



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Ecologie microbienne

Intitulé :

---

## Place d'*Escherichia coli* dans les infections nosocomiales

---

Présenté et soutenu par : REDJEM Rokaya

Le : 04/07/2017

MEGHEZZI Yasser

Jury d'évaluation :

**Président du jury :** Mr R. CHABBI (MAA - UFM Constantine).

**Rapporteur :** Mme N. RIAH (MCB - UFM Constantine).

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

*Année universitaire*  
*2016 - 2017*

## **Remerciements**

*Merci à*

*Dieu*

*Le tout puissant qui nous a doté de volonté et  
de patience et le courage et la détermination nécessaire pour  
finaliser ce travail de recherche qui compte tant pour notre avenir  
intellectuel et professionnel*

*À notre encadreur madame **RAH NASSIRA***

*De votre enseignement brillant et précieux, nous gardons les meilleurs souvenirs. Nous sommes toujours impressionnées par vos qualités humaines et professionnelles.*

*Votre grand savoir scientifique, votre rigueur au travail, votre vision, font de vous le maître idéal et nous donne espoir et envie de nous battre.*

*Nous sommes honorés et très reconnaissant de vous avoir comme un encadreur de notre travail.*

*Veillez trouver ici, madame, l'expression de notre profond respect.*

*À notre Président du jury **CHABBI RABAH***

*Pour avoir accepté de présider le jury.*

*À notre Examinatrice **GACI MERIEM***

*Pour avoir accepté d'examiner ce travail.*



## *Dédicaces*

### *A ma très chère mère FATIMA*

*Vous m'avez toujours appris le sens de la responsabilité, de la raison, du devoir et de la confiance en soi.*

*Au-delà des mots et des phrases, aucune parole ne saurait exprimer mon éternel attachement, mon profond amour, ma perpétuelle affection et l'infinie gratitude que je vous dois. Car votre place dans mon cœur est particulière, nulle ne dédicace et nulle parole ne peut exprimer mon profond amour à votre égard. Je sais que vous êtes toujours fier de moi et j'espère que vous le serez plus aujourd'hui.*

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.*

*Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.*

*Votre fille qui vous aime très fort "ROKAYA"*

### *A mon défunt père ABDALLAH*

*A votre mémoire papa.*

*Dans mon souhait serais votre présence avec moi.*

*Vous êtes pour moi un sujet de fierté.*

*Que dieu, dans sa grande miséricorde vous garde et vous alloue une place de choix dans son royaume céleste.*

*Votre fille qui vous aime très fort "ROKAYA"*

### *A ma sœur MALIKA et sa famille, mon frère BILLEL et sa famille*

*Qui m'ont soutenue tout au long de ce travail par leurs précieux encouragements.*

### *A mes amie HOUDA, SOFIA, SAOUSSSEN, IBTISSEM, et SOUHA*

*Je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur lesquelles je peux compter.*

*En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble.*

### *À notre encadreur madame RIAH NASSIRA*

*Pour nous avoir aidé à réaliser ce travail de recherche, pour les orientations suggérées, les remarques, les suggestions, les précieux conseils, le temps accordé aux premières lectures de ce mémoire.*

*Un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis.*

*Vous avez toujours été présente*

*Que ce travail soit un témoignage de notre gratitude et notre profond respect.*

# **DEDICACE**

Je dédie ce modeste travail :

## **A mon Père Taoufik**

Qui a œuvré pendant des années à notre bien être et qui a Consentit de bien lourds efforts pour nous permettre de mener à bien nos études. Je tiens à lui témoigner ma profonde affection

## **A ma Mère Samia**

Son soutien tout au long de mes études sa bienveillance et ses conseils ont été très précieux, je tiens à lui témoigner ma profonde affection et reconnaissance

## **A mes Frères Amine, Charaf Eddine et Mohamed**

### **Et ma grande mère Zakia**

A qui je témoigne ma profonde affection, toujours présent, ils m'ont toujours assisté et cru en moi

## **A mes tantes, mes oncles et mes cousins**

En reconnaissance de votre amour et de votre soutien moral, je vous exprime toute ma gratitude. Vos conseils avisés m'ont conduit jusqu'au bout de ce travail.

Que votre simplicité et générosité puissent être pour nous des modèles que nous devons nous approprier !

Je remercie toutes les personnes qui m'ont formé lors de mon parcours étudiant, et notamment tous les enseignants sans exception durant ces cinq ans.

Merci à **Allah** éternel, avec qui tout est possible.

A tous ceux qui j'aime.



# RÉSUMÉ

## Résumé

L'objectif principal de notre étude était d'isoler et d'identifier des souches d'*E.coli* associées aux infections nosocomiales par l'étude de divers prélèvements pathologiques (urine, pus, LCR,...) chez des patients hospitalisés au niveau de différents services de l'HMRU de Constantine (réanimation, médecine interne, chirurgie générale,...), et la détermination de la place d'*E.coli* dans les infections nosocomiales ainsi que l'étude du comportement de l'ensemble des souches vis-à-vis des antibiotiques testés afin d'évaluer le profil de résistance de ce pathogène.

L'étude des caractères biochimiques a révélé 299 échantillons positifs à *E coli*. Les résultats épidémiologiques montrent que les services les plus touchés par les infections nosocomiales sont la médecine interne (17,2%) suivi par le service de chirurgie orthopédique (16,7%) et le service de réanimation (14,5%). Ces germes sont principalement isolés à partir du pus du site opératoire (50,3%) et des urines (29,4%). Généralement, les entérobactéries occupent la première place dans tous les prélèvements (33,3%), alors qu'*E.coli* est la plus fréquente en néphrologie (32,8%) et en pédiatrie (27,4%).

Au cours de notre travail nous avons également constaté qu'*E.coli* prédomine dans les infections urinaires avec un taux de 63,2 % et occupe la première place (14%) dans le service de médecine interne, la deuxième place (11,7%) dans la chirurgie générale et la troisième place (11,4%) dans la pédiatrie.

L'étude de la résistance des souches d'*E.coli* aux différents antibiotiques montre que le niveau de résistance était plus faible pour les aminosides (gentamicine et tobramycine) (17%), pour l'imipénème et la Colistine (0 %), par contre des taux élevés de résistance (90 %) ont été remarqués pour les  $\beta$ -lactamines (l'ampicilline et la ticarcilline) et le triméthoprime/sulfaméthoxazole (95 %), dont il faut tenir compte en mettant en place une stratégie de prévention active dans les hôpitaux.

**Mots clés :** Infections nosocomiales, *Escherichia coli*, Infection urinaire, résistance aux antibiotiques.

## Summary

The main objective of our study is to isolate and identify the strains of *E. coli* associated with nosocomial infections through the study of various pathological specimens (urine, pus, CSF, ...) in patients hospitalized in various services of Constantine HMRU (resuscitation, internal medicine, general surgery, ...), and The determination of the place of *E. coli* in nosocomial infections and the study of the behavior of all the strains with respect to the antibiotics tested in order to evaluate the resistance profile of this pathogen.

The study of biochemical characteristics revealed 299 *E. coli* positive samples.

Epidemiological results show that the services most affected by nosocomial infections are internal medicine (17.2%) followed by orthopedic surgery (16.7%) and resuscitation (14.5%). These germs are mainly isolated from the pus of the surgical site (50.3%) and urine (29.4%). In general, enterobacteria occupy the first place in all samples (33.3%), whereas *E. coli* is the most frequent in nephrology (32.8%) and pediatrics (27.4%).

In the course of our work we also found that *E. coli* predominates in urinary tract infections with a rate of 63.2% and occupies the first place (14%) in the internal medicine department, the second place (11.7%) in general surgery and the third place (11, 4%) in pediatrics.

The study of the resistance of *E. coli* (Gentamicin and tobramycin) (17%), imipenem and colistin (0%), on the other hand, high resistance levels (90%) Was observed for  $\beta$ -lactams (ampicillin and ticarcillin) and trimethoprim / sulfamethoxazole (95%). The study of the resistance of *E. coli* to antibiotics, shows a multidrug resistance, which must be taken into account by setting up an active prevention strategy in hospitals.

Key words: Nosocomial infections, *Escherichia coli*, Antibiotic resistance

## المخلص

الهدف الرئيسي من دراستنا يتمثل في عزل و تحديد سلالة *E. coli* المتعلقة ب عدوى المستشفيات و ذلك بدراسة مختلف الاستخراجات من العناصر المرضية (البول, صديد. السائل المخي ... الخ) عند مرضى المستشفيات في مختلف مصالح المستشفى العسكري الجهوي بقسنطينة (الإنعاش, الطب الداخلي, الجراحة العامة ... الخ ) و تحديد الموقع المنهجي في التوزيع البكتيري ل *E. coli* في أمراض المستشفيات و كذلك دراسة سلوك مجموعة السلالات عند اختبارها و فحصها بمختلف المضادات الحيوية لتقييم ملف مقاومة لهذه العوامل المسببة للأمراض.

دراسة الخصائص البيوكيميائية كشفت عن وجود 229 حالة ايجابية ل *E. coli* . النتائج الوبائية كشفت أن مصلحة الطب العام هي الأكثر تأثراً بأوبئة المستشفيات بنسبة 17.2 بالمائة متبوعة بمصلحة جراحة العظام بنسبة 16.7 بالمائة و مصلحة الإنعاش بنسبة 14.5 بالمائة .

50 بالمائة من هذه الميكروبات عزلت من الصديد والمواقع الجراحية و 29.4 بالمائة من البول . بصفة عامة تحتل les entérobactéries المركز الأول في كل الاستخراجات بنسبة 33.3 بالمائة. أما بالنسبة ل *E. coli* فهي أكثر شيوعاً في الطب الكلي بنسبة 32.8 بالمائة و بنسبة 27.4 بالمائة في طب الأطفال. من خلال عملنا المنجز استخلصنا أن *E. coli* هي الغالبة في العدوى البولية بمعدل 63 بالمائة و تحتل المرتبة الأولى في الطب العام بنسبة 14 بالمائة و المرتبة الثانية في الجراحة العامة بنسبة 11.7 بالمائة و المرتبة الثالثة في طب الأطفال بنسبة 11.4 بالمائة.

دراسة مقاومة *E. coli* لمختلف المضادات الحيوية كشفت أن المقاومة تكون ضعيفة جداً عند استعمال مضادات من عائلة les aminosides (gentamicine et tobramycine) بنسبة 17 بالمائة أما بخصوص l'imipenème فتكون النسبة 0 بالمائة. و تكون المقاومة عالية في وجه عائلة les  $\beta$ -lactamines (l'ampicilline et la ticarcilline) بنسبة 90 بالمائة. أما بالنسبة ل le triméthoprim/sulfaméthoxazole فتكون نسبة المقاومة 95 بالمائة.

دراسة مقاومة *E. coli* للمضادات الحيوية كشفت أنها قادرة على مقاومة العديد من المضادات الحيوية ما يشكل خطراً على الصحة العامة لهذا وجب علينا وضع إستراتيجية وقائية فعالة في المستشفيات. الكلمات المفتاحية : *E. coli*, عدوى المستشفيات , مقاومة المضادات الحيوية

## Liste des abréviations

**ADH:** Arginine dihydrolase

**ADN :** Acide désoxyribonucléique

**ARA :** L-arabinose

**ATB :** Antibiotiques

**BGN :** Bacilles Gram négatif

**BNF :** Bacilles non fermentaires

**CFM :** Céfixime

**CH.G :** Chirurgie générale

**CIP :** Ciprofloxacine

**CIT:** Citrate

**CLSI-IPA:** Clinical and Laboratory Standards Institute

**CRO :** Ceftriaxone

***E. coli :*** *Escherichia coli*

**ECBU :** Examen cytobactériologique des urines

**GEL :** Gélatine emprisonnant des particules de charbon

**GLU :** D-glucose

**HK :** Hektoen

**HMRUC :** Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine

**IAS :** Infection associée aux soins

**IN :** Infection nosocomiale

**LCR :** liquide céphalo-rachidien

**LDC :** Lysine décarboxylase

**M.I :** Médecine interne

**MH :** Muller-Hinton

**NA :** Acide nalidixique

**Nb :** Nombre.

**NEPHRO :** Néphrologie

**NIT :** Nitrate.

**NMEC:** Neonatal Meningitis *E. coli*

**ODC :** Ornithine Décarboxylase

**OFX :** Ofloxacine

**ONPG:** Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside

**ORTHO** : Orthopédie

**PDP** : Prélèvement distal protégé

**PED** : Pédiatrie

**REA** : Réanimation

**T3SS** : Système de sécrétion de type III

**TDA** : Tryptophane désaminase.

**TDA** : Tryptophane

**TSI** : Triple Sugar Iron.

**UFC** : Unité Forman Colonie.

**URE** : Urée

**VP** : Pyruvate de sodium.

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Infections d'origine "endogène"	7
<b>Figure 2 :</b> Infections d'origine "exogène"	8
<b>Figure 3 :</b> Pathogénie associée aux six classes d' <i>E. coli</i> responsables de diarrhées	19
<b>Figure 4 :</b> Aspect des colonies bactériennes d'entérobactéries sur le milieu Hektoen	29
<b>Figure 5 :</b> Aspect microscopique (coloration de Gram) d'entérobactérie.	29
<b>Figure 6 :</b> Test TSI	30
<b>Figure 7 :</b> Test de citrate de simmons négatif	31
<b>Figure 8 :</b> Test de l'uréase	31
<b>Figure 9 :</b> Test d'indole	32
<b>Figure 10 :</b> Test de la catalase	32
<b>Figure 11 :</b> Test de l'oxydase (oxydase (+) en présence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> )	33
<b>Figure 12 :</b> Galerie API 20E des entérobactéries (correspond à <i>E coli</i> ).	34
<b>Figure 13 :</b> Résultats de la galerie API 20E d' <i>E coli</i> .	34
<b>Figure 14:</b> l'interprétation de résultat avec le catalogue analytique	34
<b>Figure 15 :</b> Résultats d'antibiogramme d' <i>E coli</i>	35
<b>Figure 16 :</b> Pourcentage des cas positifs et négatifs des malades hospitaliers	37
<b>Figure 17 :</b> Répartition des cas positifs selon les services	38
<b>Figure 18 :</b> Répartition des cas positifs selon les sites	39
<b>Figure 19 :</b> Répartition des souches bactériennes isolées.	40
<b>Figure 20 :</b> Répartition des souches bactériennes isolées selon le service.	42
<b>Figure 21 :</b> Répartition des souches bactériennes isolées selon le site.	44
<b>Figure 22 :</b> Répartition d' <i>E coli</i> selon le sexe.	45
<b>Figure 23 :</b> Répartition d' <i>E coli</i> selon la nature des prélèvements.	46
<b>Figure 24 :</b> Répartition d' <i>E coli</i> selon les services.	47
<b>Figure 25 :</b> Profil de résistance d' <i>E coli</i> aux antibiotiques.	49

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Principaux critères différentiels des espèces du genre <i>Escherichia</i> ( <i>E. coli</i> , <i>E. hermanii</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. fergusonii</i> )	<b>14</b>
<b>Tableau 2</b> : Les antibiotiques testés	<b>28</b>
<b>Tableau 3</b> : Résultats obtenus après identification avec galerie biochimique classique	<b>30</b>
<b>Tableau 4</b> : Résultats de la galerie API 20E d' <i>E. coli</i> .	<b>34</b>
<b>Tableau 5</b> : Résultats de l'antibiogramme d' <i>E. coli</i>	<b>36</b>
<b>Tableau 6</b> : Profil de résistance d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques	<b>48</b>

## Table des matières

<b>Introduction</b>	1
<b>Partie 1 : Revue Bibliographique</b>	
<b>Chapitre1 : Les infections nosocomiales</b>	3
1. Historique	3
	4
2. Définition	4
	4
3. Agents pathogènes	4
3.1. Bactéries	4
3.2. Virus	6
3.3. Parasites et champignons	6
4. Mode de transmission	6
4.1. Infection d'origine endogène	7
4.2. Infection d'origine exogène	8
5. Facteurs de risque	9
5.1. Facteurs liés à l'hôte	9
5.1.1. Age	9
5.1.2. Sexe	9
5.1.3. Etat immunitaire	9
5.2. Facteurs liés à l'environnement	10
6. Service de risque	10
7. Mode d'expression épidémiologique	10
<b>Chapitre2 : <i>Escherichia coli</i></b>	12
1. Définition	12
2. Historique	12
3. Classification et caractères bactériologiques	12
4. Habitat	15
5. Antigènes et sérotypage	15
6. Pouvoir pathogène d' <i>Escherichia coli</i>	15
6.1. Facteurs de virulence chez <i>E. coli</i>	15
6.2. Pathotypes et pathovars	16
6.2.1. Pathovars à l'origine des infections intestinales	16
6.2.1.1. Les <i>E. coli</i> entérotoxigènes (ETEC)	16
6.2.1.2. Les <i>E. coli</i> entérotoxigènes (EPEC)	16
6.2.1.3. Les <i>E. coli</i> entérohémorragiques (EHEC)	18
6.2.1.4. Les <i>E. coli</i> entéroinvasifs (EIEC)	18

6.2.1.5. Les <i>E. coli</i> entéroaggrégatifs (EAEC/EaggEC)	18
6.2.1.6. Les <i>E. coli</i> à adhérence diffuse (DAEC)	18
6.2.2. Pathovars à l'origine des infections extra intestinales	20
7. Résistance d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques	20
7.1. Résistance acquise	21
7.2. Résistance naturelle	21

## **Partie 2 : Matériels et méthode**

1. Lieu et période d'étude	22
2. Echantillonnage	22
3. Isolement et purification des souches d'entérobactéries à partir des échantillons cliniques	22
3.1. Mode opératoire	23
3.2. Purification	23
4. Identification des souches d' <i>E. coli</i>	23
4.1. Examen microscopique	24
4.2. Galerie biochimique classique	24
4.2.1. Milieu TSI	24
4.2.2. Test de l'oxydase	24
4.2.3. Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase	25
4.2.4. Utilisation de citrate de Simmons	25
4.2.5. Test de Catalase	25
5. Galerie miniaturisé de type API 20 E	26
5.1. Mode opératoire	26
5.1.1. Préparation de la galerie	26
5.1.2. Préparation de l'inoculum	26
5.2. Lecture	27
6. L'antibiogramme	27
6.1. Mode opératoire	27
6.2. Lecture et interprétation	28

## **Parti : Résultat et discussion**

1. Caractères morphologiques et culturales des souches d'entérobactéries isolées	29
1.2. Croissance sur milieu Heckoen	29
1.3. Aspect microscopique	29
2. Caractères biochimiques d' <i>E. coli</i>	30
2.1. Identification d' <i>E. coli</i> par la galerie biochimique classique	30
2.1.1. Test TSI	30
2.1.2. Test de citrate de Simmons	31
2.1.3. Test de l'uréase	31

2.1.4. Test de l'indole	32
2.1.5. Test de catalase	32
2.1.6. Test de l'oxydase	33
2.2. Galerie API 20 E	33
2.3. Résultats et interprétation de l'antibiogramme	35
3. Résultats épidémiologiques	36
3.1. Répartition des résultats selon les cas positifs et négatifs des malades hospitalisés	37
3.2. Répartition des cas positifs selon les services	38
3.3. Répartition des cas positifs selon les sites	39
3.4. Répartition des souches bactériennes isolées	40
3.5. Répartition des souches bactériennes isolées selon le service	40
3.5.1. Service de réanimation	40
3.5.2. Service de la médecine interne	41
3.5.3. Service de chirurgie générale	41
3.5.4. Service de néphrologie	41
3.5.5. Service d'orthopédie	41
3.5.6. Service de pédiatrie	42
3.5.7. Autres services	42
3.6. Répartition des souches bactériennes isolées selon les services	43
3.6.1. Infections nosocomiales urinaires	43
3.6.2. Infections nosocomiales du site opératoire	43
3.6.3. Broncho-pneumopathie nosocomiales	43
3.6.4. Bactériémies nosocomiales	43
3.6.5. Infections nosocomiales liée aux cathéters	44
3.6.6. Méningites	44
3.6.7. Autres infections nosocomiales	44
3.7. Répartition d' <i>E. coli</i>	45
3.7.1. Répartition d' <i>E. coli</i> selon le sexe	45
3.7.2. Répartition d' <i>E. coli</i> selon le site	46
3.7.3. Répartition d' <i>E. coli</i> selon les services	47
3.7.4. Répartition d' <i>E. coli</i> selon la résistance aux antibiotiques	48
<b>Discussion des résultats</b>	<b>50</b>
<b>Conclusion</b>	<b>52</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>54</b>
<b>Annexes</b>	



# INTRODUCTION



Les infections nosocomiales représentent aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale, étant responsable d'une lourde morbidité (Hamza, 2010).de mortalité et de surcoût important ; elles restent une préoccupation croissante au niveau de l'hôpital par leur impact à la fois humain et économique (Mchich, 2002).

Le risque de contracter une infection à l'hôpital a toujours existé et ce risque s'est accru avec l'évolution des pratiques de soin et de recrutement des patients. La pratique de soins plus efficaces mais souvent plus invasifs s'est accompagnée d'une possibilité de contamination par des microorganismes d'origine endogène ou exogène (Astragneau, 1998 ; Zeroual, 2012).

L'usage des dispositifs médicaux est important dans le traitement des maladies chroniques. L'implantation temporaire d'un cathéter vasculaire, d'une sonde vésicale ou d'une sonde endotrachéale peuvent être associée à des infections, dues à la multiplication bactérienne sur ces dispositifs implantables (Amara et Khaldi, 2015).

L'examen microbiologique permet d'identifier les pathogènes responsables des infections, et de déterminer leur sensibilité aux antibiotiques. Cela permet de choisir le traitement adapté pour chaque patient. La difficulté des traitements liée à la multi-résistance bactérienne (Dubos, 2012) vue l'utilisation extensive et fréquemment abusive des antibiotiques couplée à un déséquilibre dans l'hygiène hospitalière, permet à ces infections une évolution fulgurante traduisant ainsi plusieurs épidémies (Amara et Khaldi, 2015).

Notre travail consiste à étudier la place d'*E.coli* dans les infections nosocomiales. L'échantillonnage a été réalisé au sein du laboratoire de microbiologie-parasitologie de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRU de Constantine).

Afin d'atteindre nos objectifs, nous avons procédé à :

- L'isolement et purification des souches d'entérobactéries responsables des infections nosocomiales.
  
- L'identification des souches d'*E. coli* par :
  - Examen microscopique,
  - Galerie biochimiques classique,
  - Galerie miniaturisée de type API 20 E,

- Etude de leurs profils de résistance aux antibiotiques.
- Etudier l'aspect épidémiologique des infections nosocomiales.

A hand is shown with its fingers spread, covered in a variety of colorful confetti pieces in shades of purple, green, yellow, and blue. The background is a soft, light grey gradient.

# REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

## Chapitre 1 : Les infections nosocomiales

### 1. Historique

Les infections dites nosocomiales (du grec *nosos*, maladie, et *komein*, soigner, et par extension, du latin *nosocomial*, hôpital) ont existé depuis que l'on regroupe géographiquement les malades pour tenter de leur porter assistance.

Dès le milieu du 19<sup>ème</sup> siècle, des progrès majeurs ont été réalisés pour limiter le développement d'infections hospitalières. En 1846, le docteur Ignaz Semmelweis observe que les fièvres puerpérales sont quatre fois moins fréquentes si les accouchements sont effectués par des sages-femmes que des carabines qui pratiquent également des autopsies, en leur imposant une désinfection des mains avant l'accouchement, la mortalité par fièvre puerpérale est passée de 11,4 à 1% (Astragneau, 1998 ; Zeroual, 2012).

Les travaux de Louis Pasteur et de Robert Koch ont permis de comprendre la nature et les modes de transmission des maladies infectieuses, ceci aura pour conséquence le développement des techniques d'isolement visant à interférer avec les divers modes de transmission des agents infectieux.

En 1942, Alexander Fleming découvrait la pénicilline. Depuis cette date, les antibiotiques ont amené un vent d'optimisme et d'euphorie qui laissa croire que la pathologie infectieuse, hospitalière ou non, pourra aisément être maîtrisée (Gardier, 2002). Dès la fin des années cinquante, on a vu l'apparition des épidémies dévastatrices d'infections hospitalières à staphylocoques dorés résistants à la pénicilline (Gardier, 2002). Ceci va susciter un regain d'intérêt pour les infections hospitalières. En effet, si le renforcement des mesures d'hygiène et la découverte de la pénicilline résistante aux pénicillinases vont permettre de mieux contrôler les infections à staphylocoques dorés, d'autres agents, avant tous les bacilles Gram négatif (BGN) mais aussi toutes sortes de bactéries ou de champignons jugés jusqu'alors non pathogènes vont prendre le relais et être à l'origine des infections hospitalières observées aujourd'hui. Ces infections sont difficiles à contrôler car ces agents appartiennent le plus souvent à la flore normale du patient et leur résistance ne fait que s'élargir parallèlement au développement des nouveaux antibiotiques (Ambrose et *al.*, 1998).

## 2. Définition

L'infection se définit par l'envahissement de l'organisme par un agent étranger, comme une bactérie ou un virus, provoquant un état pathologique par une lésion des cellules locales, une libération de substances toxiques ou par une réaction intracellulaire germe-anticorps (Raisin, 2009 ; Kaoutar et *al.*, 2004 ; Abesaid et *al.*, 1999 ; Marfi, 2014).

On appelle infection nosocomiale ou infection hospitalière une maladie infectieuse (bactérienne, fongique, parasitaire, virale) identifiable par la clinique ou le laboratoire et acquise dans une structure de soins (Delmont et *al.*, 2016).

Une infection nosocomiale est une infection acquise à l'hôpital par un patient admis pour une raison autre que cette infection. On parle actuellement d'infection associée aux soins (IAS), infection survenant chez un patient à l'hôpital ou dans un autre établissement qui a subi des soins en ambulatoire dans la structure de soins, soit un personnel soignant dans le cadre de son activité professionnelle (Cahn et *al.*, 2002 ; Zeroual, 2012).

En contexte chirurgical une infection du site opératoire (ISO) survenant dans les 30 jours suivant le geste chirurgicale est considérée comme nosocomiale (Bouvet et *al.*, 1989 ; Popi, 2003 ; Schaffner, 2005 ; Zeroual, 2012).

## 3. Agents pathogènes

Les bactéries, les virus, les parasites et les champignons peuvent être responsables d'infections nosocomiales, cependant les bactéries sont les germes les plus fréquemment incriminées. Elles sont responsables dans 90% à 95% des cas (Baroud *et al.*, 1998 ; Mchich, 2002 ).

### 3.1. Bactéries

Les bactéries aérobies ou aéro-anaérobies facultatives représentent la quasi-totalité des espèces bactériennes responsables des infections hospitalières (Ducel et *al.*, 2002). On distingue :

- Les bactéries commensales présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé.

Elles jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des microorganismes pathogènes. Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les staphylocoques cutanés coagulase-négatifs provoquent des infections sur cathéter vasculaire et les *E. coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires.

➤ Les bactéries pathogènes ont une virulence plus élevée et provoquent des infections (sporadiques ou épidémiques) quel que soit l'état immunitaire de l'hôte. Par exemple :

- Les bacilles anaérobies à Gram positif (par exemple *Clostridium*) provoquent la gangrène.

- Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* provoque une grande variété d'infections pulmonaires, osseuses, cardiaques et sanguines et résiste fréquemment aux antibiotiques.

- Bactéries à Gram négatif : les entérobactéries (par exemple *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia marcescens*) peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies (site d'insertion d'un cathéter, d'une canule, sonde urinaire) et provoquer des infections graves (infection du site opératoire, infection pulmonaire, bactériémie, infection du péritoine). Elles peuvent également être hautement résistantes.

- Les microorganismes à Gram négatif comme *Pseudomonas spp.* sont souvent isolés dans l'eau et les milieux humides. Ils peuvent coloniser les voies digestives des patients hospitalisés.

Plusieurs autres bactéries représentent un risque spécifiquement hospitalier. Par exemple, les diverses espèces de *Legionella* peuvent provoquer des pneumopathies (sporadiques ou endémiques) par inhalation d'aérosols impliquant de l'eau contaminée (climatisation, douches).

### 3.2. Virus

Il existe une possibilité de transmission nosocomiale pour de nombreux virus, notamment ceux des hépatites B et C (transfusions, dialyse, injections, endoscopie), le virus respiratoire syncytial, les rotavirus et les entérovirus (transmis par contact main bouche et par voie féco-orale). D'autres virus comme le cytomégalovirus, le VIH, le virus Ebola, les virus grippaux, les virus de l'herpès et le virus varicelle zona, sont également transmissibles (Ducel et *al.*, 2002).

### 3.3. Parasites et champignons

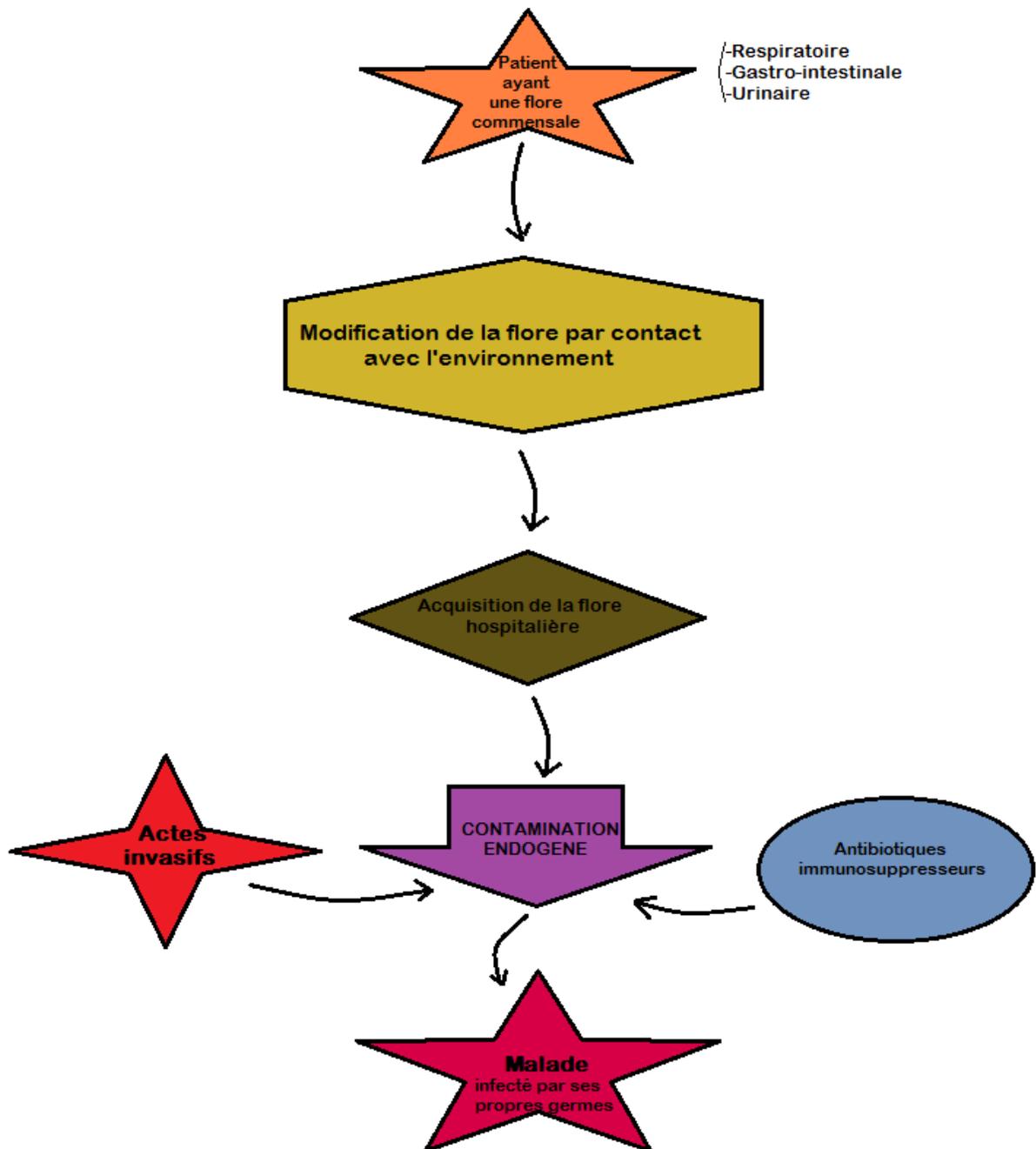
Certains parasites (par exemple *Giardia lamblia*) se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant. De nombreux champignons sont des agents opportunistes et provoquent des infections en cas de traitement antibiotique prolongé et d'immunodépression sévère (*Candida albicans*, *Aspergillus spp*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium*). Ils sont une cause majeure d'infection généralisée chez les patients immunodéprimés. La contamination de l'environnement par des germes aéroportés comme *Aspergillus spp*. présent dans les poussières et le sol (Ducel et *al.*, 2002).

## 4. Modes de transmissions

La plupart des infections nosocomiales sont secondaires à la réalisation d'un geste invasif chez le patient en créant une porte d'entrée pour les micro-organismes présents dans l'environnement proche : peau du patient, mains du personnel, matériel ou dispositif invasif. C'est ainsi que la grande majorité des infections nosocomiales sont consécutives à un geste chirurgical (incision, ouverture de la peau et d'organes habituellement stériles ou non), à la pose d'une sonde vésicale, d'un cathéter veineux, d'un cathéter artériel, d'un tube endotrachéal (Jean et *al.*, 2016). Il existe quatre voies principales de pénétration des germes des infections nosocomiales. Ce sont la voie centrale, la plaie opératoire, la voie respiratoire et la voie parentérale (Chaouki, 1995 ; Mchich, 2002).

#### 4.1. Infections d'origine endogène

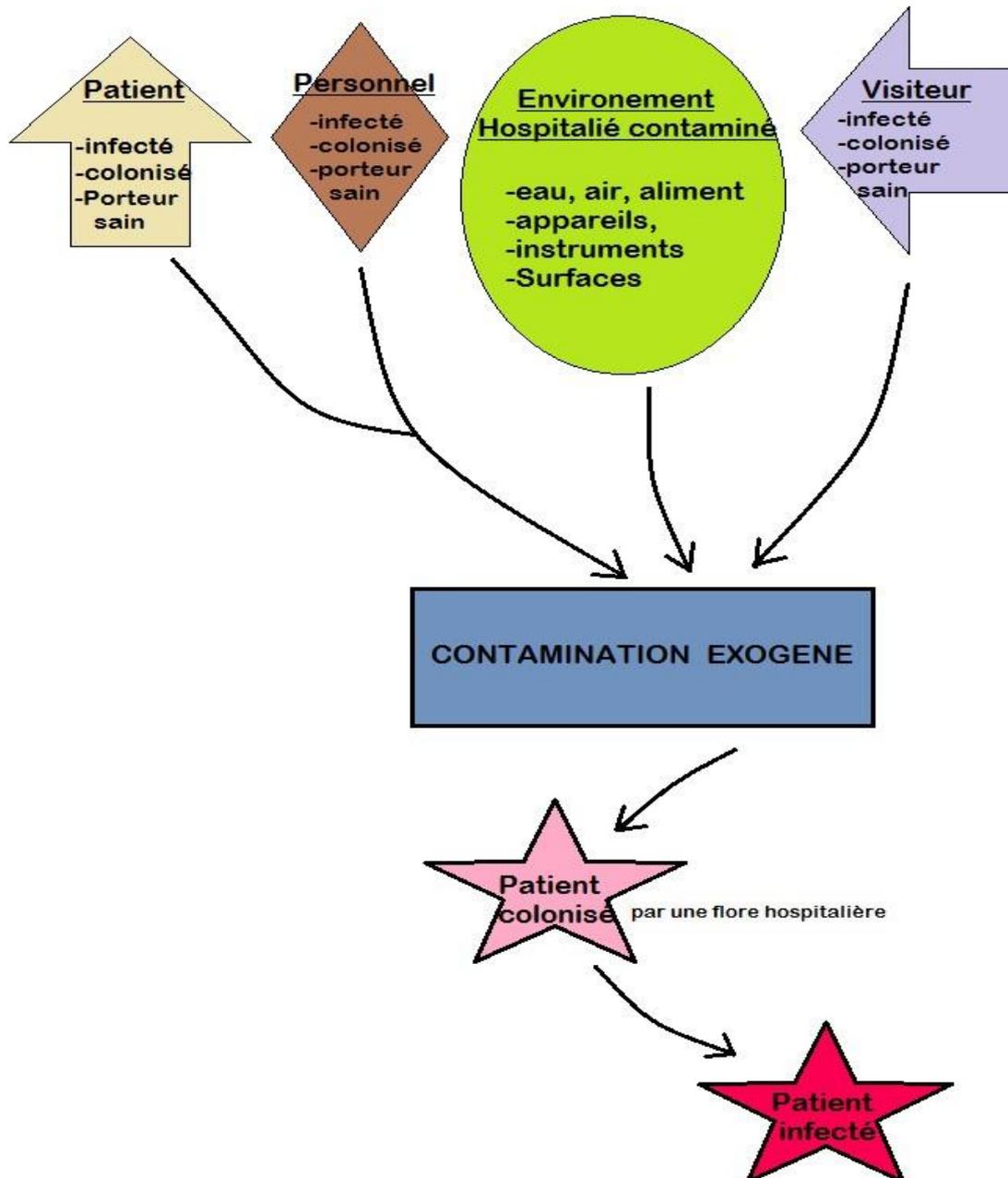
Ils font partie de la flore commensale du patient (Figure 1) (Horan et al., 2008 ; Thibault , 2011).



**Figure 1 :** Infections d'origine "endogène"

## 4.2. Infections d'origine exogène

Le patient a été en contact avec des microorganismes pathogènes au cours de l'hospitalisation (Figure 2) (Horan *et al.*, 2008 ; Thibault , 2011).



**Figure 2 :** Infections d'origine "exogène"

## **5. Facteurs de risque**

De nombreux facteurs favorisent l'infection chez les patients: une immunité affaiblie, la variété croissante des interventions et des gestes invasifs qui peuvent ouvrir la voie à l'infection, et la transmission de bactéries résistantes aux médicaments au sein d'hôpitaux surpeuplés, souvent facilitée par l'insuffisance des précautions de lutte contre l'infection.

### **5.1. Facteurs liés à l'hôte**

#### **5.1.1. Âge**

Les taux des infections nosocomiales sont plus élevés chez les personnes âgées (Jarvis et *al.*, 1991). Une étude réalisée par Gross aux Etats-Unis (Définition des infections nosocomiales, 1994) montre que 10% des patients ont plus de 70 ans, mais 43% des cas cumulent des infections nosocomiales entre les sujets de plus de 85 ans et ceux âgés de 18 à 24 ans, le risque d'infections postopératoires est multiplié par deux, de pneumopathie ; par trois, d'atteintes urinaire ou septicémiques ; par cinq pour les nouveaux nés, l'élément déterminant est le poids de naissance, en particulier s'il est inférieur à 1000 g voire à 1500g (Leroy, 1998 ; Mchich, 2002 ).

#### **5.1.2. Sexe**

Concernant les infections nosocomiales urinaires, le risque est deux fois plus élevé chez la femme, alors que le risque de bactériémie est plus élevé chez l'homme (Mchich, 2002).

#### **5.1.3. Etat immunitaire**

L'incidence des infections nosocomiales croît énormément avec l'immunodépression. Certaines situations où le malade présente naturellement une immunodépression, c'est le cas des vieillards, des diabétiques, des obèses, des dénutris, des patients ayant une insuffisance rénale ou hépatique, des brûlés, des éthyliques et des cancéreux (Avril et *al.*, 1989). D'autres situations où les patients présentent une

immunodéficience acquise : il s'agit des sidéens, des opérés, des transplantés, des irradiés, des malades sous immunosuppresseurs (Macki et *al.*, 1977 ; Mchich, 2002).

## 5.2. Facteurs liés à l'environnement

L'environnement comprend les divers appareillages d'assistance respiratoire (l'humidificateur, respirateur...), les lavabos, les instruments à visée diagnostique ou de soins (stéthoscopes ; tensiomètre...), les liquides perfusés et les tubulures, la nourriture et l'air ambiant (Zeroual, 2012).

## 6. Services à risque

L'incidence des infections nosocomiales est différentes selon les secteurs d'hospitalisation, ainsi les unités de réanimation ou les services de soins aux personnes âgées ont une incidence plus élevée (Carlet et *al.*,1989); au niveau des unités de soins intensifs polyvalents ; elle est estimée à environ 20%. Dans les unités de réanimation-néonatale, elle varie entre 5,2 et 24,6%. de même selon les différentes spécialités une disparité est observée : pour la réanimation 30% , la médecine 7% , la chirurgie 7% , la pédiatrie 3,8% , la psychiatrie 2,7% , pour le moyen séjour 10,2% , et le long séjour 8,4% (Mchich, 2002).

## 7. Mode d'expression épidémiologique

Certaines infections nosocomiales, par exemple les gastro-entérites à salmonelle évoluent presque exclusivement sur un mode épidémique par contre les infections urinaires, les surinfections des plaies opératoires sont surtout responsables de l'endémie hospitalière. De la même manière, certains micro-organismes sont souvent impliqués dans les infections endémiques (*E. coli*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *klebsiella*), et d'autres dans les infections épidémiques (virus de l'hépatite B, *Salmonella*, *Serratia*...).

Les agents pathogènes à l'origine des infections endémiques et épidémiques sont : *E. coli*, *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Streptococcus pyogenes*, *Serratia*, *Salmonella*, et virus de l'hépatite B (Tasseau et *al.*, 1989 ; Zeroual , 2012).

On peut schématiquement invoquer quatre facteurs principaux qui forment la trame épidémiologique des infections hospitalières :

**1-** La présence des malades dont les défenses immunitaires locales ou générales sont plus ou moins fortement déprimées, les rendant particulièrement réceptifs aux infections.

**2-** La présence, chez de nombreux malades, de portes d'entrées anormales pour les bactéries : plaies opératoires, cathétérismes, sondages, endoscopies etc. Toutes ces interventions peuvent être à l'origine d'infections iatrogènes.

**3-** La pression exercée par les antibiotiques est particulièrement marquée dans le milieu hospitalier et entraîne la sélection de souches résistantes. L'équilibre de l'écologie bactérienne s'est ainsi modifié dans le milieu hospitalier et on peut parler de véritables "souches hospitalières". Outre leur résistance aux antibiotiques, les principaux constituants de ces flores hospitalières sont aussi caractérisés par une résistance assez grande dans le milieu extérieur.

**4-** Le caractère multidisciplinaire de la médecine hospitalière actuelle, multipliant le nombre de personnes différentes en contact avec le patient et multipliant le nombre d'exams techniques qu'il doit subir, est également générateur de risques infectieux et facilite la transmission des microorganismes (Delmée, 2003).

## Chapitre 2 : *Escherichia coli*

### 1. Définition

*Escherichia coli* appelée aussi colibacille, est une bactérie en forme de bâtonnet, Gram négatif, présente de façon naturelle dans le tube digestif de l'être humain et de nombreux animaux. Elle est en temps normal non pathogène, mais peut le devenir dans certaines conditions. *E. coli* possède un génome à ADN double brin circulaire de 4,6 millions de paires de bases, qui est entièrement séquencé (Université Pierre et Marie Curie, 2003).

### 2. Historique

*E. coli* a été mise en cause pour la première fois dans l'étiologie de l'entérite infantile lorsque Théodore Escherich isola ces micro-organismes lors de cas de diarrhée de nourrissons en 1885. Durant les années 1920 et 1930, plusieurs chercheurs essayèrent d'identifier les types spécifiques d'*E. coli* responsables des entéropathies, mais aucun progrès significatif ne fut réalisé jusqu'à la mise au point par Kauffmann, dans les années 1940, d'un schéma de sérotypes précis (Who, 1980). Ainsi, à partir des années 1950, de nombreuses souches d'*E. coli* appartenant à des sérotypes particuliers ont été répertoriées, chez l'homme comme chez l'animal, comme étant des souches pathogènes responsables d'affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques sévères voire mortelles) (Kaper et al., 2004; Levine et al., 1987 ; Nataro et al., 1998 ; Amadou, 2013).

### 3. Classification et caractères bactériologiques

*E. coli* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles à coloration Gram négatif, mobiles par flagelles péritriches ou immobiles, non sporulés, aérobies ou anaérobies facultatifs, produisant de l'acide à partir du glucose (généralement avec production de gaz), catalase (+), oxydase (-), réduisent les nitrates en nitrites, une capsule est souvent présente (Université Pierre et Marie Curie, 2003; Diallo, 2013).

Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces : *E. coli*, *E. cergnosni*, *E. cermannie*, *E. culneries* et une espèce très rare *E. clattae*. Il s'avère important de souligner que les membres d'une même espèce présentent habituellement plus de 70% d'homologie génomique alors qu'entre espèces différentes, l'homologie est inférieure à 60%.

Chaque espèce d'*Escherichia* possède des caractéristiques biochimiques spécifiques, permettant ainsi de les différencier (Tableau 1) (Vimont, 2007).

Le premier système permettant la reconnaissance et une classification des souches de l'espèce *E. coli* fut la détermination des serotypes, c'est-à-dire une combinaison de certains antigènes de surface (Amadou Diallo, 2013).

Classification d'*Escherichia* : - **règne** : *Procaryotae*

- **domaine** : *Bacteria*

- **phylum** : *Proteobacteria*

- **classe** : *Gammaproteobacteria*

- **ordre** : *Enterobacteriales*

- **famille** : *Enterobacteriaceae*

- **genre** : *Escherichia*

- **espèce** : *Escherichia coli*.

**Tableau 1** : Principaux critères différentiels des espèces du genre *Escherichia* (*E. coli*, *E. hermanii*, *E. vulneris*, *E. fergusonii*).

Caractéristiques	<i>E. coli</i> non O157:H7	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. hermanii</i>	<i>E. vulneris</i>	<i>E. fergusonii</i>
Indole	+	+	+	-	+
Pigment jaune	-	-	+	(+)	-
LDC	(+)	(+)	-	+	+
ODC	+/-	+/-	-	-	+
$\beta$ -xylosidase	-	-	-	+	-
$\beta$ -glucuronidase	(+)	-	-	-	-
Sorbitol	+	-	-	-	-
Malonate	-	-	-	+	-
Adonitol	-	-	-	-	+

(+), positif avec la majorité des souches ; +/-, positif ou négatif selon les souches; LDC, Lysine Décarboxylase ; ODC, Ornithine Décarboxylase

#### 4. Habitat

*E. coli* est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobiede l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de  $10^8$  bactéries par gramme de fèces (flore totale :  $10^{11}$  à  $10^{12}$  bactéries par gramme) (Université Pierre et Marie Curie, 2003). A ce titre *E. coli*, et plus largement les coliformes thermotolérants, sont recherchés dans les aliments comme indicateurs de contamination fécale, leur présence fournit ainsi une indication sur une éventuelle contamination de l'aliment par des bactéries pathogènes d'origine digestive (*Salmonella thyphimurium*, *E. coli* O157:H7...) (Vimont, 2007).

#### 5. Antigènes et stéréotypage

Les caractères antigéniques d'*E. coli* permettent de reconnaître différents sérotypes. L'antigène somatique O est contenu dans les lipopolysaccharides présents sur la paroi bactérienne des enterobacteries. Plus de 176 antigènes somatiques différents ont été identifiés. L'antigène flagellaire H est de nature protéique entrant dans la structure du flagelle permettant la mobilité de la bactérie. L'antigène de surface K est présent de façon inconstante mais bloque l'agglutinabilité de l'antigène O et donc le sérogroupage lorsqu'il est présent. L'identification des antigènes et sérogroupes a permis de différencier des souches pathogènes des souches commensales. En effet, certains sérotypes ne sont jamais, ou rarement, associés à des maladies tandis que d'autres le sont très fréquemment (Beutin, 1999 ; Orskov et al., 1984 ; Diallo, 2013).

#### 6. Pouvoir pathogène d'*Escherichia coli*

##### 6.1. Facteurs de virulence chez *E. coli*

Les souches *E. coli* pathogènes portent des gènes particuliers (gènes de virulence) qui codent pour des facteurs de virulence intervenant à toutes les étapes du processus infectieux.

- des adhésines qui permettent à la bactérie d'adhérer et de coloniser un tissu cible (ex épithélium intestinale). Les adhésines pili et fimbriae se trouvent chez tous les pathovars

excepté chez EIEC, qui est phylogénétiquement très proche du genre *Shigella*.

- des structures de surface qui permettent de résister au système de défense immunitaire (protéines membranaires comme l'intimine, capsules polysaccharidiques ou protéiques), par exemple la capsule sert de protection contre le complément ainsi qu'à l'évasion de la phagocytose. Intimine est une protéine de la membrane externe, joue un rôle dans l'attachement des *E. coli* aux cellules épithéliales

- des toxines, enterotoxines (diarrhées), endotoxines (choc toxique au cours des septicémies), shigatoxines (diarrhées sanglantes et complications de type syndrome hémolytique urémique), cytotoxines (destruction de certaines cellules). De plus certains groupes d'*E.coli* produisent des toxines particulières : les entérohémolysines des EHEC, les entérotoxines et les cytotoxines des EIEC, les toxines stables des EAEC. Le mode d'action de ces toxines peut être subdivisé en plusieurs groupes suivants : facilitant l'invasion tissulaire, lysant les cellules de l'hôte (hémolysine  $\alpha$ ), bloquant la synthèse protéique (shigatoxines) ...

- des systèmes de captation du fer. Le fer est indispensable au métabolisme bactérien. Des systèmes de défense naturels capturent le fer pour qu'il ne soit pas utilisable par les bactéries. Celles-ci produisent des composés (sidérophores) qui déplacent le fer et le conduisent vers leurs membranes où il est capturé

- des systèmes de sécrétions permettant la sécrétion de facteurs protéiques dans l'environnement bactérien, des invasines qui permettent la colonisation intracellulaire (cellules épithéliales, macrophages). Exemple : le système de sécrétion de type III (T3SS) est crucial pour la virulence d'*E.coli*, il se compose d'une vingtaine de protéines formant une seringue permettant l'injection de protéines du cytoplasme de la bactérie directement dans la cellule de l'hôte infecté.

## 6.2. Pathotypes ou pathovars

La majorité des souches d'*E.coli* sont commensales, mais certaines ont acquis des facteurs de virulence qui les rendent pathogènes au niveau intestinal ou extra-intestinal. Ces souches ont développé différents modes d'interaction avec leur hôte se traduisant par des signes cliniques variés. Il existe deux grands groupes de souches pathogènes d'*E.coli* :

- les *E. coli* à l'origine de pathologies extra intestinales : infections urinaires, infections génitales, infections des plaies (nosocomiales)...
- les *E. coli* à l'origine de pathologies intestinales (diarrhéiques).

### 6.2.1. Pathovars à l'origine des infections intestinales

Ils sont classés en six pathovars différents suivant les infections qu'elles sont capables d'entraîner (Figure 3).

#### 6.2.1.1. Les *E. coli* enterotoxinogènes (ETEC)

Les ETEC aux entérocytes grâce à des pili. La pathogénicité est liée à la sécrétion de deux types de toxine, une toxine thermostable ST et une thermolabile LT. Cette infection se caractérise par une diarrhée aqueuse aiguë chez les enfants moins de 3 ans dans les pays en voie de développement.

#### 6.2.1.2. Les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC)

Les EPEC sont responsables de diarrhées infantiles et sont la principale cause de mortalité dans les pays en voie de développement. Lors de l'infection apparaissent des lésions d'attachement/effacement (AE), définies par un attachement de ces bactéries sur les cellules intestinales, et par un effacement des microvillosités, intestinales et par l'adhérence de l'intimine entre les bactéries et la membrane cytoplasmique des entérocytes.

### **6.2.1.3. Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC)**

Les EHEC sont capables d'adhérer aux entérocytes, lésion « d'attachement-effacement », induisent des colites hémorragiques chez l'homme, et qui, particulièrement chez les enfants, peuvent se compliquer en syndrome hémolytique et urémique (insuffisance rénale sévère pouvant nécessiter une dialyse ou une transplantation rénale) et en purpura thrombotique et thrombocytopénique PTT (troubles nerveux associés). Ces affections peuvent être mortelles.

### **6.2.1.4. Les *E. coli* entéroinvasifs(EIEC)**

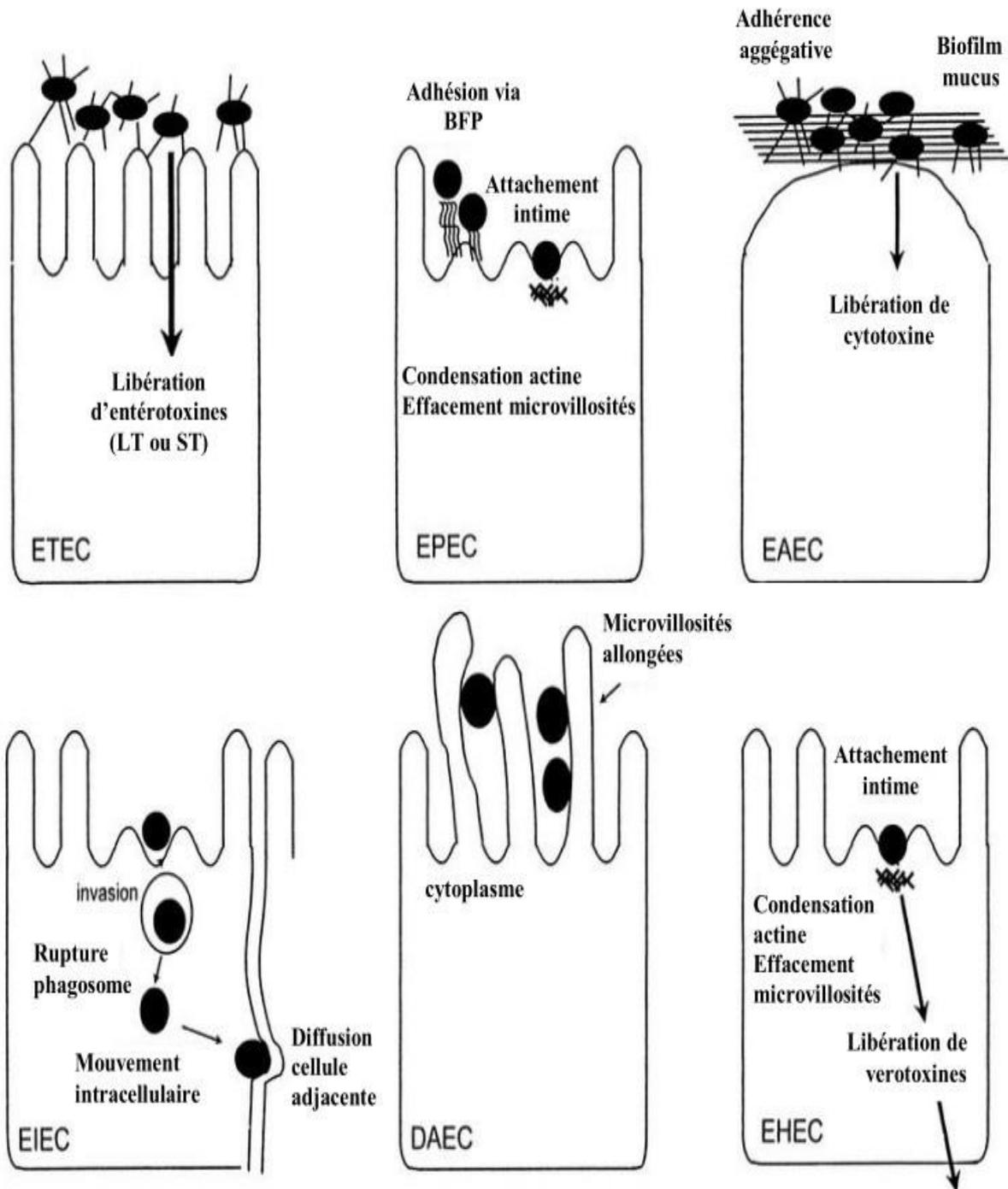
Leur pathogénicité touche toutes les tranches d'âge, possède un plasmide de virulence, invasion et prolifération dans les cellules épithéliales, ce qui provoque des ulcérations de la muqueuse du gros intestin. Les manifestations d'une infection à *Escherichia coli* entéroinvasif sont analogues à celles observées lors d'infections à *Shigella* : des crampes abdominales et des nausées, accompagnés d'une diarrhée sanglante et purulente (fièvre élevée).

### **6.2.1.5 .Les *E. coli* entéroaggrégatifs (EAEC/EAggEC)**

Les EAggEC sont caractérisés par un type d'adhésion aggrégative en « briques empilées », à l'origine de nécroses du pôle apical des villosités avec œdème inflammatoire et hémorragique de la sous muqueuse. Les facteurs de virulence hétérogènes tels que des adhésines et des toxines (ex. EAST-1 : *enteroaggregative E. coli heat stable enterotoxin*), responsables de diarrhée persistante.

### **6.2.1.6 .Les *E. coli* à adhérence diffuse (DAEC)**

Ces souches sont caractérisées par leur mode d'adhésion diffuse sur cellules épithéliales Hep-2. La plupart des souches DAEC adhèrent aux cellules intestinales grâce à des adhésines fimbriaires et sont capables de produire sur les cellules cibles un effet cytopathique caractérisé par la formation de grandes extensions cellulaires qui s'enroulent autour de la bactérie.



**Figure 3 :**Pathogénie associée aux six classes d'*E. coli* responsables de diarrhées

### 6.2.2. Pathovars à l'origine des infections extra intestinales

Les *E. coli* à l'origine de pathologies Extra Intestinales (ExPEC) ont acquis la capacité à dépasser les défenses immunitaires de leur hôte, et à se propager dans l'organisme (Johnson et *al.*, 2005).

Ils peuvent induire chez leurs hôtes des infections du tractus urinaire (ITU) : on parle souvent d'UPEC, Urinary Pathogenic *E. coli* ; des méningites néonatales : on parle de NMEC, Neonatal Meningitis *E. coli* ; ou des septicémies (Mokady *et al.*, 2005). Ils posent problème autant en médecine humaine, (notamment à cause des multiples résistances acquises portées le plus souvent par des plasmides) qu'en médecine animale du fait des fortes pertes économiques induites, notamment en filière avicole. Les facteurs de virulence des souches ExPEC sont encore mal connus, ce qui s'explique en partie par leur grande hétérogénéité. MAINIL dans sa synthèse sur les *E. coli* invasifs (Mainil, 2003) rappelle que la colonisation de l'hôte se fait en 3 étapes :

- franchissement d'une muqueuse, digestive ou respiratoire ;
  
- dissémination dans l'organisme par voie sanguine, ce qui implique la survie de la bactérie dans le sang ;
  
- colonisation d'un organe cible avec adhésion, internalisation et multiplication intracellulaire (Marion, 2006).

## 7. Résistance d'*E. coli* aux antibiotiques

La résistance bactérienne se définit comme la capacité de continuer à croître ou à survivre en présence de l'antibiotique. Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise.

### **7.1. Résistance naturelle**

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est essentiellement due à la présence de gènes chromosomiques ; elle est donc commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle peut être due à des particularités structurales s'opposant à l'action de l'antibiotique sur sa cible comme la présence d'une membrane externe chez les bactéries à Gram négatif les rendant naturellement résistantes aux antibiotiques de poids moléculaire élevé comme les glycopeptides. Elle peut être aussi due à des particularités métaboliques spécifiques : le bacille de la tuberculose par exemple n'est sensible qu'à un nombre restreint d'antibiotiques en raison de son métabolisme original. La résistance naturelle peut enfin être médiée par l'expression constitutive ou induite d'une enzyme d'inactivation ou par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis à vis de l'antibiotique (Diallo, 2013).

### **7.2. Résistance acquise**

Ce terme est utilisé pour désigner le résultat d'un processus permettant à des bactéries d'une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques. L'acquisition de ces résistances est déterminée par des modifications génétiques consécutives à des mutations ponctuelles ou à l'acquisition de gènes de résistance exogènes par les phénomènes de conjugaison, de transformation ou de Transduction (Diallo, 2013).



## **1. Lieu et période d'étude**

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de microbiologie-parasitologie de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRU de Constantine.). La période de manipulation pratique au laboratoire s'est étalée sur trois mois allant du 01 janvier au 30 mars 2017.

## **2. Echantillonnage**

Un échantillon de 832 prélèvements pathologiques a été analysé durant la période de notre étude à partir des patients hospitalisés au niveau des différents services (réanimation, médecine interne, chirurgie générale, néphrologie, orthopédie, pédiatrie et autres services).

Notre étude statistique a été réalisée sur une période de 15 mois (janvier 2016 jusqu'à mars 2017) et a porté sur 3693 échantillons.

## **3. Isolement et purification des souches d'entérobactéries à partir des échantillons cliniques**

En cas de suspicion d'une infection nosocomiale chez un patient hospitalisé, des échantillons biologiques (urines, pus, cathéters, hémocultures, crachats, PDP, LCR...) ont été soigneusement prélevés dans des conditions d'asepsie puis transportés immédiatement au laboratoire de microbiologie pour être analysés.

L'isolement des entérobactéries à partir de l'échantillon clinique est réalisé sur le milieu de culture Hektoen (Annexe 1), après incubation à 37°C pendant 24h. Deux méthodes d'ensemencement ont été réalisées selon le type de prélèvement. Ensemencement en quatre quadrants et ensemencement quantitatif.

### **3.1. Mode opératoire**

#### **a) Ensemencement par la méthode des 4 quadrants**

Cette méthode est utilisée pour la plupart des prélèvements car elle va permettre d'obtenir des colonies isolées des différents germes. Elle permet d'avoir une estimation semi-quantitative de la quantité des germes contenus dans les divers prélèvements.

Technique : le premier quadrant est réalisé en effectuant des zigzags sur le quart de la gélose avec une quantité variable de prélèvement, puis l'anse est stérilisée avant l'ensemencement des 3 autres quadrants (Pittet J. et *al.*, 2014).

#### **b) Ensemencement quantitatif :**

Cette méthode utilisée en routine pour les prélèvements urinaires. La quantification bactérienne pour ces prélèvements est essentielle à l'interprétation du résultat. Dans les urines une concentration égale ou supérieure à  $10^5$  UFC /ml est généralement considérée comme pathologique.

L'ensemencement se fait par le dépôt de 10µl de matériel sur la gélose qui est ensuite tiré jusqu'au tiers de la gélose puis des stries sont effectuées du haut jusqu'en bas du milieu. A noter que lors de l'ensemencement manuel conventionnel, le matériel est tiré sur la totalité de la gélose avant d'effectuer des stries de haut en bas (Pittet J. et *al.*, 2014).

### **3.2. Purification**

Après incubation, en cas de culture poly-microbienne une purification des colonies bactériennes par ré-isolément sur le même milieu a été effectuée afin d'obtenir une souche pure facilement identifiable par leur aspect, forme, taille, bord, surface et couleur.

### **4. Identification des souches d'*E. coli***

L'identification d'*E. coli* comporte une série d'étapes, et doit précéder toujours l'antibiogramme.

#### 4.1. Examen microscopique

La coloration de Gram (Annexe 2) est un examen direct indispensable pour étudier la morphologie des germes et permet de classer les bactéries en deux grandes catégories (Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>).

#### 4.2. Galerie biochimique classique

L'identification des souches à Gram négatif a porté sur une série de tests biochimiques.

##### 4.2.1. Milieu TSI

Le test TSI (Triple Sugar Iron) (Annexe 1) Milieu pour la différenciation des entérobactéries basée sur la production de sulfure d'hydrogène et la fermentation du lactose, du saccharose et du D-glucose( [http://www.mastgrp.com/IFUS/IFU354\\_FR.pdf](http://www.mastgrp.com/IFUS/IFU354_FR.pdf)).

La pente du milieu TSI estensemencée par stries sinueuses et le culot par piqure centrale, ne pas visser le bouchon complètement. Après, une incubation à 37C° pendant 24 heures :

- Le virage du culot au jaune et la pente au rouge traduit la fermentation du glucose,
- Le virage du culot et de la pente au jaune traduit la fermentation du lactose ou saccharose ou les deux à la fois,
- Le virage de la pente au rouge et le culot au rouge ou orange signifie qu'aucun sucre n'est dégradé,
- La production de bulle(s) de gaz, milieu complètement séparé ou soulevé signifie la fermentation avec production du gaz,
- La production d'hydrogène de sulfure (H<sub>2</sub>S) donne précipité noirâtre plus ou moins abondant.

##### 4.2.2. Test de l'oxydase

Les bactéries possédant une chaîne respiratoire complète sont dotées d'un cytochrome oxydase. La mise en évidence de cette oxydase est effectuée en présence d'une solution

aqueuse à 1 % de chlorhydrate de diméthyl paraphénylène diamine qui forme un complexe violet au contact de cette enzyme (François et *al.*, 2016).

Avec une pipette pasteur, déposer une colonie parfaitement isolée et l'écraser sur une bandelette d'oxydase pendant une dizaine de secondes. L'apparition d'une coloration rose/violette signifie une oxydase +, L'absence de coloration rose/violette signifie oxydase -.

#### 4.2.3. Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase

Le milieu de culture urée-typtophane, généralement appelé urée indole (Annexe 1) est utilisé pour l'identification des entérobactéries (bacille Gram -, oxydase -). Ce milieu permet de mettre en évidence les caractères suivants :

- l'hydrolyse de l'urée par une uréase,
- la production d'indole par l'hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase.

Dans un tube contenant l'urée indole, on rajoute quelques gouttes de la suspension bactérienne, puis incubé à 37° pendant 24 heures. Quelques gouttes du réactif de Kovacs sont ensuite versées. La réaction est positif (uréase +) se traduit par une coloration rouge du milieu, milieu orange ou jaune (uréase -). Après addition du réactif de Kovacs : anneau rouge (indole +), anneau jaune (indole -).

#### 4.2.4. Utilisation du citrate de Simmons

La pente du milieu Citrate de Simmons estensemencée avec une strie longitudinale sur toute la surface (<http://www.microbiologie-medicale.fr/metabolisme/citratedesimmons.htm>). Une réaction positive se traduit par une alcalinisation du milieu et son virage au bleu.

#### 4.2.5. Test de la catalase

Certaines bactéries ont la faculté de dégrader le peroxyde d'hydrogène(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). En présence d'une bactérie productrice de catalase (François et *al.*, 2016).

Quelques colonies de la souche à tester sont déposées sur la paroi d'un tube à hémolyse

contenant 0,5 à 1 ml d'eau oxygénée (10%). Une réaction positive (catalase +) se traduit par une libération d'oxygène gazeux selon la réaction suivante :  $\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + 1/2 \text{O}_2$

## 5. Galerie miniaturisée de type API 20 E

Le système API de Biomérieux se définit comme un système standardisé pour l'identification des bactéries selon les caractères biochimiques. L'identification des microorganismes est basée sur cette technique moderne simple et rapide qui est une galerie de 20 microtubes prêts à l'emploi permettant de réaliser à la fois 23 tests biochimiques miniaturisés afin d'identifier des *enterobacteriaceae* (Zitouni et al., 2016) ; ([http://mas.stephanie.free.fr/microbiologie\\_bio1/fiches%20pdf/galerieAPI20E.pdf](http://mas.stephanie.free.fr/microbiologie_bio1/fiches%20pdf/galerieAPI20E.pdf))

### 5.1. Mode opératoire

#### 5.1.1. Préparation de la galerie:

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

#### 5.1.2. Préparation de l'inoculum:

- L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18-24 h sur milieu gélosé. Une colonie pure est suspendue dans 5ml d'eau physiologique, ensuite l'inoculum est ajusté à  $10^8$  UFC/ml lue à 625nm à l'aide d'un spectrophotomètre.
- introduire la suspension bactérienne dans les micro-tubes de la galerie:
- pour les tests ONPG, CIT, VP, et GEL remplir tube et cupule.
- pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules).
- pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- incubation à 37°C pendant 24 h.

## 5.2. Lecture

L'interprétation se fait à partir du profil numérique déterminé sur une fiche de résultats, ensuite l'identification est réalisée à l'aide du catalogue analytique (Annexe 5 et 6 et 7).

### Remarque :

- Le test de la recherche de production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de la galerie. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif.
- Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à 3, on réincube la galerie 24 heures ( $\pm 2$  heures) de plus. Puis on rajoute les réactifs.

## 6. L'antibiogramme

L'étude de la sensibilité d'*E. coli* aux antibiotiques (Tableau 2) a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé selon les normes du comité de l'antibiogramme de la société américaine de microbiologie Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI-IPA, 2014).

### 6.1. Mode opératoire

- L'ensemencement des boîtes de gélose Muller-Hinton (MH) (Annexe 1) par écouvillonnage a été réalisé à partir du même inoculum que pour la galerie API 20E.
- L'ensemencement se fait par des stries serrées sur toute la surface de la boîte, l'opération est répétée 3 fois en tournant la boîte de 60° à chaque reprise, puis passer l'écouvillon sur les bords de la gélose.
- Après 15 mn, placer les disques d'antibiotiques sur la gélose à l'aide d'une pince stérile ou d'un distributeur de disques d'antibiotiques (Annexe 8).
- Incubation des boîtes à 37°C pendant 18 à 24 h.

## 6.2. Lecture et interprétation

Les diamètres d'inhibition autour des disques ont été mesurés et comparés aux diamètres critiques conformément aux normes (CLSI-IPA, 2014) (Annexe 9). Le diamètre du disque formé donne une indication de la sensibilité de la bactérie à l'antibiotique testé, plus le diamètre du disque est élevé, plus l'antibiotique est efficace.

**Tableau 2** : Les antibiotiques testés

<b>β-lactamines</b>	Ampicilline (10 µg), Amoxicilline (25 µg), Amoxicilline/acide clavulanique (20/10 µg), Ticarcilline (75 µg), Pipéracilline (75µg),
<b>Céphalosporines</b>	<b>C1G</b> :Céfazoline (30 µg ), Céfalotine (30 µg), <b>C3G</b> :Céfotaxime (30 µg), Ceftriaxone (30 µg), Céfixime (30 µg)
<b>Carbapenemes</b>	Imipénème (10 µg)
<b>Aminosides</b>	Tobramycine (30 µg), Gentamicine (15 µg).
<b>Quinolones</b>	Acide nalidixique (30 µg), Ofloxacine (5 µg) et Ciprofloxacine (5 µg).
<b>Autres</b>	Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (75 µg)

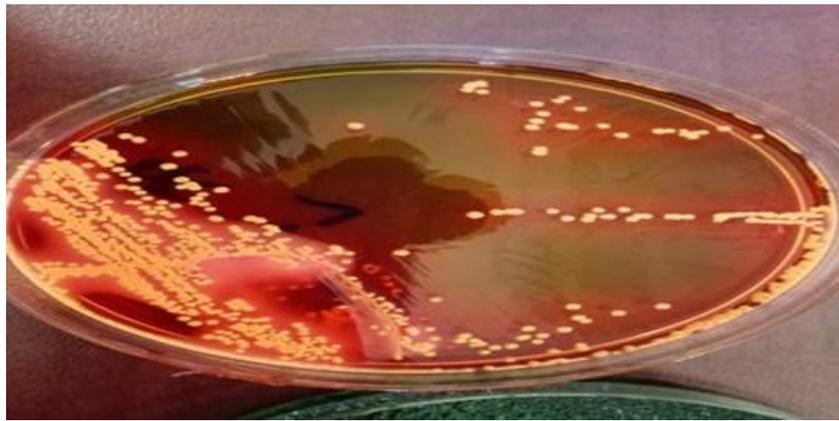


# RÉSULTATS ET DISCUSSION

## 1. Caractères morphologiques et culturales des souches d'entérobactéries isolées

### 1.1. Croissance sur le milieu Hektoen

Au bout de 24h d'incubation à 37°C sur le milieu Hektoen, les cultures des cellules jeunes donnent des colonies de couleur jaune saumon sans centre noire (H<sub>2</sub>S négatif), ce qui signifie l'acidification du milieu et la dégradation d'au moins un des trois glucides (lactose, saccharose, salicine) (Figure 4). Les colonies présentant cet aspect macroscopique est une caractéristique de la famille des *Enterobacteriaceae*



**Figure 4 :** Aspect des colonies bactériennes d'entérobactéries sur le milieu Hektoen

### 1.2. Aspect microscopique

La coloration de Gram a révélé que l'ensemble des colonies isolées sur milieu Hektoen, sont des bactéries Gram négatif en forme de bacilles roses (Figure 5). Elle a permis également de vérifier la pureté de la culture.



**Figure 5 :** Aspect microscopique (coloration de Gram) d'entérobactérie (G ×100).(Leica microsystems CMS GmbH .Model : DM 1000)

## 2. Caractères biochimiques d'*E coli*

### 2.1. Identification d' *E coli* par la galerie biochimique classique

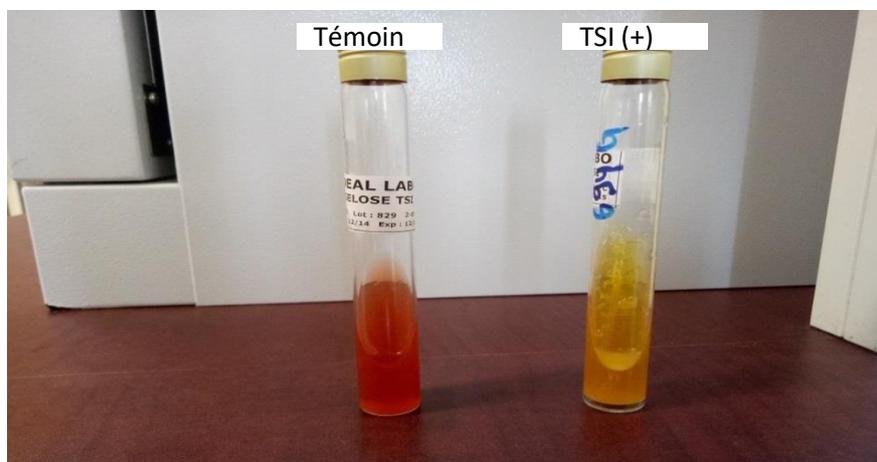
Les résultats obtenus par les tests de la galerie biochimique classique sont récapitulés dans le tableau 3.

**Tableau 3** : Résultats obtenus après identification avec galerie biochimique classique

Tests	Culture Sur hektoen	Coloration de Gram	TSI	Citrate de simmons	uréase	indole	catalase	oxydase
Souches identifiées	Lactose (+)	Bacilles Gram (-)	H2S (+) Production de gaz Fermentation de sucre	Citrate (-)	Uréase (-)	Indole (+)	Catalase (+)	Oxydase (-)

#### 2.1.1. Test TSI

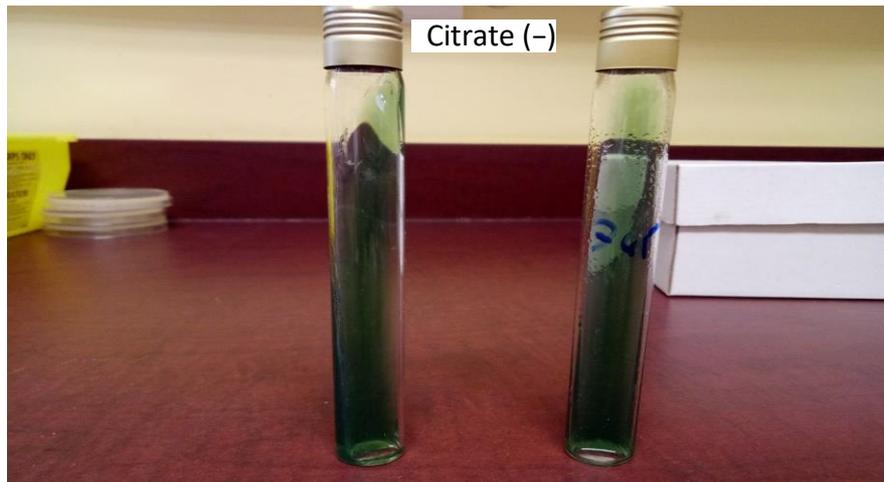
La présence d'entérobactérie se traduit par un virage de la couleur du culot et de la pente vers le jaune qui se traduit par une fermentation du glucose et un des deux autres sucres : le lactose ou le saccharose (acidification du milieu) et on observe aussi que le milieu est complètement séparé ou soulevé (Production de gaz) (Figure 6).



**Figure 6** : Test TSI

### 1.1.1. Test de citrate de simmons

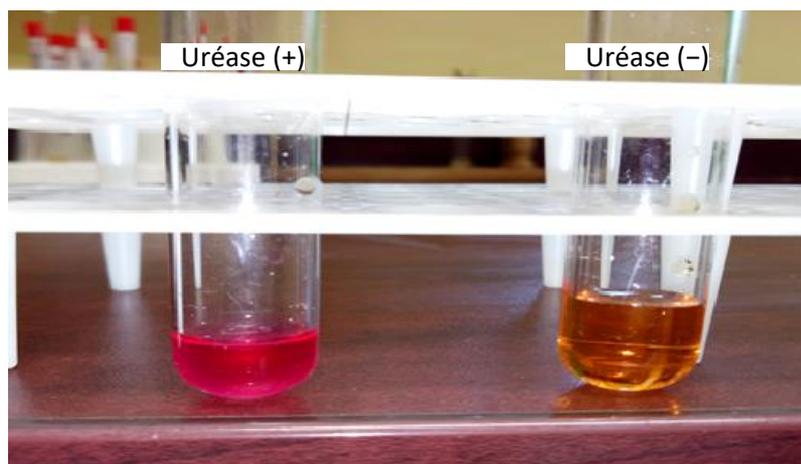
L'absence du virage de la couleur du milieu au bleu (absence d'alcalinisation du milieu) se traduit par une réaction négative, donc nos souches d'entérobactéries ne sont pas capables d'utiliser le citrate comme seule source de carbone : donc elles sont citrate de simmons (-) (Figure 7).



**Figure 7** : Test de citrate de simmons négatif

### 1.1.2. Test de l'uréase

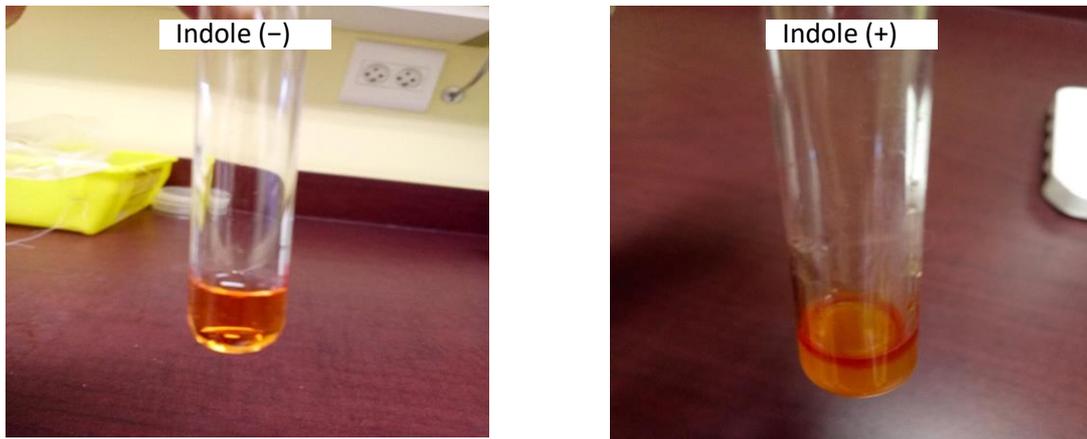
L'absence du virage du milieu au rose/rouge indique que nos souches sont Uréase (-) (Figure 8).



**Figure 8** : Test de l'uréase

### 2.1.2. Test d'indole

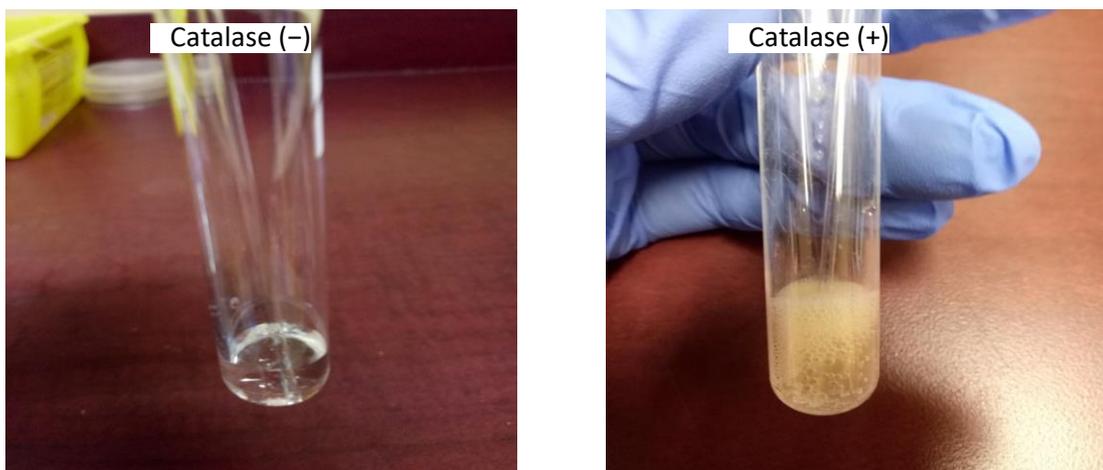
L'apparition d'un anneau rouge après l'addition du réactif de Kovacs se traduit par la présence d'indole dans le milieu. La bactérie a hydrolysé le tryptophane grâce à la présence d'une tryptophanase, donc la souche est Indole (+) (Figure 9).



**Figure 9** : Test d'indole

### 2.1.3. Test de la catalase

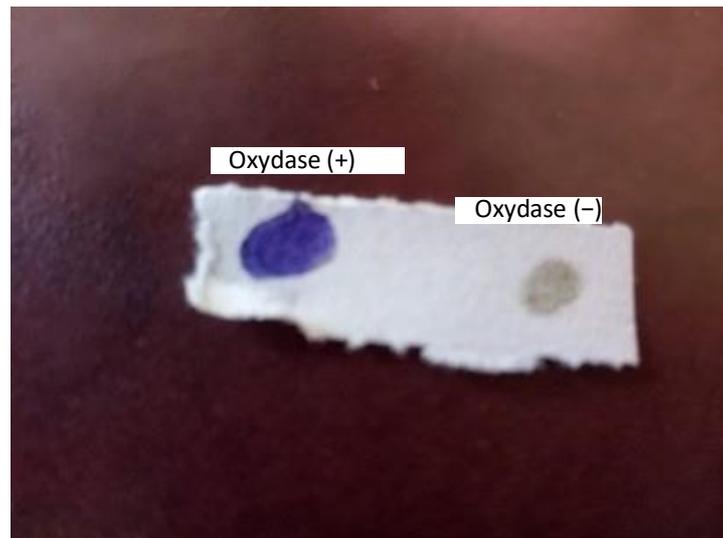
On observe une libération d'oxygène gazeux selon la réaction :  $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + 1/2 \text{O}_2$ . La souche identifiée est donc catalase (+) (Figure 10).



**Figure 10** : Test de la catalase

#### 2.1.4. Test de l'oxydase

On observe l'absence de coloration rose-violette, donc la souche d'entérobactérie identifiée est oxydase (-) (Figure 11).



**Figure 11 :** Test de l'oxydase (oxydase (+) en présence de *Pseudomonas aeruginosa*)

Tous ces résultats obtenus par l'utilisation de la galerie biochimique classique et récapitulés dans le tableau 3 confirment que nos souches identifiées sont des entérobactéries, mais leur appartenance à l'espèce *E. coli* ne pourrait se confirmer que par la galerie biochimique API 20E.

#### 2.2 Galerie API 20E

L'identification des microorganismes peut se faire aussi avec une technique moderne simple et rapide qui est une galerie de 20 microtubes prêts à l'emploi permettant de réaliser à la fois 20 tests biochimiques afin d'identifier les Entérobactéries (Figure 12). Les résultats obtenus sont présentés dans la (Figure 13) et le (tableau 4).

L'interprétation des résultats obtenus en utilisant le catalogue analytique API 20 E (Annexe 7) confirment que nos souches identifiées appartiennent à l'espèce *E. coli*.



Figure 12 : Galerie API 20E des entérobactéries (correspond à *E coli*).

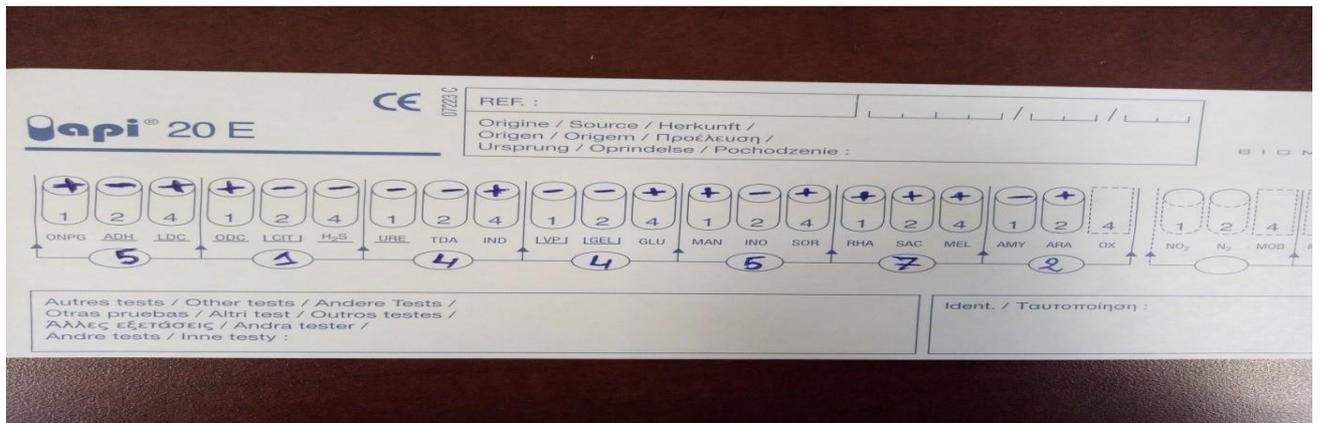


Figure 13 : Résultats de la galerie API 20E d'*E coli*.

Tableau 4 : Résultats de la galerie API 20E d'*E coli*.

substrat	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
<b>E coli</b>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+

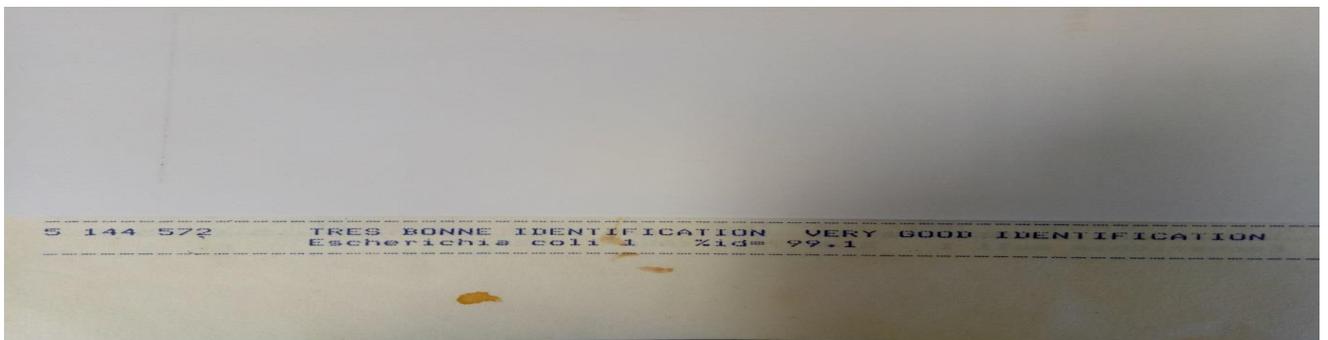
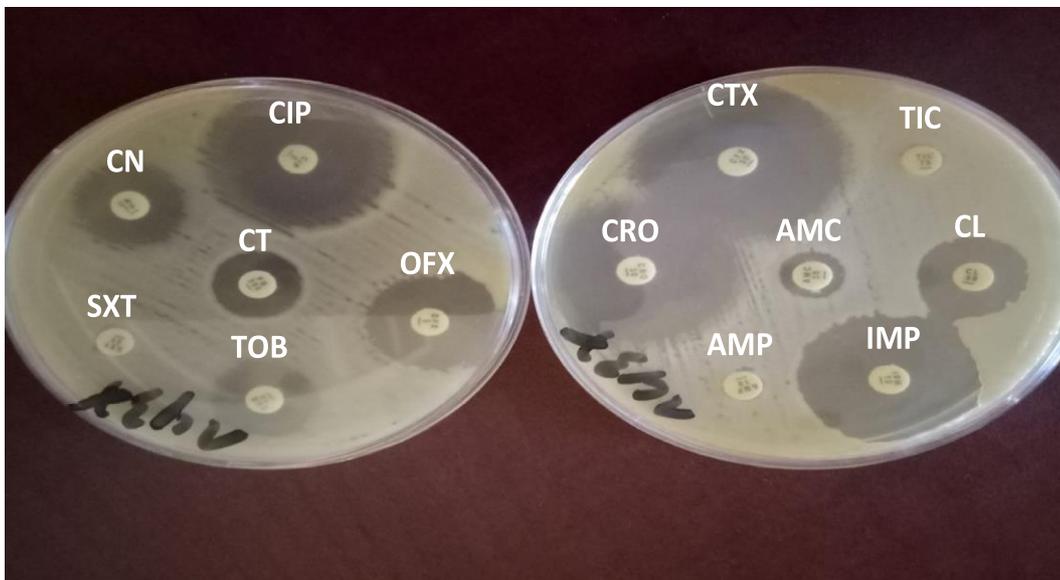


Figure 14: l'interprétation de résultat avec le catalogue analytique

### 2.3. Résultat et interprétation de l'antibiogramme

La sensibilité aux antibiotiques des souches d'*E coli* isolées a été recherchée. Ce test est capital, il permet de choisir un antibiotique adéquat pour le traitement. Le diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne mesuré indique la sensibilité de la bactérie à l'antibiotique testé (Figure 15 et tableau 5), plus le diamètre du disque est élevé, plus l'antibiotique est efficace. Les diamètres d'inhibition autour des disques ont été mesurés et comparés aux diamètres critiques conformément aux normes (CLSI-IPA, 2014) (Annexe 09).



**Figure 15 :** Résultats d'antibiogramme d'*E coli*

**Tableau 5** : Résultats de l'antibiogramme d'*E.coli*

<b>Antibiotique</b>	<b>Diamètre critique (mm)</b>	<b>interprétation</b>
<b>AMP</b>	<b>&lt;6</b>	<b>Résistant</b>
<b>AMC</b>	<b>&lt;6</b>	<b>Résistant</b>
<b>TIC</b>	<b>&lt;6</b>	<b>Résistant</b>
<b>CL</b>	<b>22</b>	<b>Sensible</b>
<b>CRO</b>	<b>30</b>	<b>Sensible</b>
<b>CTX</b>	<b>32</b>	<b>Sensible</b>
<b>IMP</b>	<b>30</b>	<b>Sensible</b>
<b>GN</b>	<b>19</b>	<b>Sensible</b>
<b>TOB</b>	<b>20</b>	<b>Sensible</b>
<b>CIP</b>	<b>32</b>	<b>Sensible</b>
<b>OFX</b>	<b>28</b>	<b>Sensible</b>
<b>CT</b>	<b>16</b>	<b>Sensible</b>
<b>SXT</b>	<b>&lt;6</b>	<b>Résistant</b>

AMP : Ampicilline, AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique, TIC : Ticarcilline, CL : Cefalotine, CRO : Ceftriaxone, CTX : Céfotaxime, IMP : Imipénème, GN : Gentamicine, TOB : Tobramycine, CIP : Ciprofloxacine, OFX : Ofloxacine, CT : Colistine, SXT : Triméthoprim/sulfaméthoxazole.

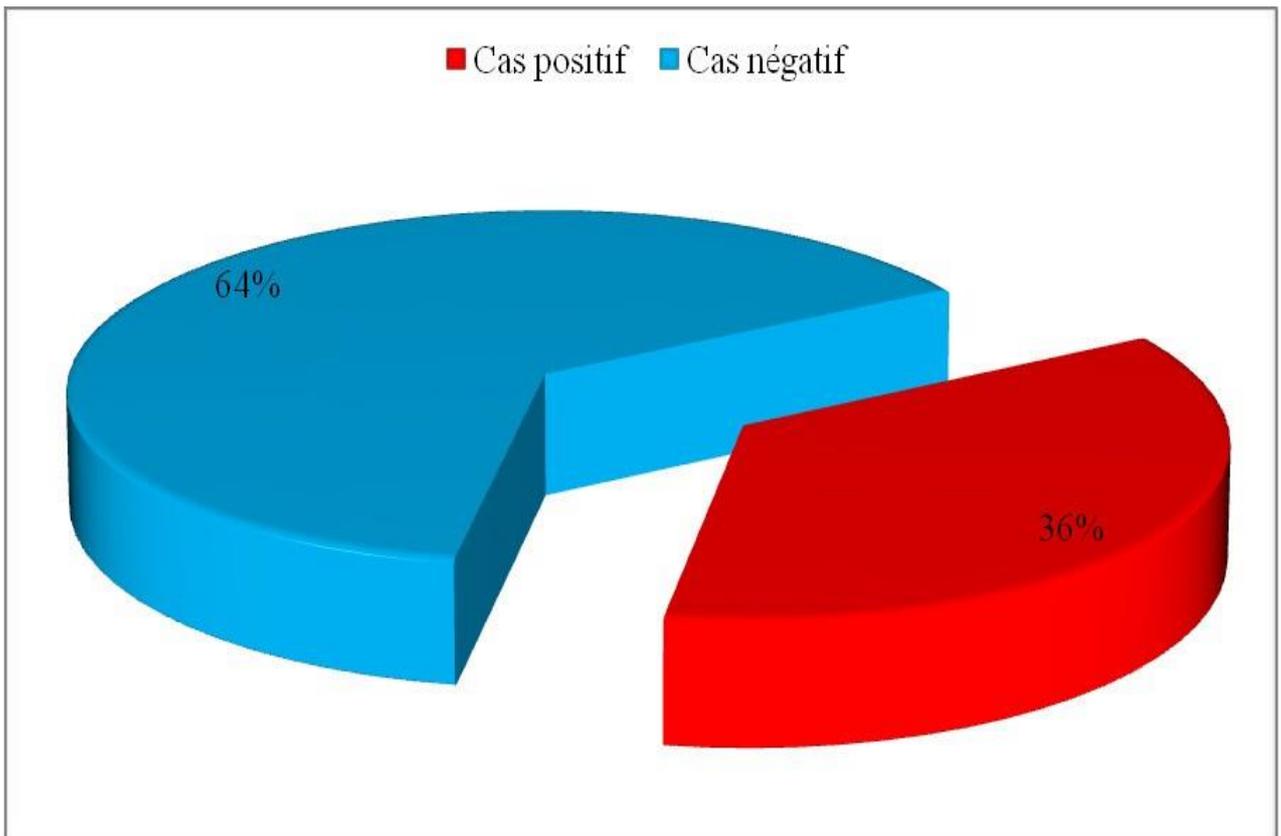
## 1. Résultats épidémiologiques

Parmi 832 échantillons étudiés, nous avons remarqué que 268 échantillons sont infectés par des germes, dont 65 souches appartiennent à l'espèce *E coli* et 564 échantillons ne présentent pas de germes en culture (non infectés).

Notre étude statistique a été réalisée sur une période de 15 mois (janvier 2016 jusqu'à mars 2017) et a porté sur 3693 échantillons. 299 échantillons positifs à *E coli*.

### 1.1. Répartition des résultats selon les cas positifs et négatifs des malades hospitalisés

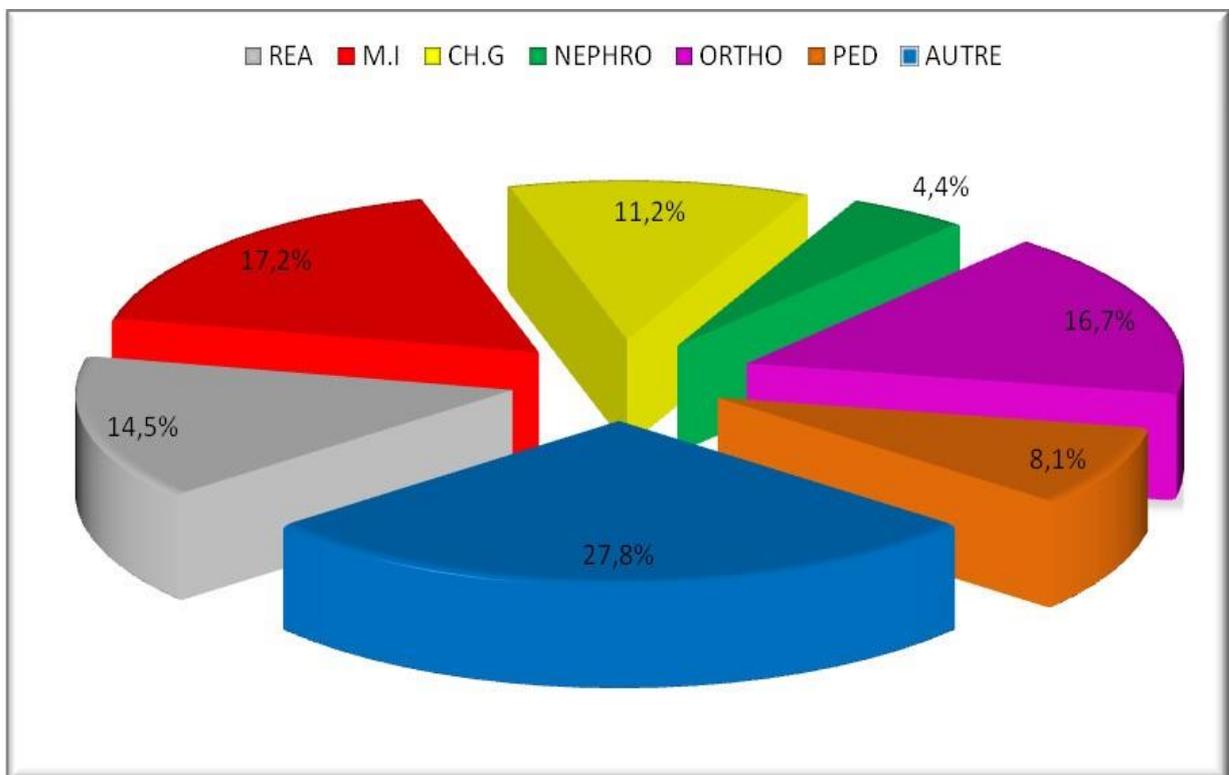
Parmi les 3693 échantillons, nous avons trouvé 2371(64%) cas négatifs (absence de germes) et 1322 cas positifs (36%) (Présence de germes) (Figure 16).



**Figure 16 :** Pourcentage des cas positifs et négatifs des malades hospitalisés

## 1.2. Répartition des cas positifs selon les services

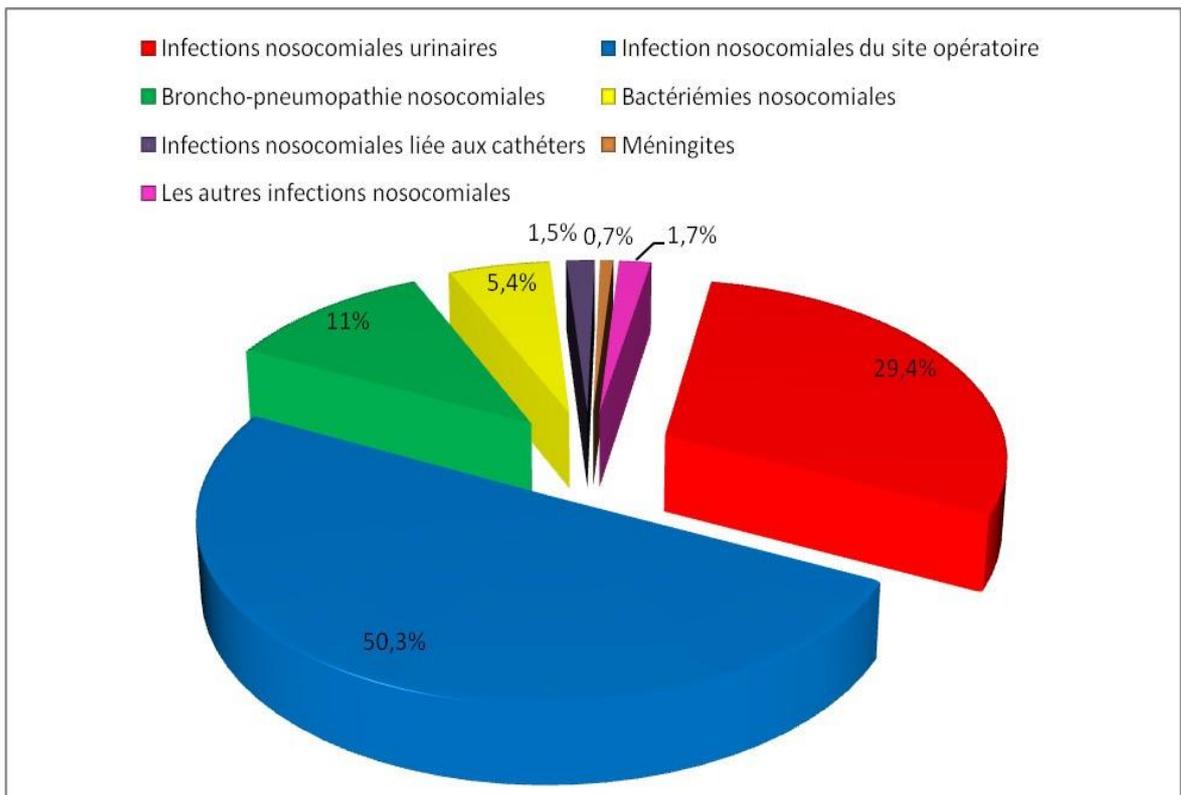
La répartition des différentes espèces bactériennes isolées montrent que le service de médecine interne occupe la première position avec 263 (17,2%) suivi par le service de chirurgie orthopédique 256 (16,7%), le service de réanimation 222 (14,5%), le service de chirurgie générale 171 (11,2%), le service de pédiatrie 124 (8,1%), le service de néphrologie 67 (4,4%), et l'ensemble des autres services (pneumologie, cardiologie, chirurgie infantile,...) 423 (27,8%) (Figure 17).



**Figure 17:** Répartition des cas positifs selon les services

### 1.3. Répartition des cas positifs selon les sites

La distribution des différentes espèces bactériennes isolées montrent que les prélèvements du pus superficiel ou profond sont les plus contaminées avec un effectif de 768 (50,3%), suivi par les urines (ECBU) 448 (29,4%), les prélèvements d'origines respiratoires 168 (11%), les hémocultures 83 (5,4%), les cathéters 23(1,5%), le liquide céphalo-rachidien (LCR) 10 (0,7%) et les autres prélèvements 26 (1,7%) (Figure 18).



**Figure 18 :** Répartition des cas positifs selon les sites

#### 1.4. Répartition des souches bactériennes isolées

La distribution des différentes espèces bactériennes isolées révèle que les entérobactéries (*Proteus sp.*, *morganella sp.*, *Citrobacter sp.*,...) occupent la première place dans tous les prélèvements avec un effectif de 508 (33,3%), suivi par le *Staphylococcus sp.* 309 (20,2%), *E.coli* 299 (19,6%), les Bacilles non fermentaires 207 (13,6%), les *Enterococcus sp.* 124 (09,4%) et enfin les levures 79 (06%) (Figure 19).

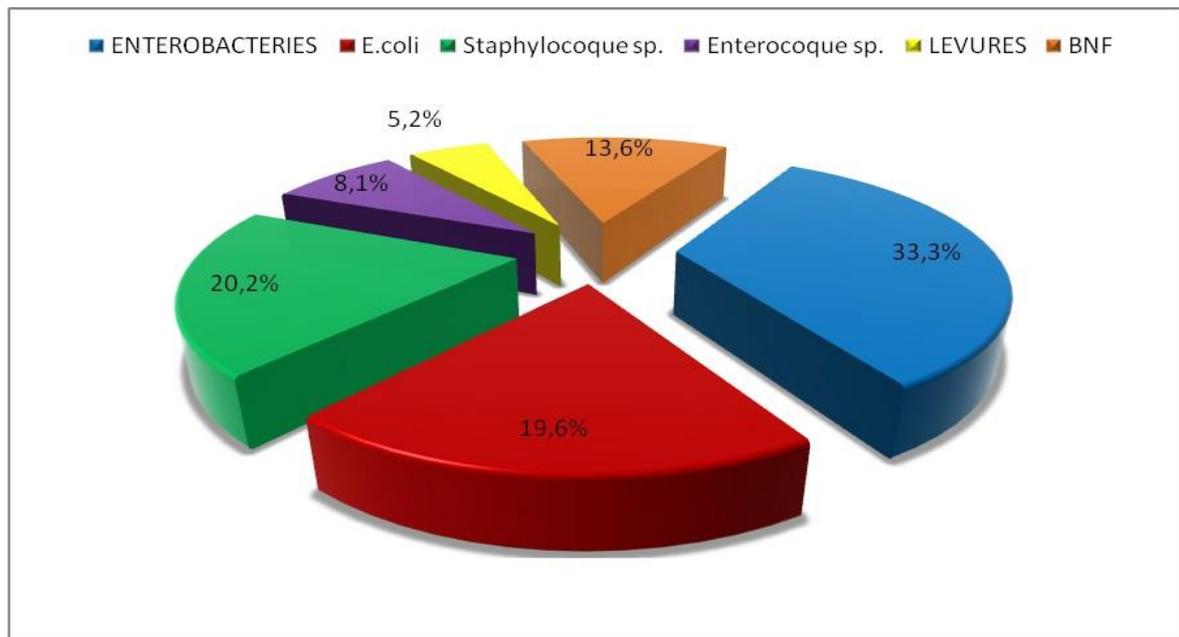


Figure 19 : Répartition des souches bactériennes isolées.

#### 1.5. Répartition des souches bactériennes isolées selon les services

La figure 20 montre la répartition des différents germes isolés selon les services.

##### 3.5.1 Service de réanimation

les bacilles non fermententaires (*Pseudomonas sp.* et *Acinetobacter sp.*) occupent la première position 69 (31%), suivi par les entérobactéries (*Proteus sp.*, *morganella sp.*, *Citrobacter sp.*,...) et les *Staphylococcus sp.* presque en égalité 61 (27,5%) et 60 (27%) respectivement, alors que le nombre d'*E coli* et des levures est identique 11 (5%) et les

*Enterococcus sp.* en dernière position 10 (4,5%) (Figure 20).

### 3.5.2. Service de médecine interne

Les entérobactéries (*Proteus sp.*, *morganella sp.*, *Citrobacter sp.*, ...) sont largement majoritaire dans le service de medecine interne 111 (42,2%), suivi par les *Staphylococcus sp.* et *E. coli* 44 (16,7%) et 42 (15,9%) respectivement. Dans ce même service les bacilles non fermententaires (*Pseudomonas sp.* et *Acinetobacter sp.*) occupe seulement 26 (10%), les *Enterococcus sp.* 21 (8%) et les levures en dernière position 19 (7,2%) (Figure 20).

### 3.5.3. Service de chirurgie générale

Les entérobactéries occupent la première position 70 (40,9%), suivi par *E coli* 35 (20,5%), les *Staphylococcus sp.* Et les bacilles non fermententaires sont presque en égalité avec 25 (14,7%) et 24(14%) respectivement, les *Enterococcus sp.* 11 (6,4%) et les levures en dernière position 6 (3,5%) (Figure 20).

### 3.5.4. Service de Néphrologie

*E. coli* occupe la première place 22 (32,8%), suivi par les entérobactéries et les bacilles non fermententaires qui sont en égalité 10 (14,9%), les *Staphylococcus sp.* 13 (19,4%), les *Enterococcus sp.* 8 (12%) et en dernière position les levures 4 (6%) (Figure 20).

### 3.5.5. Service d'orthopédie

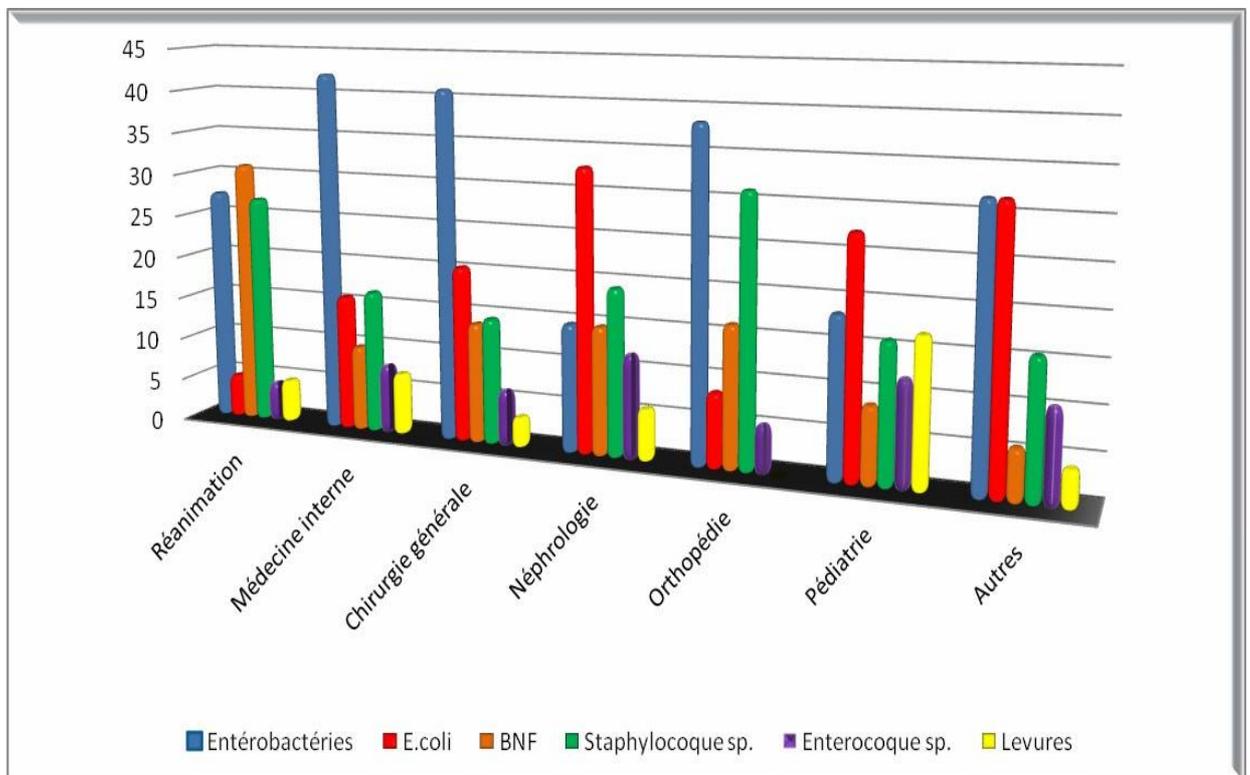
Les entérobactéries occupent la première place 98 (38,3%), suivi par les *Staphylococcus sp.* 80 (31,2%), les bacilles non fermententaires 42 (16,4%), *E. coli* 22 (8,6%), les *Enterococcus sp.* 14 (5,5%) et pour les levures il n'y a aucun cas (Figure 20).

### 3.5.6. Service de pédiatrie

*E. coli* occupe la première place 34 (27,4%), suivi par les entérobactéries 23 (18,5%), les levures 21 (17%), les *Staphylococcus sp.* 20 (16,1%), les *Enterococcus sp.* 15 (12,1%) et les bacilles non fermententaires en dernière position 11 (8,9%) (Figure 20).

### 3.5.7. Autres services

Les entérobactéries occupent la même place avec *E coli* 134 (31,7%), suivi par les *Staphylococcus sp.* 67 (15,8%), les *Enterococcus sp.* 45 (10,6%), les bacilles non fermententaires 25 (5,9%) et les levures en dernière position 18 (4,3%) (Figure 20).



**Figure 20 :** Répartition des souches bactériennes isolées selon le service.

### 3.6. Répartition des souches bactériennes isolées selon les sites

La figure 21 montre la répartition des différents germes isolés selon les sites.

#### 3.6.1. Infections nosocomiales urinaires

D'après la figure 21 on constate que *E coli* représentent le nombre le plus élevé 189 (42,2%) des bactéries responsables d'infections urinaires, par la suite les autres entérobactéries (*Proteus sp.*, *morganella sp.*, *Citrobacter sp.*,...) 119 (26,6%), les levures 45 (10%), les bacilles non fermententaires (*Pseudomonas sp.* et *Acinetobacter sp.*) 39 (8,7%), les *Enterococcus sp.* 30 (6,7%) et les *Staphylococcus sp.* avec le plus faible nombre et pourcentage 26 (5,8%).

#### 3.6.2. Infection nosocomiales du site opératoire

On remarque les entérobactéries prédominent les autres germes 318 (41,4%), suivi par les *Staphylococcus sp.* 202 (26,3%), les bacilles non fermententaires 97 (12,6%), *E. coli* occupe seulement 88 (11,5%), les *Enterococcus sp.* 52 (6,8%) et les levures en dernière position (1,4%) (Figure 21).

#### 3.6.3. Broncho-pneumopathie nosocomiales

La répartition des germes nosocomiales au niveau du site Broncho-pneumopathie montre que les bactéries non fermententaires sont en tête de liste 54 (32,2%), alors qu'*E coli* occupe la dernière position 4 (2,4%) (Figure 21).

#### 3.6.4. Bactériémies nosocomiales

Le genre entérobactérie est le plus répondu dans les infections nosocomiales du sang 31 (37,4%), suivi par *Staphylococcus sp.* 22 (26,5%) et seulement 10 (12%) des souches d'*E coli* ont été impliquées dans ces infections (Figure 21).

### 3.6.5. Infections nosocomiales liée aux cathéters

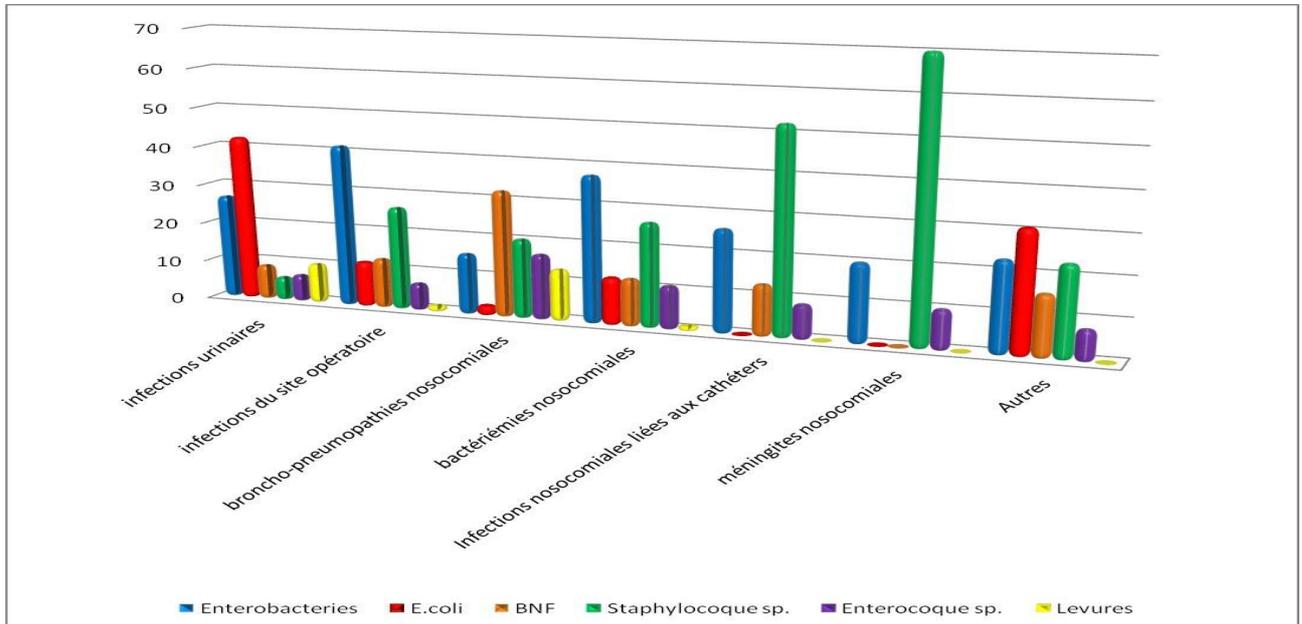
*Staphylococcus sp.* prédominant dans les infections des cathéters 52,2% (12), aucun cas n'a été détecté pour *E coli* et les levures (Figure 21).

### 3.6.6. Méningites

Les principales espèces bactériennes responsables étaient *Staphylococcus sp.* 7 (70%), suivi des entérobactéries 2 (20%), *Enterococcus sp.* 1 (10%) et aucun cas n'a été observé pour *E coli*, les bacilles non fermententaires et les levures (Figure 21).

### 3.6.7. Autres infections nosocomiales

La figure 19 montre que *E coli* est la plus fréquente 8 ;(30,8%) suivi par les *Staphylococcus sp.*, les entérobactéries 6 (23%), les bacilles non fermententaires 4 (15,5%), *Enterococcus sp.* 2 (7,7%) et aucun cas pour les levures (Figure 21).

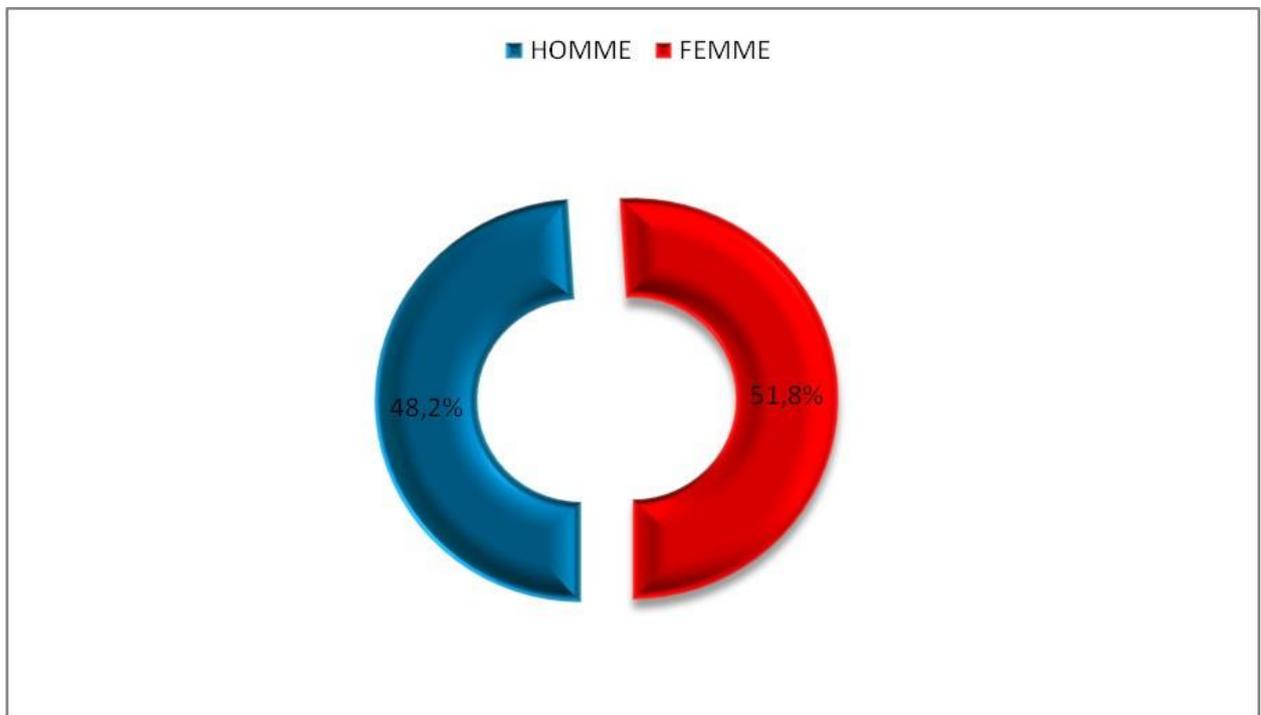


**Figure 21** : Répartition des souches bactériennes isolées selon le site.

### 3.7. Répartition d'*E coli*

#### 3.7.1. Répartition d'*E coli* selon le sexe

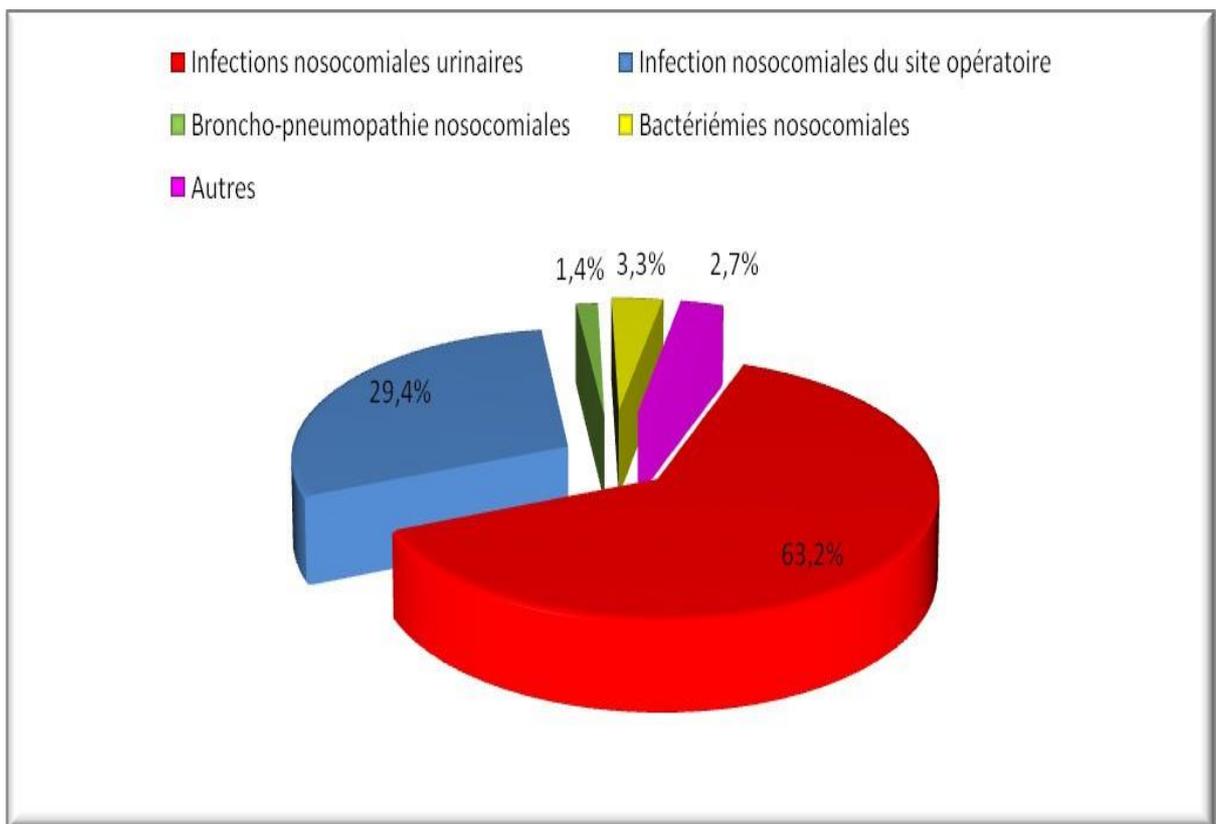
Le taux des infections nosocomiales causées par *E coli* touche les hommes et les femmes par un pourcentage de 48,2% à 51,8% respectivement (Figure 22). Cette répartition indique clairement que les femmes sont les plus touchées.



**Figure 22 :** Répartition d' *E coli* selon le sexe.

### 3.7.2. Répartition d'*E coli* selon le site

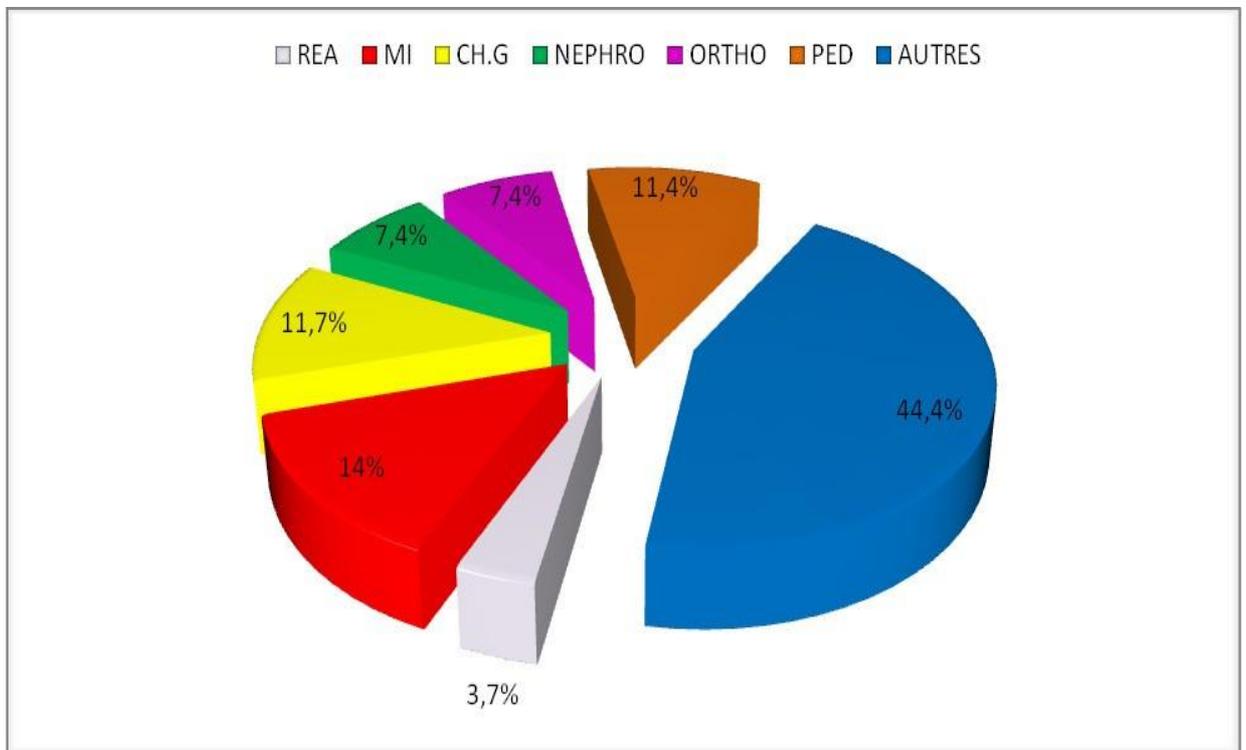
La distribution des souches d'*E coli* isolées aux différents sites révèle qu'elle occupe la première place 189 (63,2%) dans les urines (ECBU), la deuxième place 88 (29,4%) dans les prélèvements du pus superficiel ou profond, la troisième place 10 (3,3%) dans les hémocultures, 4 (1,4%) dans les prélèvements d'origines respiratoires, 8 (2,7%) dans les autres prélèvements (Figure 23).



**Figure 23 :** Répartition d' *E coli* selon la nature des prélèvements.

### 3.7.3. Répartition d'*E coli* selon les services

La distribution d'*E coli* isolées aux différents services révèle qu'elle occupe la première place dans la médecine interne avec 42 (14%), la deuxième place avec 35 (11,7%) dans la chirurgie générale, la troisième place 34 (11,4%) dans la pédiatrie, 22 (7,4%) dans la néphrologie et l'orthopédie, 11 (3,7%) dans la réanimation et enfin 133 (44,4%) dans l'ensemble des autres services ( pneumologie, cardiologie, urologie.....) (Figure 24)



**Figure 24 :** Répartition d' *E coli* selon les services

### 3.7.4. Répartition d'*E. coli* selon la résistance aux antibiotiques

Le tableau 6 montre les taux de résistance et de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*E. coli*.

Selon la figure 25 et le tableau 6, des taux élevés de résistance de 90 % sont enregistrés pour les  $\beta$ -lactamines (l'ampicilline et la ticarcilline). La fréquence la plus élevée (95%) est enregistrée pour le triméthoprime/sulfaméthoxazole.

Une sensibilité totale d'*E. coli* est enregistrée pour l'imipénème et la Colistine.

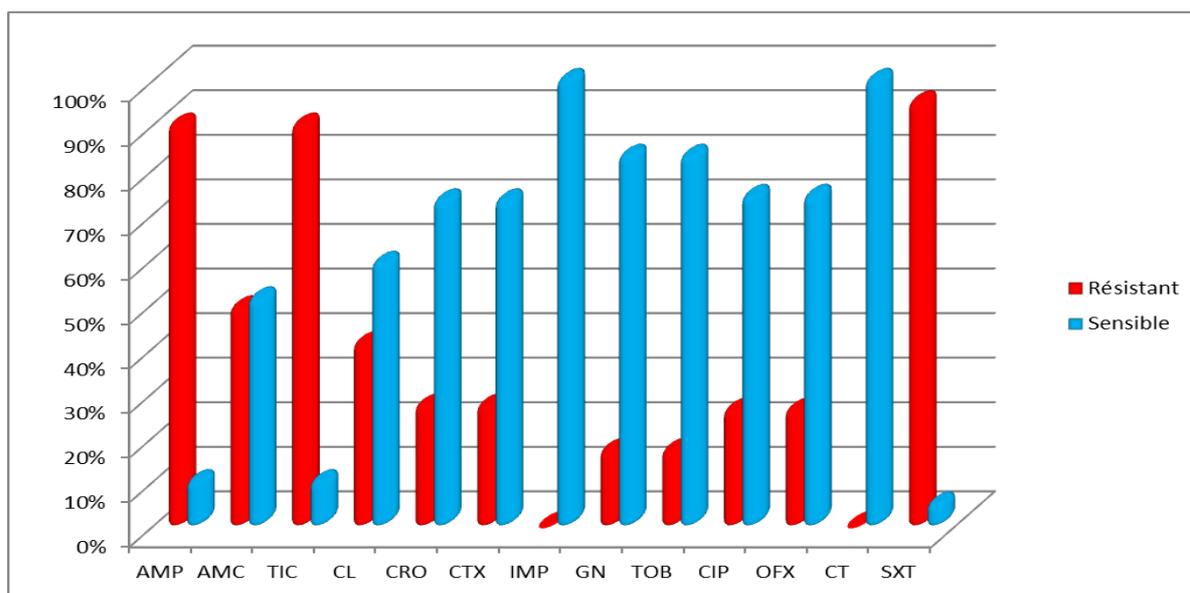
La même fréquence de résistance est enregistrée pour certaines familles d'antibiotiques : 27% pour les céphalosporines (ceftriaxone et céfotaxime), 17% pour les aminosides (gentamicine et tobramycine) et 26% pour les quinolones (ciprofloxacine et ofloxacine).

**Tableau 6** : Profil de résistance d'*E. coli* aux antibiotiques

Antibiotique	R		S	
	Nombre	%	Nombre	%
AMP	269	90%	30	10%
AMC	149	49%	150	51%
TIC	269	90%	30	10%
CL	123	41%	176	59%
CRO	80	27%	219	73%
CTX	80	27%	219	73%
IMP	00	00%	299	100%
GN	51	17%	248	83%
TOB	51	17%	248	83%
CIP	78	26%	221	74%
OFX	78	26%	221	74%
CT	00	00%	299	100%
SXT	284	95%	15	5%

R : résistant S : sensible

AMP : Ampicilline, AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique, TIC : Ticarcilline, CL : Cefalotine, CRO : Ceftriaxone, CTX : Céfotaxime, IMP : Imipénème, GN : Gentamicine, TOB : Tobramycine, CIP : Ciprofloxacine, OFX : Ofloxacine, CT : Colistine, SXT : Triméthoprime/sulfaméthoxazole.



AMP : Ampicilline, AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique, TIC : Ticarcilline, CL :Cefalotine, CRO : Ceftriaxone , CTX : Céfotaxime, IMP : Imipénème, GN : Gentamicine , TOB : Tobramycine, CIP : Ciprofloxacine , OFX : Ofloxacine , CT : Colistine ,SXT : Triméthoprim/sulfaméthoxazole.

**Figure 25 :** Profil de résistance d' *E coli* aux antibiotiques.

## Discussion des résultats

La fréquence des infections nosocomiales varie selon les pays, les hôpitaux et les services, et demeure influencée par différents facteurs de risque. La présente étude porte sur l'ensemble des bactéries isolées des prélèvements (urines, pus, cathéters, hémocultures, crachats, PDP, LCR...), reçus au niveau du laboratoire de Bactériologie de l'hôpital militaire régional Universitaire de Constantine, ainsi que la détermination de la place d'E coli dans la survenue des IN.

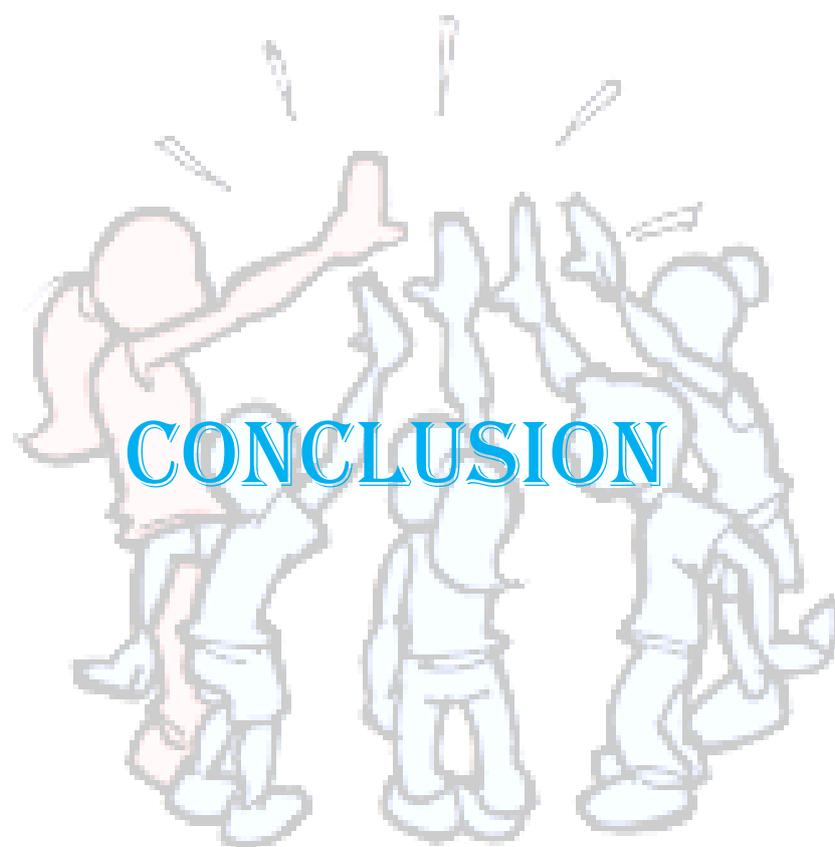
Nos résultats obtenus montrent que la médecine interne (17.2%) occupe la première position suivie par la chirurgie orthopédique (16.7%), la réanimation (14%). En revanche la plupart des travaux publiés dans la littérature ont mis en évidence que les patients des services de réanimation et des soins intensifs sont les plus exposés que les patients des autres services à contracter une IN au cours de leur séjour (Dhidah et *al.*, 2005 ; Kallel et *al.*, 1998)

.Cette différence ne peut être expliquée que par la taille des échantillons dans les différents services dont le service de réanimation est présenté par 16 cas, nombre inférieur par rapport aux 2 autres services, dont chacun est présenté par 40 cas. A Genève, Hugonnet et *al.*, (2000) ont montré que le risque le plus élevé (33 %) de contracter une Infection Nosocomiale se trouve dans les services de réanimation et des soins intensifs (Hugonnet et *al.*, 2000) .Ceci a une relation avec le nombre des patients suspecté qui ont été reçu dans chaque service qui reste toujours variable.

La plupart des études montre que les IN sont plus fréquents au sein du site opératoire et les urines (Kallel et *al.*, 2005; McLaws et *al.*, 1998). Ces résultats sont en accord avec notre étude, ce sont l'infection du site opératoire et l'infection urinaire qui occupent la première et la deuxième place (50,3% et 29,4%) respectivement. Ces deux localisations pourraient être liées à un déficit de l'hygiène hospitalière par une insuffisance au niveau de l'entretien du matériel et équipement ou une faute d'asepsie pré, per et/ou post opératoire ; la défaillance du lavage des mains constitue un problème universel. Ainsi, il (Khadhraoui et *al.*, 1996) est assez fréquent de constater que des soins médicaux ou infirmiers ne soient pas précédés par un lavage adéquat des mains (Skxd et *al.*, 2006).

Les infections à *E. coli* sont particulièrement fréquentes chez les malades hospitalisés dans les services : médecine interne (14%), chirurgie générale (11,7%) et la pédiatrie (11,4%). Ces résultats diffèrent de ceux rapportés par Aissi et *al.* (2008) qui indiquent des taux plus importants dans ces services. Dans notre étude *E. coli* domine nettement le profil général des bactéries responsables d'infections urinaires. Le comportement de cette bactérie pathogène majeure à l'hôpital, vis-à-vis des antibiotiques reflète à la fois la pression de sélection hospitalière et communautaire des antibiotiques (Bean et *al.*, 2006).

D'après tous ce qui est dit, il est indispensable de respecter les règles élémentaires d'hygiène et de travail avec l'utilisation judicieuse des ATB, éviter l'entrée des visiteurs présentant une maladie des voies respiratoires ou toute autre maladie transmissible dans les secteurs de soins et la mise en place de la culture de coopération, de dialogue entre les médecins, les infirmières et les pharmaciens et tous les spécialistes dans ce domaine afin de trouver des solutions et lutter contre ces infections.



Le présent travail dont la réalisation a été facilité grâce à la collaboration du laboratoire de Microbiologie de l'hôpital militaire régional Universitaire de Constantine, visant pour l'objectif d'étudier in vitro les caractéristiques épidémiologiques des infections associées aux soins (IAS) et la place d'*E. coli* dans ces infections nosocomiales. Ces dernières constituent un problème de santé publique réel qui génère un coût économique et humain considérable.

A la lumière des résultats obtenus, il en ressort que les services hospitaliers les plus exposés aux infections nosocomiales sont : la médecine interne (17,2%) suivi par le service de chirurgie orthopédique (16,7%) et le service de réanimation (14,5%).

Les résultats obtenus ont montré que les bacilles à Gram négatifs occupent la première place avec une prédominance des entérobactéries (33,3%) majoritairement *E. coli* (19,6%) avec une prédominance dans les infections urinaires (63,2 %) et une résistance remarquable pour la majorité des antibiotiques. L'infection à *E. coli* peut être d'origine endogène après modification de la flore par une antibiothérapie, ou d'origine exogène à partir d'un autre patient ou d'un foyer de l'environnement.

Vu la multifactorialité des infections nosocomiales qui englobe l'hygiène hospitalière, la transmission croisée, le matériel de cathétérisme, les flores de l'hôte, l'antibiothérapie, de souches bactériennes hautement résistantes aux antibiotiques. Certaines suggestions sont proposées d'après nos résultats et la revue de la littérature :

- Améliorer la formation : du personnel médical et paramédical pour assurer une bonne sécurité des gestes de soins et bon usage des antibiotiques.
- Limiter les visites : Les visiteurs présentant une maladie des voies respiratoires ou toute autre maladie transmissible ne devraient pas entrer dans les secteurs de soins.
- Nettoyage et désinfection du matériel et des surfaces après chaque geste de soin et entre chaque deux patient.
- Rationaliser et Contrôler l'usage des antibiotiques pour pouvoir diminuer la résistance bactérienne aux antibiotiques.
  - Le patient ne doit pas manipuler personnellement les dispositifs invasifs tels que les cathéters, sondes, drains,...

- Enfin, doter les laboratoires de bactériologie en équipement permettant de poursuivre la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne aux antibiotiques.



**RÉFÉRENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## A

**Abi-Said D1, Raad I, Umphrey J, Gonzalez V, Richardson D, Marts K, Hohn D.1999).** infusion therapy team and dressing changes of central venous catheters. s.l. : infect control Hosp Epidemiol, ;. 20:101-105.

**Aissi I., Ghorzzy R., Kammoun A., Saidani M., et al. (2008).** Profil de résistance aux ATB des *E. coli*, isolées des infections urinaires à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis. REv. Tun Infectiol. 2(3). 12-39.

**Amadou Diallo Alpha. (2013).***Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse- délivré par l'université Toulouse iii- Paul Sabatier- Discipline ou spécialité : Microbiologie.

**Amara Imene Khaldi Zohra.(2015)** .Isolement, identification et étude de l'antibiorésistance des souches bactériennes isolées à partir de services de réanimation et d'hémodialyse de CHU Ouargla-mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master académique-le : 11/06/2015.

**Antoine Vimont.( 2007).**Optimisation de la recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC)- 29 Mar 2007.

**Astragneau P.( 1998).** Epidémiologie des infections nosocomiales. RevPrat ; 48 : 1525-9.

**Avril J.L., P Donnio.( 1989).** La surveillance des infections nosocomiales. Revue du praticien, 39, (16), 1381, 5.

## B

**Baroud M.D. Touze et al. (1998).** L'infection hospitalière à *Staphylocoque* en milieu chirurgical. IN : L'infection en réanimation. Edition Masson, 13-17.

**Bean, D.C., Krahe, D. and Wareham, D.W. (2008).** Antimicrobial Resistance in Community and Nosocomial *Escherichia coli* Urinary Tract Isolates, London 2005-2006. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 7, 13.

**Benaibout M.K.(2006).** *Escherichia coli* potentiellement pathogènes pour l'homme:synthèse bibliographique sur le portage par les animaux domestiques et la transmission à l'homme par la contamination de l'environnement- thèse pour obtenir le

grade de docteur vétérinaire diplôme d'état -présentée et soutenue publiquement en 2006 - devant l'université Paul Sabatier de Toulouse.

**Beutin L. (1999).** *Escherichia coli* as a pathogen in dogs and cats. Vet. Res **30** : 285-298.

**Bouvet P J M et Crimont P.A.D. (1989).** Acinetobacter. In : Le MINOR L et VERON M, eds. Bactériologie Médicale. Paris : Flammarion, 599-604.

---

## C

**Cahn C, Vezin C. (2002).** Malin Trop Afrique, Manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique. Editions John Libbey, Paris. P :352.

**Carlet. J, Guibert. J.( 1989).** Infections urinaires nosocomiales : épidémiologie, dépistage, prévention et conduite à tenir. Revue du praticien, 39 (14) : 1386-91.

**Chaouki Fadoua.( 1995).** L'infection urinaire urologique en milieu hospitalier. Thèse de Pharmacie / faculté de médecine et de pharmacie de Rabat n° 87.

---

## D

**Définition des infections nosocomiales.( 1994).** In Guide pour la prévention des infections nosocomiales en réanimation. Edition Arnette 1994.

**Delmée. M. (2003).** Université Catholique de Louvain Faculté de Médecine-microbiologie médicale.2003-2004.

**Delmont . J et Pichard E. (2016).** Trop Maladies infectieuses tropicales -2016 édition web - mise à jour août 2016-Editions Alinéa Plus-par le Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales.

**Dhidah L, Dhidah M, Miladi M. (1998).** Place de la plaie opératoire dans les infections nosocomiales – étude de prévalence au CHU Sahloul – Sousse – Tunisie. 76 (11).

**Dubos R. (2012).** Résistance aux antibiotiques : une impasse thérapeutique ? Implications nationales et internationales .Séance thématique inter-académique; Académie nationale de médecine, Académie nationale de Pharmacie, Académie vétérinaire de France. Compte rendu mercredi 21 novembre 2012.

**Ducel. G, J. Fabry, L. Nicolle, R. Girard, M. Perraud, A. Prüss, A. Savey, E.**

**Tikhomirov, M. Thuriaux, P. Vanhems. (2002).**Prévention des infections nosocomiales

Guide pratique 2e édition.

---

**F**

**François Denis, Marie-Cécile Ploy, Christian Martin, Vincent Cattoir. (2016).**Bactériologie médicale Techniques usuelles-3eme édition-Elsevier masson

---

**H**

**Hamza R. (2010).** Epidemiologie des infections associées aux soins. Revue Tunisienne d'Infectiologie - Janvier 2010, Vol.4: 1 – 4.

**Horan T, Andrus M, Dudeck M. (2008).**surveillance definition of health care associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. Am. J. Infect. Control, 36 : 309-332.

**Hugonnet S, Pittet D. (2000).** Infections nosocomiales : réalité et impact. Med Hyg s.d. ; 2298 (20465).

---

**J**

**Jarvis WR1, Edwards JR, Culver DH, Hughes JM, Horan T, Emori TG, Banerjee S,**

**Tolson J, Henderson T, Gaynes RP, et al. (1991).** Nosocomial infection rates in adult

and pediatric intensive care units in the united states. Am. J. Med, 1991, 91 (supp 3. B) 1955-1915.

**Jean Delmont et Eric Pichard. (2016).** ePILLY. Trop Maladies infectieuses tropicales -2016 édition web -mise à jour août 2016-Editions Alinéa Plus-par le Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales.

**Jean-Paul Gaudière. (2002).** « Entre biologistes, militaires et industriels : l'introduction de la pénicilline en France à la libération » La revue pour l'histoire de CNRS, N7-Novembre 2002.

**Johnson J, Russo T. (2005)** Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *E. coli*. Int J Med Microbiol. ;295(6-7):383-404. Revue.

**K**

---

**Kallel H, Bahloul M, et al.( 2005).** Prevalence of hospital-acquired Infection in a Tunisian hospital.N J Hosp Infect; 59 (4) : 343-7.

**Kaoutar B, july C,l'Herite au F,Barbut F,Robert J,Denis M,et al.** Nosocomial infections and hospital mortality:a multicenter epidemiology study.J Hosp infect. 2004 ;. 58:268-75.

**Kaper JB1, Nataro JP, Mobley HL (2004).** Pathogenic *Escherichia coli*. Nat. Rev. Microbiol. 2:123-140.

**Khadhraoui M.( 1996).** Surveillance des infections nosocomiales. Enquête de prévalence pour passages répétés : CHU. Sahloul (1992-1995) Sousse, Tunisie. [Thèse de Médecine]. Sousse : Faculté de Médecine, : 77 p.

**L**

---

**Leroy O.( 1998).** Pneumonies nosocomiales. Lettre infect ; 6 : 254-261.

**Levine, M. M. (1987).** *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. J Infect Dis 155:377-89.

**M**

---

**Maki DG, Stolz SM, Wheeler S, Mermel LA. .( 1977).** Prevention of central venous catheter-related bloodstream infection by use of an antiseptic-impregnated catheter. A randomized, controlled trial. Ann Intern Med. 1997 Aug 15;127(4):257–266.

**Mainil J.( 2003).**Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*E.coli* (II). Franchissement des muqueuses et propriétés invasives.Ann. Med. Vet.;147(3):159-171.  
Revue

**Marfi Abdelhafid.(2014).**Les infections nosocomiales au service de réanimation polyvalente A1-23/12/2014-pour l'obtention du doctorat en médecine.

**Marion Kern-Benaibout .(2006).***Escherichia coli* potentiellement pathogènes pour l'homme :synthèse bibliographique sur le portage par les animaux domestiques et la transmission à l'homme par la contamination de l'environnement- thèse pour obtenir le grade de docteur

vétérinaire diplôme d'état -présentée et soutenue publiquement en 2006 -devant l'université Paul Sabatier de Toulouse par Estelle.

**Mchich Anas.( 2002 ).**les infections nosocomiales à propos de 55 cas colligés au Maroc université Cheikh Anta Diop de Dakar faculté de médecine, de pharmacie et d'odontologie département de pharmacie- thèse présentée et soutenue publiquement pour obtenir le grade de docteur en pharmacie (diplôme d'état)-Sous la direction de Issa Lô, Professeur le 05 juillet 2002-N° 40

**McLaws ML, Gold J. (1998).** The prevalence and community-acquired infections in Australian hospitals. *Med J Aust* 1998; 149 (11-12) : 582-90.

**Mokady D, Gophna U, Ron E.( 2005 ).** Extensive gene diversity in septicemic *E. coli* strains.*J Clin Microbiol.*;43(1):66-73.

N

---

**Nataro,J. B. Kaper(1998).** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*11:142-201.

O

---

**Orskov .F, O. I. (1984).** Serotyping of *Escherichia coli*. *Methods Microbiol.* 14:43-112.

P

---

**Paul G. Ambrose, Robert C. et al.( 1998).** Antibiotic. Use in the int. Care unit-Int. CARE. *Clin .* 14 (2) 283 -308

**Pittet Jérémy , Valentin Loup , Maria Senra Ortiz, Antony Croxatto, Guy Prod'hom.( 2014).** Secrets de la méthode des 4 quadrants- Ecole Supérieure de la Santé, LausanneLes - 12/03/2014

**Popi.( 2003).**Maladies infectieuses. Paris : CMIT, :185-224

Q

---

**Qassimi Loubna.(2010).** Épidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation (à propos de 147 cas)-15/03/2010-Thèse en vue pour l'obtention du doctorat en médecine

**R**

---

**Raisin.( 2009).**A national program early warning investigation and surveillance of healthcare associated infection in France. s.l.:Descenlos JC.RAISIN working group .eurosurveil. 14(46) pii:19408.

**S**

---

**Schaffner William.(2005).** Les infections nosocomiales. CECIL Traité de médecine interne. 1ère édition française. ch : 267. P 1548-1555.

**Skxd H, DmDah L, et al.( 2006).** Changement de pansement et risque infectieux des plaies opératoires. Étude prospective dans un service de chirurgie cardio-vasculaire.

**T**

---

**Tasseau F, Baron D.(1989).** Infections nosocomiales. In: BRUCKER G et FASSIN D, eds. Santé publique. Paris : Ellipses, ; 478-92.

**Thibault Monnet.( 2011).** Les infections nosocomiales : l'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause : exemple de quelques techniques de diagnostic permettant cette identification précoce- thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état- le 9 décembre 2011.

**U**

---

**Université Pierre et Marie Curie.(2003).**Bactériologie-Niveau DCEM1-2002-2003-Service de Bactériologie-Mise à jour : 24 mars 2003-122 pages(69-70).

**V**

---

**Vimont A. (2007).** Optimisation de la recherche des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC)- 29 Mar 2007.

**W**

---

**World Health Organization (WHO).(1980).**Escherichia coli diarrhoea. Bulletin of the World Health Organization 58:23-36.

**Z**

---

**Zeroual Zouhair.( 2012).**profil épidémiologique et bactériologique des infections nosocomiales (à propos d'une Enquête de prévalence des infections nosocomiales du CHU Ibn Sina de Rabat Janvier-2010)- université mohammed V faculté de médecine et de pharmacie –rabat année: 2012- pour l'obtention du doctorat en pharmacie.

**Zitouni Aicha .Bouchama Meriem.( 2016).**Les maladies nosocomiales( caractérisation des infections urinaires année 2016)-mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

**Les sites web consultés**

[http://www.mastgrp.com/IFUS/IFU354\\_FR.pdf](http://www.mastgrp.com/IFUS/IFU354_FR.pdf)

<http://www.microbiologie-medicale.fr/metabolisme/citratledesimmons.htm>

[http://mas.stephanie.free.fr/microbiologie\\_bio1/fiches%20pdf/galerieAPI20E.pdf](http://mas.stephanie.free.fr/microbiologie_bio1/fiches%20pdf/galerieAPI20E.pdf)



# ANNEXES

## Annexes 1 : Les milieux de culture

<b>Solutions</b>	<b>composition</b>	
<b>Urée-indole</b>	Tryptophane	3g/L
	Urée	20g/l
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1g/l
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g/l
	NaCl	5g/l
	Alcool à 95°	10 mL
	Rouge de phénol	2,5 mL
<b>Violet de Gentiane</b>	Violet de Gentiane	10 g
	Phénol	20 g
	Éthanol (90 °GL)	100 ml
	Eau distillée	1 l
<b>Lugol</b>	Iodure de potassium	2 g
	Iode métalloïde I <sub>2</sub>	1 g
	Eau q.s. ad	100 g
	q.s. ad 100 g signifie "quantité suffisante pour obtenir 100 g de solution"	
<b>Fuchsine</b>	Fuchsine basique	10 g
	Phénol	50 g
	Éthanol	100 mL
	Eau distillée	1 L
<b>Milieux de culture solides</b>	<b>Composition</b>	
<b>Mueller Hinton</b>	Infusion de viande de bœuf	300,0 g /l
	Hydrolysate de caséine	17,5 g /l
	Amidon	1,5 g /l
	Agar	17,0 g /l
	Eau distillée (qsp)	1L
<b>TSI : Triple SugarIron Agar</b>	Peptones de caséine	15 g /l

	Peptones de viande	5 g /l
	Extraits de viande	3 g /l
	Peptones de levure	3 g /l
	NaCl	5 g /l
	Lactose	10 g /l
	Saccharose	10 g /l
	Glucose	1 g /l
	Citrate ammoniacal de Fer (III)	0,5 g /l
	Thiosulfate de sodium	0,5 g /l
	Rouge de phénol	0,024 g /l
	Agar	12 g /l
<b>Gélose Hektoën</b>	Protéose peptone	12g
	Extrait de levure	3g
	Chlorure de sodium	5g
	Thiosulfate de sodium	5g
	Sels biliaires	9g
	Citrate de fer III et d'ammonium	1,5g
	Salicine	2g
	Lactose	12g
	Saccharose	12g
	Fuschine acide	0,1g
	Bleu de bromothymol	0,065g
	Agar	14g
	Eau distillée (qsp)	1000mL
<b>citrate de simmons</b>	Sulfate de Mg	0,2 g/l
	Phosphate monoammoniaqué	1g/l
	Phosphate bipotassique	1g/l
	Citrate de sodium	2g/l
	NaCl	5g/l
	Bleu de bromothymol	0,08g/l
	Agar	15g/l
	pH	6,8

## Annexe 2 : Les techniques des colorations

La coloration	La technique
<b>Coloration de Gram</b>	<p><b>Préparation du Frottis :</b></p> <p>En effectuant une fixation simple à l'eau et à la flamme selon les indications suivantes : sur une lame, déposer une goutte d'eau stérile. Ajouter à l'ansede platine stérilisée une goutte de la colonie isolée. Étaler et fixer à la chaleur à environ 40°C pendant 10 à 15 minutes. Poser la lame séchée sur le portoir reposant sur un bac de coloration.</p> <p><b>Réalisation de la coloration :</b></p> <p><b>1-Coloration primaire :</b> Coloration par leviolet de gentianeou cristal violet. Laisser agir de 30 secondesà 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.</p> <p><b>2-Mordantageaulugol (solution d'iodeiodo-iodurée):</b> étaler le lugol et laisser agir 60 secondes ; Rincerà l'eau déminéralisée. On peut réaliser une deuxième fois l'opération identiquement pour plus de sécurité.</p> <p><b>3- Décoloration (rapide) à l'alcool(+acétone):</b> verser goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit êtreclair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée.</p> <p><b>4- Contre-coloration à lasafranineou à lafuchsine.</b>Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laverdoucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes</p>

## Annexes 3 : Lecture d'ECBU

Leucocyturie/mL	BactériesUFC /mL	INTERPRETATION
$\leq 10^4$	$< 10^3$	<b>Pas d'infection</b>
$\geq 10^4$	$\geq 10^5$	<b>Infection urinaire</b>
$< 10^4$	$10^4 - 10^5$	<p><b>Bactériurie sans leucocyte</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Contamination du prélèvement avec mise en culture tardive surtout si plusieurs espèces</li> <li>• Infection débutante</li> <li>• Infection sur terrain particulier : femme enceinte, nourrisson, diabétique ou aplasique, immunodéprimé</li> </ul> <p><b>Un nouveau prélèvement est nécessaire</b></p>
$\geq 10^4$	$< 10^3$	<p><b>Leucocyturie sans germe</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Infection décapitée par traitement antibiotique précoce avant prélèvement. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sécrétions génitales</li> <li>• Tuberculose urinaire : bactéries ne cultivent sur les milieux usuels (Cf. cours sur les mycobactéries).</li> <li>• Urétrite (<i>Chlamydiae</i>, mycoplasme), donnant signes de cystite chez la femme.</li> </ul> </li> </ul>

Annexe 4 : Les caractères biochimiques d'*E.coli*

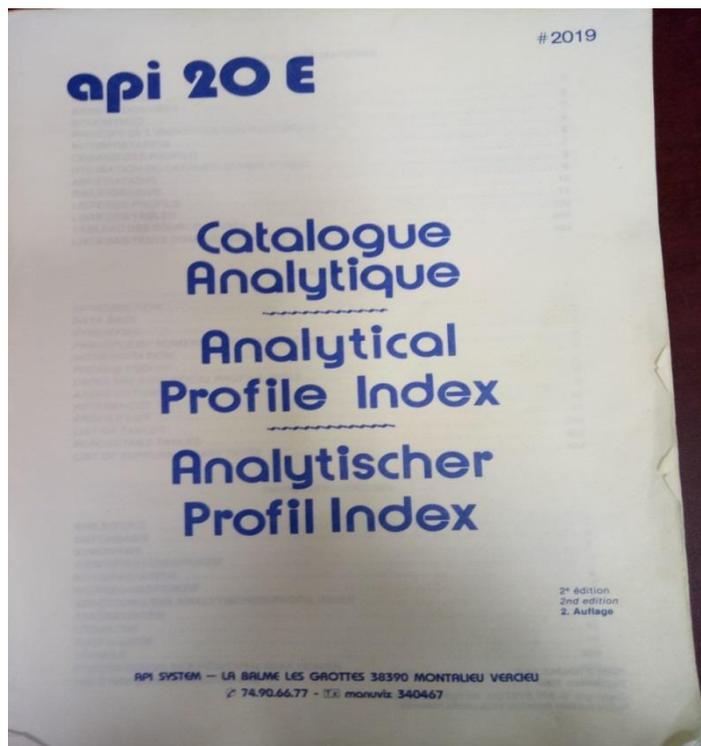
Caractères biochimique	LDC	ODC	ADH	URE	VP	GEL	CS	CC	H <sub>2</sub> S	IND	MAL	PDA	βGAL	LAC	GLU	MAN	SAC	SOR	RHA	ADO	DUL	INO
Ecoli	+	d	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	d	+	+	d	+	+	-	-	-

## Annexe 5: Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20E

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
<b>ONPG</b>	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β-galactosidase	Lecture directe		
<b>ADH</b> <b>LDC</b> <b>ODH</b>	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
<b>CIT</b>	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Lecture directe		
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Lecture directe		
<b>TDA</b>	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte ajouter 1 goutte de réactif TDA		
<b>IND</b>	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		



**Annexes 7: un catalogue analytique**



**Annexe 8: Distributeur de disques d'antibiotiques**



## Annexes 9: Tableaux de lectures des antibiotiques

Table de lecture 1\* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries*.

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2
Céfalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤ 14	----	≥ 15	≥ 32	----	≤ 16
Céftazidime	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4
Aztréonam	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4
Imipénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5
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
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Colistine**	CMI	-----	-----	-----	>2	-----	≤2
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/ 23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38

**THÈME : PLACE D'ESCHERICHIA COLI DANS LES INFECTIONS  
NOSOCOMIALES****Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie microbienne.**

L'objectif principal de notre étude était d'isoler et d'identifier des souches d'*E. coli* associées aux infections nosocomiales par l'étude de divers prélèvements pathologiques (urine, pus, LCR,...) chez des patients hospitalisés au niveau de différents services de l'HMRU de Constantine (réanimation, médecine interne, chirurgie générale,...), et la détermination de la place d'*E. coli* dans les infections nosocomiales ainsi que l'étude du comportement de l'ensemble des souches vis-à-vis des antibiotiques testés afin d'évaluer le profil de résistance de ce pathogène.

L'étude des caractères biochimiques a révélé 299 échantillons positifs à *E. coli*. Les résultats épidémiologiques montrent que les services les plus touchés par les infections nosocomiales sont la médecine interne (17,2%) suivi par le service de chirurgie orthopédique (16,7%) et le service de réanimation (14,5%). Ces germes sont principalement isolés à partir du pus du site opératoire (50,3%) et des urines (29,4%). Généralement, les entérobactéries occupent la première place dans tous les prélèvements (33,3%), alors qu'*E. coli* est la plus fréquente en néphrologie (32,8%) et en pédiatrie (27,4%). Au cours de notre travail nous avons également constaté qu'*E. coli* prédomine dans les infections urinaires avec un taux de 63,2 % et occupe la première place (14%) dans le service de médecine interne, la deuxième place (11,7%) dans la chirurgie générale et la troisième place (11,4%) dans la pédiatrie.

L'étude de la résistance des souches d'*E. coli* aux différents antibiotiques montre que le niveau de résistance était plus faible pour les aminosides (gentamicine et tobramycine) (17%), pour l'imipénème et la Colistine (0 %), par contre des taux élevés de résistance (90 %) ont été remarqués pour les  $\beta$ -lactamines (l'ampicilline et la ticarcilline) et le triméthoprime/sulfaméthoxazole (95 %). L'étude de la résistance d'*E. coli* aux antibiotiques, montre une multirésistance, dont il faut tenir compte en mettant en place une stratégie de prévention active dans les hôpitaux.

**Mots clés :** Infections nosocomiales, *Escherichia coli*, Infection urinaire, résistance aux antibiotiques.**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de microbiologie-parasitologie de l'HMRU de Constantine

Jury d'évaluation :

<b>Président du jury :</b>	Mr R. CHABBI	(MAA - UFM Constantine).
<b>Rapporteur :</b>	Mme N. RIAH	(MCB - UFM Constantine).
<b>Examinatrice :</b>	Mme M. GACI	(MAA - UFM Constantine).

**Date de soutenance :** 04/07/2017