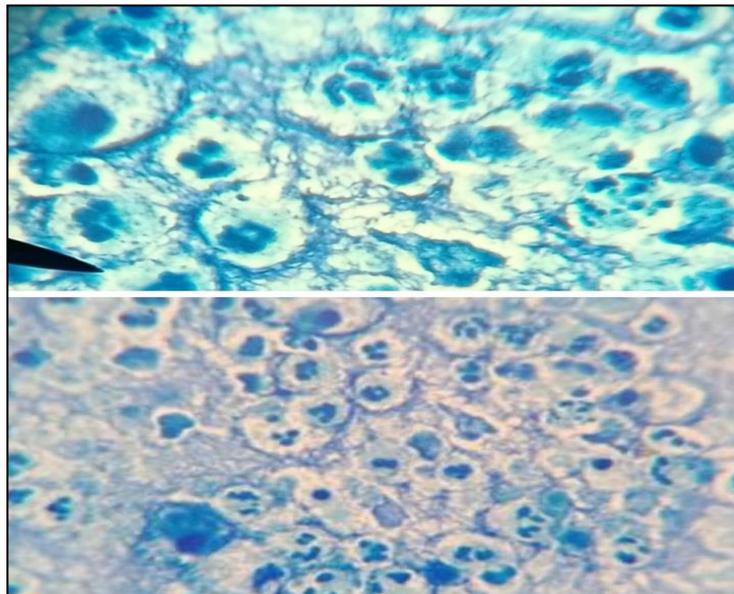
La coloration au bleu de méthylène (BM) est une coloration très simple qui permet d'observer les bactéries, les champignons, mais aussi les différents éléments cellulaires présents dans l'échantillon.

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.



Photographie représentant une observation microscopique x100 à coloration au bleu de méthylène d'un frotti de pus d'une plaie.

Annexe 6.
Tableaux de lecture des résultats de la galerie API 20^E

Tests	Composants actifs	QTE	Réactions-enzymatique	Résultats	
				Négatif	Positif
OPNG	2-nitrophényl-β-D-galactopyranoside	0,223	B-galactosidase	incoloré	Jaune (1)
<u>ADH</u>	L-arginine	1,9	Arginine Dihydrolase	jaune	rouge-orangé (2)
<u>LDC</u>	L-lysine	1,9	Lysine Décarboxylase	jaune	rouge-orangé (2)
<u>ODC</u>	L-ornithine	1,9	Ornithine Décarboxylase	jaune	rouge (2)
<u>CIT</u>	Trisodium citrate	0,756	utilisation du Citrate	vert pâle-jaune	bleu-vert – bleu (3)
<u>H₂S</u>	Sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incoloré - grisâtre	dépôt noir – fin liseré
<u>URE</u>	Urée	0,75	Uréase	jaune	rouge – orangé (2)
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane Déssminase	TDA-immédiate	
				jaune	marron - rougeâtre
IND	L- tryptophane	0,19	production d'indole	JAMES-immédiate	
				incoloré	rose
VP	Sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne	VP 1 + VP2/ 10min	
				incoloré – rose pâle	rose – rouge (5)
GEL	Gélatine	0,6	Gélatinase	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	fermentation – oxydation (GLUcose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation – oxydation (MANnitol) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
INO	Inositol	1,9	fermentation – oxydation (INOsitol) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation – oxydation (SORbitol) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation – oxydation (RHAmnose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation – oxydation (SACHarose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
MEL	D-mélibiose	1,9	fermentation – oxydation (MELibiose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
AMY	Amygdaline	0,57	Fermentation – oxydation (AMYgdaline) (4)	bleu – bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation – oxydation (ARAbinose) (4)	bleu – bleu-vert	jaune

(1) : une très légère couleur jaune également positive, (2) : une couleur orange apparaissant après 36-48h d'incubation doit être considérée négative, (3) : lecture dans la cupule (zone aérobie), (4) : la fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule, (5) : une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

Annexe 7. Catalogue analytique.



07223 C

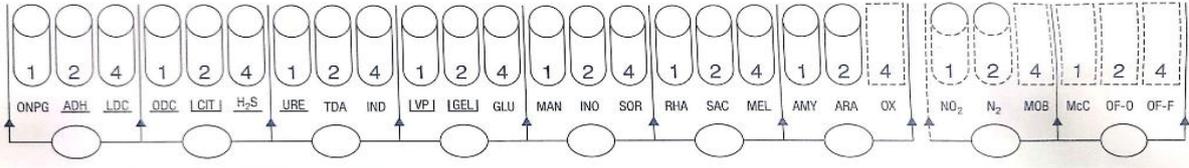
API® 20 E

REF : _____ / _____ / _____

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

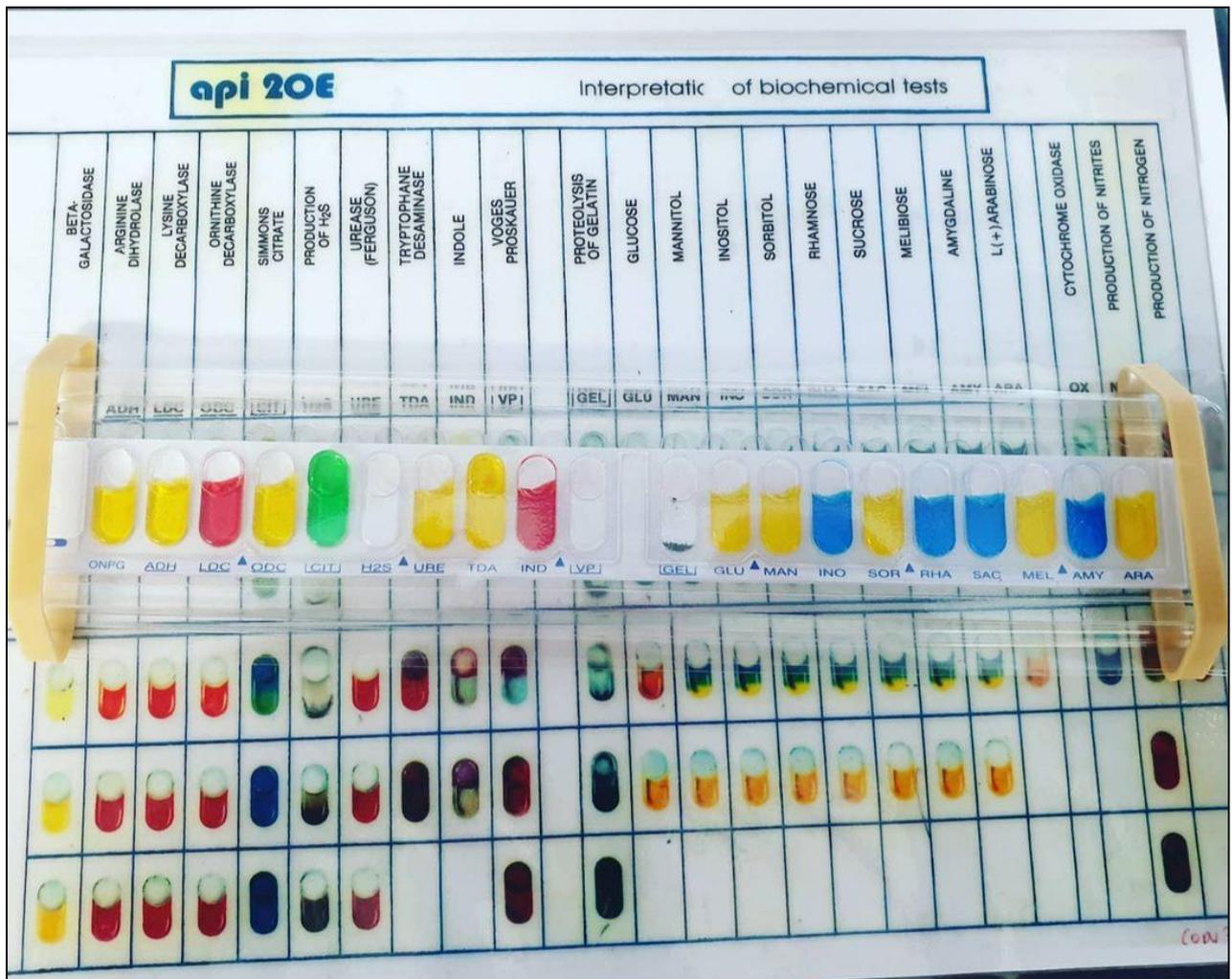
BIOMÉRIEUX

Biomé_20101219
Imprimé en France / Printed in France



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

Ident. / Ταυτοποίηση :



Annexe 8. Résultats de la galerie API 20^E

Tests biochimiques	Espèces bactériennes			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
ONPG (orthonitrophényl-betaDgalactopyranoside)	+	+	-	-
ADH (arginine dihydrolase)	-	-	+	-
LDC (lysine décarboxylase)	+	+	-	-
ODC (ornithine décarboxylase)	+	-	-	-
CIT (assimilation de nitrate)	-	-	+	+
H2S (production d'hydrogène sulfuré)	-	-	-	-
UREA (uréase)	-	+	-	-
TDA (tryptophane désaminase)	+	-	-	-
IND (production indole)	+	-	-	-
VP (production d'acétoïne)	-	+	-	-
GEL (synthèse d'une gélatinase)	-	-	+	-
GLU (glucose)	+	+	-	+
MAN (mannitol)	+	+	-	-
INO (inositol)	-	+	-	-
SOR (sorbitol)	+	+	-	-
RHA (rhamnose)	+	+	-	-
SAC (saccharose)	-	+	-	-
MEL (mélibiose)	+	+	-	+
AMY (amygdaline)	-	-	-	-
ARA (arabinose)	+	+	-	+

Annexe 9.
Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les 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)... Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés. A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).
Cefazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	
Cefalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Cefotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Ceftriaxone	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Imipénème/Méropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h, Méropénème : 1g toutes les 8h. La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Ertapénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
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.
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	

Annexe 10.

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *P. aeruginosa* et *A. baumannii*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcline	75 µg	14	...	15	128	64	<p>Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'AZM (voir chapitre tests complémentaires).</p> <p>L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises.</p> <p>Ceftazidime et Aztréonam : 1g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h.</p> <p>Il est recommandé d'informer les infectiologues, pharmaciens, comité des antibiotiques et CLIN de l'hôpital, de ces nouveaux critères d'interprétation.</p> <p>Consulter le clinicien, en particulier pour les patients spécifiques.</p>
Ticarcline + ac.clavulanique	75/10µg	14	...	15	128/2	64/2	
Pipéracilline	100 µg	17	...	18	128	64	
Ceftazidime	30 µg	14	15 - 17	18	32	16	8	
Aztréonam	30 µg	15	16 - 21	22	32	16	8	
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 ^{ème} - 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 ^{ème}
Colistine	10µg	10	11	8	4	2	

Annexe 11.
Fiche d'antibiogramme des entérobactéries



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
MINISTRE DE LA DEFENSE NATIONALE
CINQUIEME REGION MILITAIRE ZIGHOUT YUCEF
HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE
ABDELALI BENBAATOUCHE DE CONSTANTINE



LABORATOIRE CENTRALE
Tél. : 031.95.81.81/82.82

UNITE DE MICROBIOLOGIE
Poste : 50-551

Nom : Age : Ans N° :
Prénom : Service :
Nature de prélèvement :

EXAMEN DIRECT:

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

ANTIBIOGRAMME POUR ENTEROBACTERIES

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

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

Ali mendjeli, le :

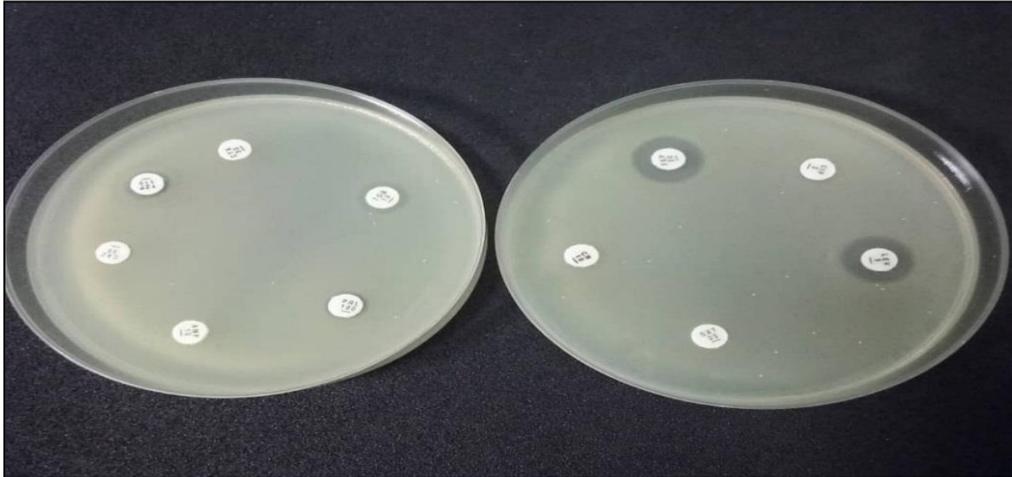
LE MEDECIN,

Annexe 12.

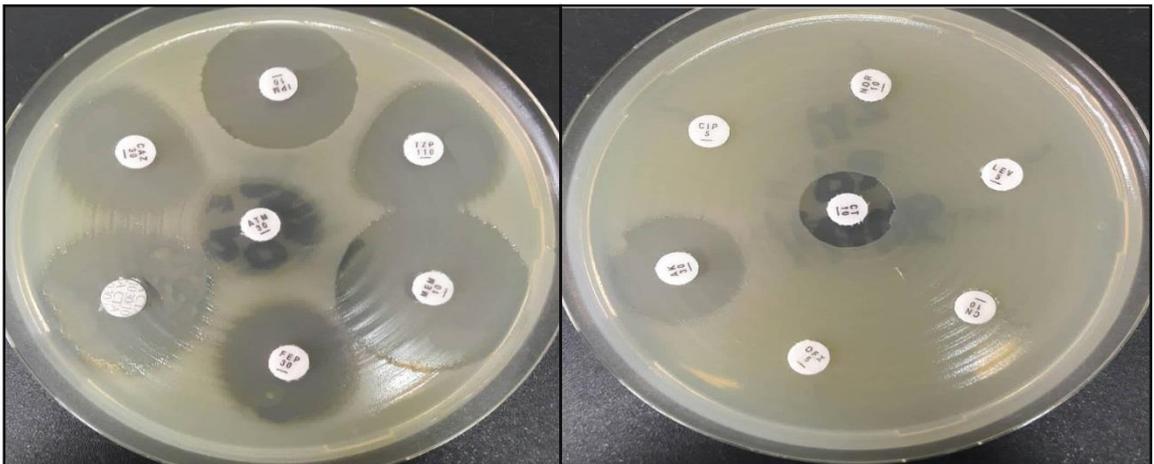
Fiche d'antibiogramme des bacilles à Gram négatif non fermentaires

		الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية MINISTRE DE LA DEFENSE NATIONALE 5° REGION MILITAIRE CHAHID ZIGHOUT YUCEF HOPITAL MILITAIRE REGIONAL UNIVERSITAIRE BENBAATOUCHE ABDELALI DE CONSTANTINE LABORATOIRE CENTRAL - UNITE DE MICROBIOLOGIE			
		Poste : 50-551			
<u>N :</u>		<u>Prénom :</u>		<u>Age :</u>	
<u>Signature du Prélèvement :</u>		<u>Service :</u>		<u>N° :</u>	
<u>DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :</u>					
<u>Antotype résistance :</u>					
ANTIBIOGRAMME POUR BACILLES A GRAM NEGATIF NON FERMENTAIRES					
PENICILLINES			AMINOSIDES		
Carbapénème			Amikacine		
Carbapénème-ac. clavulanique			Gentamicine		
Imipénème			Tobramycine		
Imipénème-ac. clavulanique			Nétilmicine		
CEPHALOSPORINES			QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES		
Ceftazidime			Ciprofloxacine		
Céfépime			Lévofloxacine		
Cefpirome			DIVERS		
MONOBACTAME			Colistine		
Aztréonam			Rifampicine		
CARBAPENEMES			Fosfomycine		
Imipénème			Doxycycline		
Méropénème			Triméthoprim- Sulfaméthoxazole		
Doripénème					
S : Sensible, I : Intermédiaire, R : Résistant					
Constantine le :			<u>LE MEDECIN</u>		

Annexe 13.
Résultats de quelques antibiogrammes



Photographie d'antibiogramme d'une souche d'*Acinetobacter baumannii* multirésistante isolée d'un prélèvement urinaire d'un patient âgé de 60 ans.



Photographie d'un antibiogramme d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* isolée d'un pus.

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

Filière : Écologie et Environnement

Spécialité : Écologie Microbienne

Bacilles à Gram négatif :

caractéristiques épidémiologiques et résistance aux antibiotiques

Résumé

Les espèces de bacilles à Gram négatif (BGN) les plus importantes en clinique demeurent les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*. L'émergence et la diffusion de la résistance aux antibiotiques représentent une menace majeure de santé publique. Le but de ce travail était de déterminer les caractéristiques épidémiologiques des bacilles à Gram négatif, d'évaluer leur profil de résistance aux différentes familles d'antibiotiques et d'identifier les bactéries multirésistantes. L'étude était réalisée au sein du laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital Militaire Universitaire de Constantine, portant sur 653 souches isolées dans divers prélèvements et conduite durant l'année 2020-2021 (étude prospective) et du 14 Avril au 04 Mai 2021 (étude rétrospective). Durant la période stage, les souches bactériennes appartenant aux BGN ont été isolées indiquant une prédominance des entérobactéries (79%) dont *E. coli* (39%). Sur un total de 134 souches bactériennes appartenant aux bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGNF), *P. aeruginosa* a atteint 81% contrairement à *A. baumannii*. La répartition des espèces selon le sexe montre que le taux d'*E. coli* et *K. pneumoniae* est plus élevé chez les femmes (76,35%, 64,24%), chez les BGNF, le sexe masculin prédomine (62%). La plupart des infections sont observées chez le sujet âgé et les souches sont souvent isolées à partir de pus et d'urines. Concernant la répartition des infections selon les services, une prédominance d'*E. coli* et *K. pneumoniae* dans le service d'urologie est observée alors que le service de réanimation a abrité 40% d'*A. baumannii*. Cependant des taux de résistance élevés aux antibiotiques sont observés chez *E. coli* et surtout chez *A. baumannii* pour les antibiotiques actifs sur ces germes (céphalosporines, fluoroquinolones, aminosides, carbapénèmes et autres). Le taux de résistance à la colistine a atteint 6%. Le taux global de multirésistance est de 28,63%, plus élevé chez *A. baumannii* (76%), observé le plus au niveau du service de réanimation (24%). L'émergence des bactéries résistantes voire multirésistantes aux antibiotiques (BMR) en milieu hospitalier est un phénomène préoccupant. La lutte contre les bactéries multirésistantes constitue un enjeu majeur de santé publique.

Mots clés : Bacille à Gram négatif ; Épidémiologie ; Antibiorésistance.

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : *M^{me} ZERMANE F* (Maître Assistante A- UFM Constantine-1).

Rapporteur : *M^{me} HECINI A* (Maître de Conférences A- U Saleh Boubnider Constantine 3).

Examinatrice : *M^{me} MERGOUD L* (Maître Assistante A- UFM Constantine-1).

Élaboré par : *M^{lle} RIACHI Ilia Nour & M^{lle} BARACHE Hadil*

Année universitaire : 2020-2021

