

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences Biologiques**



**Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de MASTER ACADEMIQUE**

**Domaine : Science de la Nature et de la Vie**

**Filière : Biologie**

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

**Présente par : BENCHEIKH KENZA**

**DJAOUT SOULEF**

**Thème**

**Dépistage et isolement des bactéries multi  
résistantes en réanimation de l'hôpital  
MOHAMED BOUDIEF, Ouargla**

**Soutenu publiquement Le :**

**27/06/2018**

**Devant le jury :**

<b>Mme.SIBOUKEUR</b>	<b>M.C.B</b>	<b>Présidente</b>	<b>UKM Ouargla</b>
<b>-Melle.DJELLOUL DAOUADJIS.</b>	<b>M.A.A</b>	<b>Encadreur</b>	<b>UKM Ouargla</b>
<b>-Mr.BOURICHA.M.</b>	<b>M.A.A</b>	<b>Examineur</b>	<b>UKM Ouargla</b>

**Année universitaire : 2017/2018.**

## *Remerciement*

*En préambule à ce mémoire, nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement M<sup>lle</sup> Djelloul Daouadji Soumia maitre-assistant à l'université Kasdi Merbah Ouargla en tant que promotrice de thèse, s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers M. Bouricha M'hamed maitre-assistant à l'université Kasdi Merbah Ouargla qui a eu la gentillesse de lire et d'examiner ce travail.*

*Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a fait M<sup>me</sup>. SIBOUKEURAMINA maitre de conférences à l'université Kasdi Merbah Ouargla en étant présidente du jury.*

*Nous aimerions exprimer notre gratitude et nos remerciements à tous les membres de jury.*

## *Dédicace*

### *A Dieu tout puissant*

*C'est à Dieu que je dois ce succès aujourd'hui, à lui soit la gloire.*

### *A mes chers parents*

*Qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études, leurs soutiens permanent dans ma vie, leurs confiances en moi, leurs sacrifices, et leurs encouragements, leurs amour et leurs patiences ont été pour moi le gage de la réussite J'espère que je réalise aujourd'hui un de leurs rêves.*

*A mes soeurs **Amina, Yasmine**, pour leur tendresse, toute l'affection qu'elles*

*m'ont donnée et pour leurs précieux encouragements.*

*A mes frères **Mohamed et Amine** qui m'ont toujours encouragé .*

*A mes chères amies **Khadija , Djaout Soulef et imane** qui sont pour moi des vraies sœurs.*

***Kenza***

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail, fruit de mes études*

*A*

*A Dieu, tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et  
le courage de réaliser ce précieux travail.*

*Mes très chers et adorables parents qui m'ont toujours fort encouragé et  
aider dans la  
recherche du savoir durant tout mon parcours avec beaucoup de  
tendresse de dévouement de  
gentillesse d'amour, et leurs affections et qui ont toujours éclairé mes  
chemins.*

*Mes tendres sœurs **Chaima**, et **Malak**, pour leurs amours et leurs  
générosités.*

*A mes chères copines **kenza**, **Khadidja**, **Imane**.*

*Et à tous mes proches.*

*A tous ce qui m'ont apporté d'aide de près ou de loin.*

*soulef*

## Liste des abréviations

**ADH** : Arginine Dihydrolase.

**AML** : Amoxicilline.

**AMP** : Ampicilline.

**AN** : Amikacine.

**BGNnF** : Bactéries Gram négative non fermentaire

**BMR** : Bactéries Multirésistantes.

**BN** : Bouillon nutritif.

**β-gal** : β-galactosidase.

**C** : Chloramphénicol.

**CASFM** : Comité de L'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire.

**CN** : Gentamycine.

**CTX** : Céfotaxime.

**CAZ** : Céfazoline.

**DO** : Densité Optique.

**E** : Erythromycine.

**ECBU** : examen cytobactériologique des urines

**ECG** : L'électrocardiographie

**FOX** : Céfoxitine.

**ID** : Identification.

**IMP** : Imipénème.

**IN** : Infection Nosocomiale.

**L** : Lincomycine.

**LDC** : Lysine Décarboxylase.

**MH** : Mueller-Hinton

**Nb** : Nombre.

**NIT** : Nitrate.

**ODC** : Ornithine Décarboxylase.

**ONP** : Orthonitrophénol.

**ONPG** : Ortho-nitrophényl- $\beta$ -galactoside.

**OX** : Oxacilline.

**P** : Pénicilline.

**pH** : potentiel d'Hydrogène.

**P** : Pristinamycine.

**R** : Résistante.

**RAS** : Réseau Algérien de surveillance

**Rif** : Rifampicine.

**RM** : Rouge de Méthyle.

**S** : Sensible.

**S** : Souche.

**SCN** : Staphylocoques à coagulase négative.

**SU** : Sonde Urinaire.

**SXT** : Triméthoprim.

**SP** : sécrétion pulmonaire

**ST** : sonde d'intubation

**TSI** : Triple Sugar Iron.

**TDA** : tryptophane désaminase

**Tob** : Tobramycine.

**UFC** : Unité Formant Colonie.

**VA** : Vancomycine.

**VP** : Vosges Prauskauer.

## Liste des tableaux

Tableau 1. Les antibiotiques testés sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	34
Tableau 2. Les antibiotiques testés sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
Tableau 3. Les antibiotiques testés sur <i>les entérobactéries</i> .....	35
Tableau 4. Nombre de prélèvements effectué dans le service de réanimation.....	47
Tableau 5. La résistance de <i>Sptreptococcus sp</i> aux différents antibiotiques testés.....	69
Tableau 6. Le taux de résistance de la souche <i>Acinétobacter sp</i> isolé .....	71

## Liste des figures

Figure 1. Représentation schématique de la paroi des bactéries à Gram-positif et des bactéries à Gram-négatif. Chez les bactéries Gram-positif (Verdet, 2007). .....	6
Figure 2. Différents modes d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007). .....	10
Figure 3. Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (Henriet et Guillemot, 2000). .....	18
Figure 4. Intubation trachéale (principales voies d'acquisition des microorganismes) (Espinasse, 2010). .....	27
Figure 5. Les différentes zones à risque d'une infection urinaire (Lamarre, 2000) .....	28
Figure 6. Test de synergie pour la détection des BLSE .....	44
Figure 7. Test du rapprochement des disques .....	45
Figure 8. Test de détection des SARM .....	46
Figure 9. Distribution des prélèvements selon le sexe .....	48
Figure 10. Répartition des malades selon l'âge .....	49
Figure 11. Répartition des malades selon la durée de séjour dans le service de réanimation ..	49
Figure 12. Répartition des malades selon l'évolution .....	50
Figure 13. Répartition des cultures positives et négatives des prélèvements .....	51
Figure 14. Distribution des souches Gram positifs et négatifs isolées dans le service de réanimation durant la période d'étude à l'hôpital MOHAMMED BOUDIAF d'OUARGLA .....	52
Figure 15. Distribution des souches Gram positifs isolées dans le service de réanimation .....	53
Figure 18. Observations microscopiques des souches de <i>Staphylococcus</i> après une coloration de Gram à grossissement x100. ....	54
Figure 16. Photo de colonies de <i>S. aureus</i> sur milieu Chapman .....	54
Figure 17. Photo de colonies de <i>SCN</i> sur milieu Chapman .....	54
Figure 19. Photo de la production de catalase par les cocci à Gram positif isolé .....	55
Figure 20. Photo d'observation du test de coagulase libre (coagulase positive) .....	55
Figure 21. Photo d'observation du test de coagulase libre (coagulase négative) .....	55
Figure 22. Distribution des souches de <i>Staphylococcus sp</i> isolés dans le service de réanimation .....	56
Figure 23. Répartition des souches <i>Staphylococcus aureus</i> selon le type des prélèvements .....	57
Figure 24. Photo de coloration de Gram de <i>Streptococcus</i> .....	57



Figure 25.Photo colonies <i>Bacillus sp</i> sur milieu Chapman.....	58
Figure 26.Répartition des bactéries Gram négatifs .....	59
Figure 27.Photo colonies <i>Nesseria sp</i> sur milieu gélose au sang cuit.....	59
Figure 28. Photo de coloration de Gram de <i>Nesseria sp</i> .....	60
Figure 29 . Aspects des colonies de <i>Pseudomonas auruginosa</i> sur le milieu Hektoen (sucre -) .....	60
Figure 30 . Aspects des colonies de <i>E.coli</i> sur le milieu Hektoen (sucre +) .....	60
Figure 31. Photo de coloration de Gram des bacilles isolés.....	61
Figure 32. Résultats de quelques tests de la galerie biochimiques classiques .....	61
Figure 33. Culture de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur le milieu King A.....	62
Figure 34.Répartition des bacilles fermentant et non fermentant .....	62
Figure 35. Répartition des (BGNnF) isolés à partir du service de réanimation .....	63
Figure 36.La répartition des <i>pseudomonas sp</i> selon les types de prélèvements .....	64
Figure 37. Répartition de la flore Gram négatives fermentative (Entérobactéries) .....	65
Figure 38.Répartition des entérobactéries isolées selon le type de prélèvements.....	65
Figure 39.Taux de résistance aux antibiotiques des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> isolé	66
Figure 40. Résultats d'antibiogramme d'une souche de <i>Staphylococcus aureus</i> isolé à partir de sécrétion pulmonaire .....	67
Figure 41. Résultat du test de détection de la méticillino-résistance de la souche <i>S.aureus</i> isolé à partir de sécrétion pulmonaire. ....	68
Figure 42.Taux de résistance aux antibiotiques des souches <i>Pseudomonas sp</i> isolées.....	70
Figure 43. Résultat d'antibiogramme de <i>Pseudomonas sp</i> isolé à partir d'une sonde d'intubation .....	70
Figure 44. Résultat d'antibiogramme d' <i>Acinétobacter sp</i> isolé à partir de sécrétion pulmonaire.....	71
Figure 45.Taux de résistance aux beta- lactamines des souches des Entérobactéries isolées..	73
Figure 46.Résultats de résistance de <i>klebsiella pneumonie</i> isolé à partir d'une sonde d'intubation à différentes antibiotiques des beta- lactamines .....	73
Figure 47.Taux de résistance aux autres classes des souches d'entérobactéries.....	74
Figure 48.Résultats de résistance de <i>klebsiella pneumonie</i> isolé à partir d'une sonde d'intubation aux différentes autres classes des antibiotiques. ....	74
Figure 49. Test d'approchement des disques .....	75
Figure 50.test de synergie.....	75

Figure 51. Répartition des mécanismes de carbapénèmases chez les Entérobactéries isolées dans le service de réanimation .....	77
Figure 52. Prévalence des BMR isolés dans le service de réanimation .....	78
Figure 53. le taux de contamination des différents sites de l'environnement par les BMR....	80
Figure 54. Prévalence des BMR isolés à partir des dispositifs médicaux .....	81
Figure 55. prévalence des BMR isolés à partir des liquides pathologiques .....	82

## Liste des annexes

Annexe 1: Milieux de culture .....	92
Annexe 2 : Identification des Gram positifs.....	95
Annexe 3 : Identification des Entérobactéries.....	96
Annexe 4 :Enquête de la qualité de désinfection et d'asepsie.....	97
Annexe 5 : Fiche recueillies .....	99
Annexe 6 : Profils de résistance des souches isolées .....	100

# Table de matières

<i>Remerciement</i> .....	
<i>Dédicace</i> .....	
Liste des abréviations .....	
Liste des tableaux .....	
Liste des figures .....	
Liste des annexes.....	
Table de matières .....	

## **Chapitre I. Synthèse bibliographiques**

Introduction .....	1
I. Les antibiotiques .....	3
I.1. Définition .....	3
I.2. Origine : .....	3
I.3. Mode d'action des antibiotiques : .....	3
I.4. Classification : .....	4
I.4.1-Selon leurs origines : .....	4
I.4.2. Selon le spectre d'activité : .....	4
I.4.3. Selon mode d'action : .....	4
I.4.3.1. Synthèse de la paroi bactérienne :.....	4
I.4.3.1.1-Beta –lactamine : .....	5
I.4.3.2. Membrane cytoplasmique :.....	7
I.4.3.3. Antibiotique agissant sur les acides nucléique.....	8
I.4.3.4. Antibiotique agissant sur la synthèse protéique.....	9
II. résistance et la multi résistance bactérienne .....	11
II.1. Définition de la résistance aux antibiotiques .....	11
II.2. Types de résistance bactérienne .....	11

II.2.1. Résistance naturelle .....	11
I.2.2. Résistance acquise .....	11
II.3. Support génétique de la résistance.....	12
II.3.1. Résistance chromosomique .....	12
<u>II.3.2</u> Résistance extra-chromosomique .....	12
II.3.3. Résistance par acquisition des gènes transférés .....	13
II.4. Mécanismes de résistance bactérienne .....	13
II.4.1 Modification de la perméabilité.....	13
II.4.1.1. Mutation des porines de la membrane externe .....	13
II.4.1.2. Augmentation du flux .....	13
II.4.2. L'inactivation enzymatique des antibiotiques .....	14
II.4.2.1 bêta-lactamases .....	14
II.4.2.2. aminosides .....	16
II.4.3. Modification de la cible .....	17
II.4.3.1. synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux bêta-lactamines .....	17
II.4.3.2. L'augmentation de la synthèse des PLP .....	17
II.4.3.3. diminution de l'affinité des PLP pour les bêta-lactamines :.....	17
II.4.4- Pompes à efflux .....	18
II.5. Rôle de la pression de sélection des antibiotiques.....	18
III. principales bactéries multi résistances (BMR).....	20
III.1. Définition .....	20
III.2 . Principales bactéries.....	20
III.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM) .....	20
III.2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirésistantes.....	21
III.2.3. entérobactéries ( <i>enterobacteriaceae</i> ) .....	21
III.2.4 <i>Entérocoque</i> résistante à la vancomycine (ERV).....	22
III.2.5. <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	23

III.3. Germes hospitaliers et communautaires.....	23
IV. Infections nosocomiales en réanimation .....	25
IV.1. Définition d'une infection nosocomiale en réanimation.....	25
IV.2. Caractéristiques principales des infections nosocomiales en réanimation et leurs facteurs de risque .....	25
IV.2.1. pneumopathie nosocomiale (PN) .....	26
IV.2.1.1 principaux facteurs de risque d'acquisition d'une infection pulmonaire sont: .....	26
IV.2.2. L'infection urinaire (IU) .....	27
IV.2.2.1. facteurs de risque : .....	27
IV.2.3. Infections liées aux cathéters .....	28
IV.2.3.facteurs de risque : .....	28
IV.2.4. Infection du site opératoire : ISO .....	29
IV.2.4.1. facteurs de risque des ISO :.....	30
IV.3. Maîtrise de la diffusion des BMR .....	30

## **Chapitre II: Partie pratique**

I. Matériel I et Méthodes .....	32
I.1 .Lieu d'étude .....	32
I.1.1 Description du service de réanimation.....	32
I.2.Matériel.....	32
I.2.1. Instruments et Appareillage .....	32
I.2.2. Réactifs .....	33
I.2.3. Milieux de culture .....	33
I.2.3.1. Milieux de cultures solides .....	33
I2.3.2 .Milieux de cultures liquides.....	34
I.2-4.-Tests biochimiques.....	34
I.2.5. antibiotiques.....	34
<b>Fosfomycines.....</b>	<b>35</b>

I.3. Méthodes.....	36
I.3.1 Population d'étude .....	36
I.3.2. Prélèvements .....	36
I.3.2.1. produits pathologiques .....	36
I.3.2.2. dispositifs médicaux.....	37
I.3.2.3. L'environnement.....	37
I.3.2.4. Fiche de renseignement.....	38
I.3.4. Isolements et purification.....	38
I.3.5. Identifications bactériennes .....	39
I.3.5.1. Identification des Staphylocoques .....	39
I.3.5.2. Identification des bactéries à Gram négatif .....	40
I.3.6. Etude de l'antibiorésistance des souches bactériennes.....	43
I.3.7. Conservation des souches .....	44
I. 3.8. Tests complémentaires.....	44
II. Résultats et discussion .....	47
II.1. Prélèvements.....	47
II. 2. Description générale de la population d'étude .....	48
II. 2.1. Répartition des malades selon le sexe .....	48
II. 2.2. Répartition des malades selon l'âge .....	48
II. 2.3. Répartition des malades selon la durée de séjours .....	49
II. 2.4. Répartition des malades selon l'évolution.....	50
II. 2.5. Répartition des cultures positives et négatives des prélèvements.....	50
II. 3. Résultats des analyses bactériologiques .....	51
II. 3.1. Isolement et identification des Gram positifs .....	52
II. 3.1. 1. Isolement et identification des <i>Staphylocoques</i> .....	53
II. 3.1.2 Isolement et identification de <i>Streptococcus sp</i> : .....	57
II. 3.1.3 Isolement et identification de <i>Bacillus sp</i> .....	58

II. 3.2. Isolement et identification des bactéries Gram négatifs .....	58
II.3.2.1. Isolement et identification des cocci Gram négatifs ( <i>Nesseria sp</i> ) .....	59
II. 3.2.2. Isolement et identification des bacilles grams négatifs .....	60
II. 3.2.2. 1.Bacilles Gram négatives non fermentant .....	63
II. 3.2.2.2. Bacilles Gram négatifs fermentants.....	64
II. 4 - Etude de la Résistance aux antibiotiques .....	66
II. 4.1. Résistance des Gram positifs .....	66
II. 4.1.1. Niveau et de résistance des souches des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	66
II. 4.1.1.1- Test de détection de la méticillino-résistance .....	68
II.4.1.2 Niveau de résistance de <i>Streptococcus sp</i> .....	69
II. 4.2Résistance des Gram négatifs .....	69
II. 4.2.1. Niveau et de résistance des souches <i>Pseudomonas sp</i> .....	69
II. 4.2.2- Niveau de résistance de la souche <i>Acinéto bacter sp</i> .....	71
II. 4.2.3 Niveau de résistance des <i>Entérobactéries</i> .....	72
II. 4.2.3.1- mécanisme de résistance des <i>Entérobactéries</i> .....	75
II. 5. Bactéries multi résistantes en réanimation .....	78
II. 5.1. Prévalence des BMR isolés dans le service de réanimation .....	78
II. 5.1.1-Prévalence des BMR isolés dans les prélèvements de l'environnement et les dispositifs médicaux.....	80
II. 5.1.1.1. Prévalence des BMR isolés dans les prélèvements de l'environnement.....	80
II.5.1.1.2. Prévalence des BMR isolés dans les prélèvements des dispositifs médicaux .....	80
II.5.1.2-Prévalence des BMR isolés à partir des liquides pathologiques .....	82
Conclusion.....	83
Références bibliographiques .....	85
Annexes.....	92



# *Introduction*

## **Introduction**

Après un demi-siècle d'utilisation des antibiotiques, l'émergence et la dissémination de la résistance bactérienne à cette classe thérapeutique posent un problème de santé publique important dont la maîtrise constitue un défi pour les cliniciens, les microbiologistes, les hygiénistes et les autorités sanitaires (**Sanders ,2005**).

La multirésistance bactérienne aux antibiotiques est l'image la plus grave de la résistance car elle réduit notablement les possibilités thérapeutiques et se traduit dans la pratique hospitalière par une augmentation de la morbidité et parfois de la mortalité, ainsi que des coûts d'hospitalisation (**Cosgrove SE et al., 2003**).

Les infections nosocomiales (IN) représentent aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale, étant responsables d'une lourde morbidité mais également d'une létalité non négligeable et du fait de leur fréquence (**Pascal et Agnès , 2002**).

Les services de réanimation sont très largement concernées par ce phénomène qui complique notamment la prise en charge des IN. Bien que les mécanismes conduisant à ces résistances soient multiples, la pression de sélection exercée par l'antibiothérapie massive reste le principal facteur responsable (**Pascal et Agnès , 2002**).

Les principales bactéries multirésistantes (BMR) responsables d'infections nosocomiales en réanimation sont, les suivantes : entérobactéries productrices de bêta lactamase à spectre étendu (EBLSE), *Acinetobacter baumannii* multirésistant (ABR) et *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant (PAR), et *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM). (**Khiev et Veber, 2010**).

Les patients porteurs de BMR sont une source de dissémination potentielle. Plus le taux de BMR est élevé dans un service donné, plus le risque d'acquisition d'une BMR est accru pour les nouveaux patients ce qui définit la pression de colonisation (**Khiev et Veber, 2010**).

Toutefois, peu de données sont disponibles concernant le degré de contamination de l'environnement hospitalier des patients hébergeant des bactéries Gram négatifs multi résistantes par rapport aux bactéries Gram positifs (**Lemmen *et al.*, 2004**).

Dans ce contexte, on s'est intéressé dans notre travail à la caractérisation phénotypique des souches bactériennes multi résistantes, isolées à partir du service de réanimation de l'hôpital Mohamed Boudiaf de Ouargla pendant une période de deux mois allant de 29 Janvier au 13 Mars 2018

Notre travail a pour objectifs :

- Vérifier le niveau d'hygiène atteint dans le service.
- Evaluer le taux de contamination du service de réanimation par les bacilles et cocci Gram Positifs et Négatifs multi résistants
- Isoler et identifier des bactéries Gram négatifs et positifs à partir des différents prélèvements.
- L'étude de la sensibilité aux antibiotiques, afin de cibler les souches multi résistantes.
- La recherche des souches productrices de BLSE par deux tests de détection : test de synergie, test de rapprochement des disques.

# *Chapitre I*

## *Synthèse bibliographique*

## I. Les antibiotiques

### I.1. Définition

Le terme "Antibiotique" est issu du grec (anti: contre, bios : la vie). Un antibiotique est une substance d'origine naturelle (secrété par des champignons ou des bactéries) ou synthétique (par synthèse chimique), L'antibiotique est donc une arme dans la concurrence vitale qui les oppose à d'autres microorganismes. Ils sont des substances qui s'attaquent aux bactéries soit en les détruisant (effet bactéricide) ou bien en les empêchant de se développer (effet bactériostatique) (**Breliere et al., 2009**). Ils ont les propriétés suivantes :

- Activité antibactériennes.
- Activité en milieu organique.
- une bonne absorption et bon diffusion dans l'organisme.
- mode d'action spécifique.
- Activité à des concentrations de l'ordre du microgramme/cm<sup>3</sup> (**Tebibel et al., 2011**).

### I.2. Origine :

Certaines moisissures et bactéries ont la capacité de produire des antibiotiques ; ce sont leurs propres armes dans la concurrence vitale qui les protègent contre les autres microorganismes. Exemple : la streptomycine est produite par *Streptomyces griseus* (champignon), La bacitracine est produite par *Bacillus licheniformis* (bactérie). Les laboratoires fabriquent les antibiotiques à partir de culture de microorganismes producteurs. D'autres peuvent également être fabriqués par synthèse chimique (**Figarella et al., 2007**).

### I.3. Mode d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques qui sont indispensables à la vie bactérienne :

- Action sur la paroi bactérienne (peptidoglycane).
- Action sur la structure de la membrane cytoplasmique bactérienne.
- Action sur la synthèse protéique bactérienne.
- Action sur la synthèse de l'ADN de la bactérie (**Tankouic , 2000**).

#### **I.4. Classification :**

La classification des antibiotiques repose sur leur origine, mécanisme d'action, lesquels conditionne leur spectre d'activité et selon l'effet soit effet bactériostatique ou bactéricides (Fauchere et Lavril , 2002).

##### **I.4.1-Selon leurs origines :**

Élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique) (Fauchere et Lavril , 2002).

1. Antibiotiques naturelles : qui sont synthétisés par des procaryotes ou eucaryotes.
2. Antibiotiques synthétiques qui sont issus en partie ou en totalité du génie chimique (Fauchere et Lavril , 2002).

##### **I.4.2. Selon le spectre d'activité :**

1. Le spectre d'activité d'un antibiotique représente l'ensemble des espèces bactériennes qui y sont sensibles. Lorsque le spectre est Limité à un petit nombre d'espèces bactériennes, celui-ci est qualifié d'étroit. Par Contraste, à un spectre dit « large » correspond à un antibiotique actif sur un Grand nombre de bactéries (Fauchere et Lavril , 2002).

.

##### **I.4.3. Selon mode d'action :**

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie.

###### **I.4.3.1. Synthèse de la paroi bactérienne :**

Les antibiotiques empêchent la formation de la paroi par l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane (Fauchere et Lavril , 2002).

**I.4.3.1.1-Beta –lactamine :**

Il s'agit de la famille la plus vaste et la plus complexe. Les antibiotiques de cette famille ont un mécanisme d'action identique (**Fauchere et Lavril , 2002**).

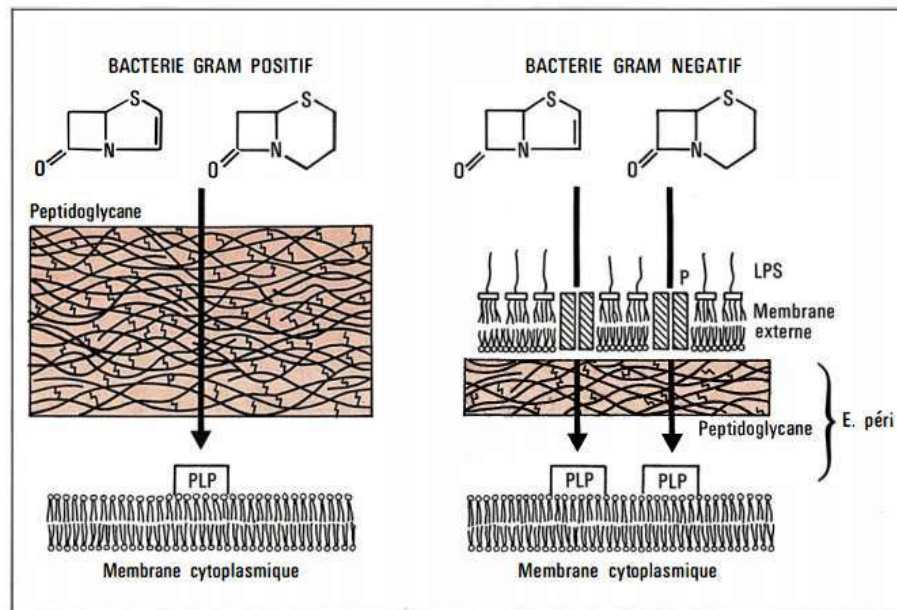
Ce sont les antibiotiques les plus couramment utilisés en clinique et leur nombre n'a cessé de croître depuis la découverte de la pénicilline G. Leur mode d'action est intimement lié à la structure de la paroi bactérienne car elles vont inhiber des enzymes indispensables pour sa synthèse et entraîner par divers processus la destruction de cette paroi et la mort bactérienne. En contrepartie, les bactéries ont acquis des mécanismes de résistance de plus en plus complexes et variés mettant en jeu différentes structures de la paroi bactérienne, afin d'échapper à l'effet bactériostatique et bactéricide de ces antibiotiques (**Tankouic , 2000**).

Les pénicillines appartiennent à la famille des antibiotiques bêta-lactamines. Il s'agit en fait d'une toxine obtenue à partir des moisissures du genre *Penicillium* découverte en 1928 par le Britannique Alexander Fleming (**Tulkens et Vanbambeke, 2008**).

Les pénicillines agissent sur la paroi cellulaire de certaines bactéries, empêchant ainsi leur prolifération et provoquant leur destruction, Il existe aujourd'hui plusieurs types de pénicillines pour lutter contre les infections :

Pénicilline G: Spectre cocci Gram+

Pénicilline A: Spectre de pénicilline G + certains Gram- Pénicilline M : Spectre de pénicilline G + SASM même producteur de pénicillinase (**Flandrois et al., 1997**).



**Figure 1. Représentation schématique de la paroi des bactéries à Gram-positif et des bactéries à Gram-négatif. Chez les bactéries Gram-positif (Tankouic , 2000).**

Les beta-lactamines vont traverser librement le peptidoglycane pour aller se fixer sur les protéines de liaison de la pénicilline (PLP). Chez les bactéries à Gram-négatif, les beta-lactamines vont diffuser au travers des porines (P) présentes dans la membrane externe puis traverser le peptidoglycane et l'espace périplasmique (E. péri) pour aller se fixer sur les PLP. LPS = lipopolysaccharid (Tankouic , 2000).

### A-Fosfomycine

C'est un antibiotique bactéricide à spectre large agissant sur les cocci Gram + et -, bacilles Gram + et -. Il est toujours utilisé en association pour éviter l'apparition de mutants. Également appelée fosfomycine ou phosphomycine, la fosfomycine est un antibiotique bactéricide produit par différentes espèces de bactéries du genre *Streptomyces*. La fosfomycine agit par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. En effet, cet antibiotique inhibe une enzyme essentielle à la fabrication de l'acide N-acétylmuraminique, l'un des constituants essentiels de cette dernière (Tulkens et Vanbambeke, 2008).

### B. Glycopeptides

C'est un antibiotique à spectre étroit, il agit sur les bactéries à Gram + et principalement : staphylocoques et entérocoques. Les glycopeptides sont au même titre que les bêta-lactames, des



inhibiteurs se la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactériennes. Leurs action est toutefois différente : il se fixe aux niveaux des extrémités peptidyl-D-Ala-D-Ala des précurseurs lipopeptidique lorsque émergent de la membrane cytoplasmique (**Flandrois et al., 1997**).

Deux produits : vancomycine et teicoplanine :

- Spectre anti-gram positifs (macromolécules trop grosses pour passer à travers les porines des Gram-)
- Action bactéricide lente (**Flandrois et al., 1997**).

#### **I.4.3.2. Membrane cytoplasmique :**

Ce sont des antibiotiques de nature polypeptidique qui agissent sur la membrane bactérienne, ils sont responsable de la destruction partielle ou bien dénaturation de ces membranes par perturbation de la perméabilité membranaire ce qui provoque leurs explosion (**Baudry et Brezellec, 2006**).

##### **A. Polymyxine**

les polymyxine (A , B , C, D, E, F, K, M, P, S et T ) sont des antibiotiques peptidiques cycliques qui ont été isolées de *Bacillus polymyxa* , il agissent comme des détergents cationiques :elle pénètrent dans la cellules bactérienne et s'insèrent parmi les phospholipides de la paroi ,perturbant ainsi la perméabilité membranaire. Il a un spectre étroit actif sur les bacilles à Gram négatif (**Baudry et Brezellec, 2006**).

##### **B. Gramicidine et Tyrocidine :**

Spectre étroit agir sur bactéries à Gram positif (à usage locale).il s'agit de :

**A. Gramicidine** :Est un mélange d'antibiotiques, aussi nommé gramicidine D est une substance active utilisée dans le traitement d'infection causées par des bactéries . Elle est considérée comme le premier antibiotique naturel découvert et commercialisé .la gramicidine aurait également certains effets sur le virus du sida (VIH) et sur celui de l'herpès (**Baudry et Brezellec, 2006**).

**B. Tyrodicine :** Ensemble de (3) décapeptides cyclique (tyrodicine A, B, C) , antibiotiques constituant majeur de la thyrothricine . Il est le principal constituant de la thyrothricine, (antibiotique extrait des cultures d'une bactérie) (**Baudry et Brezellec, 2006**).

#### **I.4.3.3. Antibiotique agissant sur les acides nucléique**

Ces antibiotiques empêchent les enzymes responsables de la synthèse des acides nucléique (ARN, ADN) (**Baudry et Brezellec, 2006**).

##### **A- antibiotique qui agit sur l'ADN**

**a. Quinolones :** Les quinolones sont des agents antibactériens actifs principalement sur les bacilles à Gram négatif, ils agissent sur ce complexe transitoire en formant un complexe irréversible ADN-gyrase-quinolone. La soudure des brins est spécifiquement inhibée par les quinolones et l'ADN bactérien se trouve sous forme de fragments. Les quinolones inhibent aussi la réplication des plasmides à des concentrations parfois non bactéricides et, à forte dose, l'action des quinolones inhibe également la transcription (**Baudry et Brezellec, 2006**).

**b. Fluoroquinolones :** Les quinolones de deuxième génération ou 6-fluoroquinolones caractérisées par un spectre plus au *Pseudomonas* et aux bactéries à Gram positif, notamment les staphylocoques (**Baudry et Brezellec, 2006**).

**c. Produits nitrés :** Prodrogues dont certaines bactéries peuvent réduire le radical ( $\text{NO}^{\cdot 2}$ ) ce qui fait apparaître un dérivé toxique pour le DNA par substitutions de bases ou cassures (**Baudry et Brezellec, 2006**).

- **Nitro-imidazoles :** Les imidazoles sont des molécules dont l'action nécessite une réduction partielle de leur groupement  $\text{NO}^2$ . Les dérivés réduits sont les produits biologiquement actifs qui se fixent sur l'ADN, notamment au niveau des régions riches en adénine et thymine, et qui provoquent une oxydation suivie d'une coupure des brins et d'un déroulement de l'ADN. Ces lésions de l'ADN sont suivies de la mort de la bactérie (**Baudry et Brezellec, 2006**).

- **Nitrofuranes :** Leur structure et leur mode d'action présentent des similarités avec ceux des Nitroimidazoles. ils ont Spectre large, utilisés dans le traitement des infections urinaires ou intestinales (**Baudry et Brezellec, 2006**).

**B. Antibiotique qui agit sur l'ARN :**

Les rifamycines la principale molécule de cette famille est la rifampicine, elles se fixent sur la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase et empêchent l'initiation de la synthèse des ARNm ils sont caractérisé par un Spectre large : mycobactéries (*M. tuberculosis*, *M. leprae*), cocci Gram (+) et (-), Bactéries à Gram(+), divers bacilles à Gram négatif (dont *Brucella*). Les rifamycines sont actives sur les germes à développement intracellulaire (**Tankouic , 2000**).

**I.4.3.4. Antibiotique agissant sur la synthèse protéique**

Plusieurs familles d'antibiotiques inhibent la synthèse des protéines en agissant préférentiellement soit sur la sous-unité 30S soit sur la sous-unité 50S des ribosomes (**Tankouic , 2000**).

**a. Aminosides :** Les aminosides ou aminoglycosides ou aminosides-aminocyclitols sont des antibiotiques à large spectre et généralement bactéricides ils agissent sur les cocci et bacilles à Gram positif (sauf les streptocoques), cocci et bacilles à Gram négatif, mycobactéries. Toutes les bactéries anaérobies sont résistantes (**Tankouic , 2000**).

**b. Les tétracyclines :** Sont des antibiotiques bactériostatiques à large spectre comprenant les bactéries intracellulaires et les mycoplasmes. Les tétracyclines se fixent sur les ribosomes au niveau du site A par liaison avec les protéines de la sous-unité 30S. Cette fixation inhibe celle de l'aminoacyl-ARNt et bloque l'étape de reconnaissance de la phase d'élongation de la chaîne peptidique (**Tankouic , 2000**).

**c. Groupe "M L S" :** Les macrolides, lincosamides, streptogramines sont apparentés par leur spectre d'activité, leur mécanisme d'action et les mécanismes de résistance .Les MLS ont un spectre concernant les coques, les bacilles à Gram positif et certains bacilles à Gram négatif Par contre, les *Haemophilus* sont peu sensibles et les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* sont naturellement résistants. Cette insensibilité de la plupart des bacilles à Gram négatif est due à une absence de pénétration (**Tankouic , 2000**).

**d. Phénicoles :** Il s'agit Le chloramphénicol, le thiamphénicol et le florphénico.ils l se fixent préférentiellement sur le site A au niveau de la sous-unité 50S. Le mécanisme d'action des phénicoles demeure imprécis mais il est probable qu'ils inhibent la formation de liaison

peptidique et bloque l'élongation de la chaîne. Leur mode d'action proche de celui des MLS (Tankouic, 2000).

**e. L'acide fusidique :** Est un antibiotique actif uniquement sur les bactéries à Gram positif, notamment sur les staphylocoques. Il intervient au cours de la translocation et inhibe la phase d'élongation des synthèses peptidiques (Tankouic, 2000).

**f. Oxazolidinones :** Molécule ayant une activité antibactérienne à usage humain : activité anti-staphylococcique et antistreptococcique. Inhibition sélective de la synthèse des protéines en agissant au niveau de la sous-unité ribosomale 50S. La synthèse de l'acide folique : L'acide tétrahydrofolique intervient dans de nombreuses voies métaboliques et notamment dans la synthèse des purines et des pyrimidines (Tankouic, 2000).

Chez les bactéries, sa synthèse se fait en trois étapes dont la première nécessite de l'acide para-amino-benzoïque ou PAB). La synthèse de l'acide tétrahydrofolique est inhibée par les sulfamides, le triméthoprime et l'acide para-amino-salicylique.

- SULFAMIDES Spectre théoriquement large, mais résistances fréquentes
- TRIMÉTHOPRIME Spectre large, résistances beaucoup moins fréquentes

L'acide para-amino-salicylique son mécanisme d'action est comparable à celui des sulfamides. Toutefois, cette molécule est active sur les mycobactéries et inactive chez les autres bactéries (Tankouic J, 2000).

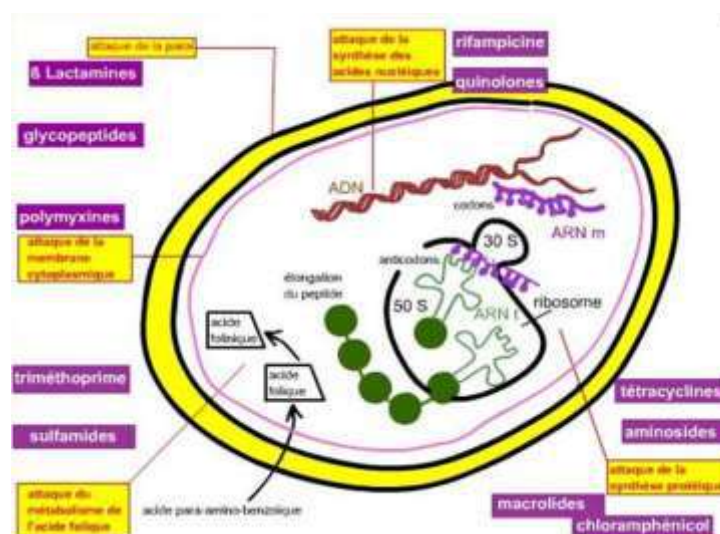


Figure 2. Différents modes d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007).

## **II. résistance et la multi résistance bactérienne**

### **II.1. Définition de la résistance aux antibiotiques**

Est la capacité d'un microorganisme de résister aux effets des antibiotiques. Elle se développe via sélection naturelle par une mutation aléatoire ou échanges de gènes de résistances (transfert horizontal) entre les bactéries. Un micro-organisme est dit résistant lorsque, pour l'une des raisons évoquées, il est capable de se développer en présence d'un taux d'antibiotique significativement plus élevé que le taux habituel. La notion de résistance clinique, est corrélative d'un échec thérapeutique telque la mauvaise utilisation des antibiotiques, passant par des traitements trop courts ou trop longs, parfois mal dosés, est également pointée du doigt (**Weiss, 2002**). Ces résistances sont devenues massives et préoccupantes, la plupart des bactéries sont naturellement sensibles aux antibiotiques. Parfois, des bactéries peuvent développer des résistances aux antibiotiques (**Haskouri, 2002**).

### **II.2. Types de résistance bactérienne**

#### **II.2.1. Résistance naturelle**

On parle de résistance naturelle lorsque toutes les souches d'une même espèce bactérienne sont résistantes à un antibiotique donné. Il s'agit en fait des bactéries qui sont insensibles au mode d'action de l'antibiotique développe un agent infectieux contre un médicament donné sans jamais avoir été en contact avec celui-ci (**Baudry et Brezellec, 2006**).

Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome. (**Sylvie , 2009**))

#### **I.2.2. Résistance acquise**

On parle de résistance acquise lorsqu'une ou plusieurs souches d'une espèce bactérienne naturellement sensible à un antibiotique y deviennent résistantes. Cette résistance est souvent stable (**Baudry, Brezellec, 2006**). Ces changement peuvent être de 02 type : soit à la mutation du génétique de la bactérie, soit à l'acquisition par la bactérie d'un "plasmide", matériel porteur de gènes de résistance provenant d'une autre bactérie. Ce dernier mode de résistance acquise est le plus fréquent, il représente plus de 80% des résistances acquises (**Sylvie , 2009**).

### **II.3. Support génétique de la résistance**

Le support des résistances aux antibiotiques est l'ADN bactérien (plasmide, chromosome), la résistance aux agents antimicrobiens est due soit à la modification de l'information génétique « endogène » par mutation chromosomique, soit à l'acquisition de matériel génétique « exogène » tels que les plasmides et ou les transposons (**Bergogne et Dellamonie, 1995**).

#### **II.3.1. Résistance chromosomique**

La résistance chromosomique est un phénomène qui présente plusieurs caractères exceptionnels. Cette résistance peut survenir via une mutation génétique affectant le chromosome de la bactérie, permettant à cette dernière de contourner l'effet délétère de l'antibiotique. Cette mutation est relativement rare, mais elle est stable et héréditaire (**Sylvie, 2009**).

#### **3.2 Résistance extra-chromosomique**

Les gènes de la résistance aux antibiotiques peuvent être portés par les plasmides ou bien sur des fragments d'ADN appelés transposon .qui peuvent s'intégrer soit dans des plasmides, soit dans les chromosomes. Les gènes de résistance sont transmis d'une bactérie à l'autre cohabitant, de mêmes espèces ou de genres différents (**Paul et Roy, 1997**).

**A. Plasmides :** La résistance extra-chromosomique (plasmides) du fait explique l'importance de la résistance plasmidique. Les fragments plasmidique peuvent être transmis d'une bactérie donneuse à une autre bactérie dite receveuse, cette transmission peut se faire entre deux espèces différentes des bactéries (**Baudry et Brezellec, 2006**).

Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente) (**Sylvie, 2009**).

**B. Les transposons :** Ce sont des éléments du génome transposables (mobiles), des fragments d'ADN qui sont insérés dans le génome d'un organisme hôte et qui ont la propriété remarquable de se déplacer d'un point à un autre du génome ce qui va induit de manière imparfaite des mutations (**Baudry et Brezellec, 2006**).

Ces derniers vont entraîner des modifications de l'expression des gènes ce qui permet aux bactéries à développer des résistances de par leur nouveau génome (Sylvie , 2009).

### II.3.3. Résistance par acquisition des gènes transférés

Une bactérie acquiert un ou plusieurs gènes étrangers par transfert génétique horizontale, en dehors de tout mécanisme de division cellulaire (Canu et Beter, 2001).

## II.4. Mécanismes de résistance bactérienne

La résistance aux antibiotiques peut s'exprimer à travers plusieurs mécanismes qu'ils soient d'origine extra-chromosomique ou inscrits dans le chromosome bactérien, ces mécanismes sont nombreux (Yala et al., 2001).

Plusieurs mécanismes sont souvent impliqués simultanément dans la résistance aux antibiotiques :

Imperméabilité de la membrane de la bactérie, production d'une enzyme modifiant ou détruisant l'antibiotique ou encore la modification de la cible de l'antibiotique (Calgagno et Lacroix, 2011).

### II.4.1 Modification de la perméabilité

La diminution de la perméabilité va entraîner la réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotique suite soit à : (Lozniewski et Rabaud, 2010)

#### II.4.1.1. Mutation des porines de la membrane externe

Ce type de résistance ne se rencontre que chez les bactéries Gram (-) et pour des antibiotiques hydrophiles : Le dysfonctionnement ou la perte d'une des porines, par lesquelles l'antibiotique pénètre dans la bactérie ( Lozniewski, Rabaud, 2010) , par exemple : chez *Pseudomonas aeruginosa* la perte de la porine OprD est le mécanisme le plus fréquent de la résistance à l'imipénème (Julioaires ,2011) .

#### II.4.1.2. Augmentation du flux

De sortie Principale résistance aux tétracyclines (antibiotique agissant sur sous unité 30s des ribosomes) .les systèmes d'efflux se caractérisent par l'existence d'une protéine membranaire

assurant à la fois la reconnaissance des antibiotiques et leur rejet à l'extérieur des bactéries (Köhler et al., 2011), qui sont observés chez les bactéries à Gram négatif (Julioaires, 2011).

#### II.4.2. L'inactivation enzymatique des antibiotiques

Par ce mécanisme, la bactérie acquiert la capacité d'inactiver l'action des ATB en le modifiant ou en l'hydrolysant, par la sécrétion d'enzymes avant même qu'ils n'aient pénétré au sein du microorganisme (Babicet et al., 2006).

Ce mécanisme est le plus fréquent et concerne toutes les classes majeures d'antibiotiques. Ce dernier représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactamines, des aminosides et des phénicolés (Bert et Labert, 2000).

##### II.4.2.1 bêta-lactamases

Comme leur nom l'indique, elles inactivent les antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines. Ces enzymes sont capables d'hydrolyser le cycle  $\beta$ -lactame entraînant ainsi l'inactivation de l'antibiotique (Vincent, 2004).

C'est un mécanisme que l'on retrouve aussi bien chez les bactéries Gram positives que Gram négatives, il s'agit du mode de résistance le plus courant. bêta-lactamases sont codées par des plasmides ou des éléments génétiques transposables (Stuart B et Bonnie, 2004). Le nombre des bêta-lactamases plasmidique est très élevé et elles sont classées selon leurs vitesses d'hydrolyse, leurs constantes d'affinité pour les bêta-lactamines, leur faculté à être inhibée par les inhibiteurs tel que l'acide clavulanique, Sur un plan pratique, les bêta-lactamases peuvent être regroupées en plusieurs catégories : (Ploy et al., 2000)

#### A. pénicillinases

Les pénicillinases inactivent la pénicilline G, les pénicillines A ...etc. Elles sont par contre sans action sur la pénicilline M (oxacilline ou méticilline) ainsi que sur les céphalosporines. Ces pénicillinases sont inductibles et codées par des plasmides ou des transposons. Les pénicillinases chromosomiques sont constitutives d'espèces, et confèrent à ces bactéries une résistance naturelle. On les retrouve par exemple chez *Klebsiella pneumoniae*. Les pénicillinases plasmidiques confèrent à la bactérie une résistance acquise. Ces pénicillinases



plasmidiques ne diffèrent des pénicillines chromosomiques qu'au niveau de leur production beaucoup plus élevée (Muylaert et Mainil, 2012).

### **B. TRI : TEM résistante aux inhibiteurs**

Les bêtalactamases résistantes aux inhibiteurs dérivent de certaines bêta-lactamases à spectre élargi par mutations ponctuelles (Muylaert, et Mainil, 2012). Le profil de résistance conféré est identique à celui des bêta-lactamases à spectre élargi mais ces enzymes ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam. (Vincent, 2004).

### **C. Céphalosporinase de bas niveau**

Ce sont des  $\beta$ -lactamases chromosomiques produites naturellement à bas niveau par un certain nombre d'espèces. Leur localisation est périplasmique (Muylaert et Mainil, 2012). On les retrouve chez les *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* (Medqual, 2012).

### **D. bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE)**

Ces bêta-lactamases, codées par des plasmides, entraînent une résistance (ou une diminution d'activité) vis-à-vis des pénicillines G, des pénicillines M, des carboxypénicillines, des uréidopénicillines, des céphalosporines de 1ère et de 2ème génération (sauf les céphamycines). Les bêtalactamases à spectre élargi sont bien inhibées par l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam) Leur localisation est périplasmique, On les retrouve chez les *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* (Vincent, 2004).

### **E. Céphalosporinase de haut niveau**

Les céphalosporinases dérégulées sont produites par certaines espèces telles que *Pseudomonas aeruginosa*, ou *Enterobacter*. Ce sont des céphalosporinases inductibles pouvant subir une mutation génétique. C'est un mécanisme irréversible. Sa production à haut-niveau entraîne une résistance à toutes les  $\beta$ -lactamines, sauf à l'imipénème. Ce processus est responsable d'échec thérapeutique et constituerait chez *Pseudomonas aeruginosa* la première cause de résistance aux céphalosporines de 3ème génération (Muylaert et Mainil, 2012).

## F. Carbapénémase

La menace des «superbactéries» prend une nouvelle dimension avec l'émergence des carbapénémases, enzymes que produisent les entérobactéries et qui inactivent les carbapénèmes (imipénème, méropénème, ertapénème), dernière génération des antibiotiques de la classe des  $\beta$ -lactamines. Cette menace, qui connaît une montée étonnante à l'échelle mondiale en raison de la dissémination rapide des carbapénémases, est devenue une réalité difficile à ignorer. Plus nous utilisons des antibiotiques à large spectre, plus les bactéries développent des résistances (**Rahal , 2013**).

Selon la classification d'Amblar, il existe 3 classes de carbapénémases :

**A. Carbapénémases de la classe A :** Les carbapénémases de classe A ont été tout d'abord rapportées dans plusieurs souches d'entérobactéries (*Serratia*, *Enterobacter*), produisent des bêta-lactamases dont l'activité était inhibée par l'acide clavulanique. Elles hydrolysent, à divers degrés, toutes les bêta-lactamines.

Les carbapénémases de classe A, les plus fréquentes et les plus menaçantes, sont les carbapénémases de type KPC. Son activité est partiellement inhibée par l'acide clavulanique ou le tazobactam (**Rahal , 2013**).

**Carbapénémases de classe B :** Les premières carbapénémases de classe B (IMP) (ou métallo bêta-lactamases, MBL) avaient été identifiées dans des espèces d'entérobactéries typiquement hospitalières (*Serratia*, *Citrobacter* et *Enterobacter*) au Japon. Ces enzymes hydrolysent fortement toutes les bêta-lactamines à l'exception de l'aztréonam (**Rahal , 2013**).

**Carbapénémase de classe D :** Les carbapénémase de classe D (OXA-48), décrite tout d'abord chez *K. pneumoniae*, hydrolyse, par contre, beaucoup plus fortement les carbapénèmes et n'hydrolyse pas les céphalosporines de 3ème génération (**Rahal , 2013**).

### II.4.2.2. aminosides

L'inactivation enzymatique des aminosides est le mécanisme de résistance le plus fréquent, il est très répandu chez Gram (+) et Gram (-). Il existe 3 classes d'enzymes portées par des plasmides:

- phospho-transférases : Aminosite + groupement Phosphate
- adénylyl- transférases : Aminosite + adénosine
- acétyl-transférases : Aminosite + groupement acétyl.

(Calgagno et Lacroix, 2011).

### II.4.3. Modification de la cible

Après l'entrée dans la bactérie, l'antibiotique doit en général se fixer sur sa cible pour agir. Si cette cible est modifiée, cela entraîne une diminution de reconnaissance par l'antibiotique et une diminution de l'efficacité (Julioaires, 2011).

#### II.4.3.1. synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux bêta-lactamines

Les PLP sont les cibles des  $\beta$ -lactamines. Synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux bêta-lactamines (ex. : *Staphylococcus aureus* : l'acquisition et l'intégration dans le chromosome d'un gène (*mecA*), d'origine mal connue, induit la synthèse d'une nouvelle PLP, la PLP 2a qui est capable d'assurer à elle seule l'assemblage du peptidoglycane et elle confère une résistance à toutes les bêta-lactamines (Moroh , 2013).

#### II.4.3.2. L'augmentation de la synthèse des PLP

Augmentation de la synthèse des PLP existantes avec hyperexpression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les bêta-lactamines (ex. : *Enterococcus spp* ; cf. cas précédent avec en plus une augmentation du nombre de PLP disponibles pour la synthèse du peptidoglycane ce qui conduit à une impossibilité pour une même dose de bêta-lactamines de toutes les bloquer) (Henriet et Guillemot, 2000).

#### II.4.3.3. diminution de l'affinité des PLP pour les bêta-lactamines :

Diminution de l'affinité des PLP pour les bêta-lactamines (ex. : *Streptococcus pneumoniae* ; les bêtalactamines ont du mal à se fixer aux PLP qui restent disponibles pour la synthèse du peptidoglycane) (Henriet et Guillemot, 2000).

#### II.4.4- Pompes à efflux

L'efflux actif, Il s'agit d'un système actif reposant sur la présence de protéines particulières jouant le rôle de pompe permettant l'expulsion des molécules nocives pour la bactérie, c'est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments . La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (Henriet et Guillemot, 2000).

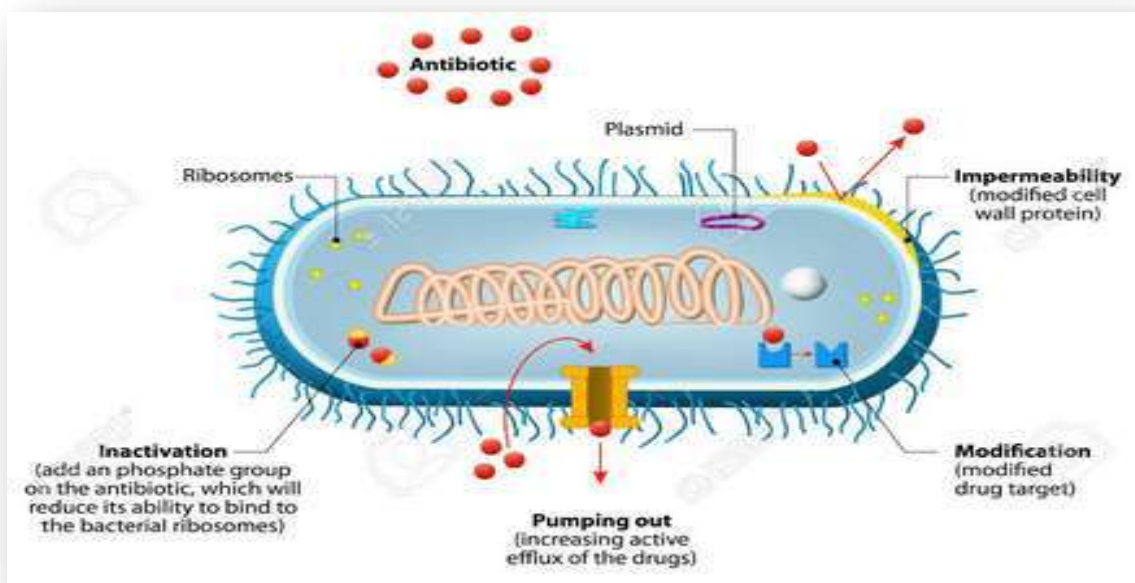


Figure 3. Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (Henriet et Guillemot, 2000).

#### II.5. Rôle de la pression de sélection des antibiotiques

Est une contrainte environnementale qui pousse les bactéries à devenir résistante. Plusieurs études montrent que l'émergence et la propagation des BMR sont en grande partie liées à la pression de sélection induite par les antibiotiques. Il ne s'agit pas de dire que les bactéries voyant arriver une vague d'antibiotiques se mettent à produire des adaptations leur permettant de résister (dans le sens où les bactéries contrôleraient de façon consciente la façon dont elles évoluent), mais simplement de dire que c'est parce qu'il y a utilisation massive d'antibiotiques que les bactéries deviennent résistantes (celles qui ne le sont pas meurent et ne reste plus que dans la population les bactéries résistantes) (Rahal et al., 1998) .

En effet, les antibiotiques agissent non seulement sur leur cible spécifique, la bactérie responsable de l'infection à traiter, mais également, pour la majorité d'entre eux, sur d'autres cibles telles que les bactéries commensales du tube digestif qui sont des bactéries utiles et non pathogènes. Lorsque le niveau de résistance augmente, l'information suscite l'inquiétude des prescripteurs, qui élargissent le spectre des thérapeutiques empiriques et sélectionnent toujours davantage de résistances, globalement et pas uniquement chez le micro organisme visé au départ. Par exemple, aux états unis, l'augmentation du pourcentage de SARM a entraîné une consommation, accrue de vancomycine dans les hôpitaux et l'émergence des souches d'*entérocoques* résistantes à la vancomycine (**Rahal et al., 1998**).

### **III. principales bactéries multi résistances (BMR)**

#### **III.1. Définition**

Les bactéries sont dites multi résistantes aux antibiotiques lorsqu'elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement active en thérapeutique la multi résistante peut être le fruit d'une accumulation de résistance naturelle ou acquise sont des bactéries qui sont développer des capacités de résistance aux traitements antibiotique habituel. Elles ne sont pas plus dangereuses que les bactéries sensibles mais elles sont plus difficiles à traiter si une infection survient (**Charbonneau et Wolff, 2013**).

#### **III.2 . Principales bactéries**

Les BMR sont principalement mais non exclusivement retrouvées au niveau de l'hôpital. On estime que 60 % des infections nosocomiales sur le plan mondial sont provoquées par des bactéries résistantes (**Société française d'hygiène hospitalière, 2010**).

Les BMR sont représentées principalement par les Entérobactéries productrice de beta lactamase à spectre élargi ( BLSE), *Acinetobacter baumannii* multi résistante (ABR) , *Pseudomonas aeruginosa* multi résistante ( PAR) , *staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) et les *Entérocoque* résistant à la vancomycine (ERV) (**Blanchète JP, 2009**).

##### **III.2.1. *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM)**

Est une cocci Gram positif appartenant à la famille des *staphylocoques* .il est habituellement déposé en grappe, catalase positive, coagulas positive (**Chevrolet et al., 1997**).

Les SARM représente 5 à 10 % des bactéries isolées des infections nosocomiales(IN), ils sont résistants à toutes les beta-lactamines est très souvent résistante aux aminosides, aux macrolides et aux fluors quinolones (**Vincent., 2000**).

Elles représentent aussi une menace dans les services de soins intensifs et de réanimation, concernant les patient a haut risque infectieux, nécessitants des hospitalisations prolongé et de nombre procédure invasif est également soumis à une forte pression d'antibiotique (**Quinacampoix et Mainardi , 2001**).

Le rapport 2015 de réseau algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques publie une proportion de SARM au sein du service de réanimation de 38,65 pourcents (121/ 313) (RAS, 2015).

### **III.2.2 *Pseudomonas aeruginosa* multirésistantes**

Les souches de *P.aeruginosa* résistantes aux  $\beta$ lactamines (ticarcilline, ceftazidime ou imipénème) ont tendance à être résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones (Tankouic , 2000). Est une bacille à Gram négatif aérobie stricte à métabolisme oxydatif, non sporulé, il est en forme de bâtonnet ; une bactérie ubiquiste bien qu'il ne fasse pas partie physiologiquement de la flore microbienne commensale de l'homme elle peut coloniser le tube digestif l'oropharynx et les zones cutanées humide (Floret et al., 2009).

Cette espèce est caractérisée par une aptitude particulière à l'acquérir et à accumuler de nombreux mécanismes de résistance cette accumulation de mécanismes de résistance est devenue problématique car elle conduit a une impasse thérapeutique en raison de l'émergence des souches dites totorésistantes vis-à-vis du panel d'antibiotiques actuellement disponibles (Minchella, 2010).

Le 16 ème rapport d'évaluation du réseau algérien de surveillance bactérien en 2015 en relevé 21,76 % (96 / 441) de *pseudomonas aeruginosa* résistant à l'imipenème parmi les souches isolés en réanimation (RSA, 2015).

### **III.2.3. entérobactéries (*enterobacteriaceae*)**

Sont des bacilles Gram négatif constituant l'une des plus importantes familles de bactéries. Elle regroupe de nombreux genres (*Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Shigella, Serratia, Citrobacter, Proteus* etc) (Vincent. , 2000).

Les EBLSE représentent environ 1% des bactéries isolées des IN ; Une entérobactérie BLSE ne reste sensible au sein de la famille des bêta-lactamines qu'aux carbapénèmes et aux céphamycines (céfoxitine) (Vincent , 2008).

Les souches productrices de BLSE étaient souvent associées à des épidémies nosocomiales, notamment en unités de soins intensifs (Vodovar et al., 2013).

Certaines *entérobactéries* sont pathogènes strictes (ex : *Salmonella typhi* ou *Shigella dysenteria*). D'autres sont, à l'hôpital, responsables d'infections opportunistes chez des patients souvent fragilisés. La résistance aux bêtalactamines est principalement due à la production par ces bactéries de bêtalactamases à spectre étendu (BLSE), enzymes qui hydrolysent l'ensemble des pénicillines ou céphalosporines à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes (**Doublet, 2012**).

Le réseau algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques dans le rapport 2015 a publié une proportion de 44,16% (606/1372) des souches d'*entérobactéries* BLSE isolées du service de réanimation (**RSA, 2015**).

#### **III.2.4 Entérocoque résistante à la vancomycine (ERV)**

Représentent environ 1% des souches d'*entérocoques* isolées à l'hôpital. On retrouve principalement. *Entérocoque* résistant à la vancomycine (ERV) Les *entérocoques* sont des bactéries normalement présentes dans les voies urinaires et les intestins humains donc ils sont souvent considérés comme des germes de la flore commensale (**Vincent, 2000**)

Les personnes sont habituellement en parfaite santé et ne savent pas qu'elles ont ces microbes ils sont dépourvus des facteurs spécifiques de pathogénéicité Cependant ces dernières années, ils sont de plus en plus incriminés dans les infections nosocomiales (**Ronald et Jones , 2001**).

Les infections provoquées par les *entérocoques* surviennent principalement chez les patients hospitalisés et fragilisés (**Lozniewskia et Rabaudc, 2010**).

*Entérocoques* peuvent causer des infections des plaies ou de la peau ou, moins souvent, des infections plus graves du sang ou d'autres parties du corps. Quand ils causent une infection, on traite généralement cette infection au moyen d'antibiotique.

Ces germes présentent une résistance naturelle à de nombreuses classes d'ATB, parmi lesquelles les bêta-lactamines, ainsi une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides due à une anomalie de transport membranaire des ces antibiotiques.



Six gènes, van A/B/D/E/G/L, confèrent aux entérocoques la résistance à la vancomycine. Elle est naturelle chez *Enterococcus casseliflavus*, *flavescens* et *Enterococcus gallinarium*, Le support de cette résistance est le gène vanC qui est chromosomique **(Robert , 2007)**.

Alors que la résistance acquise est observée principalement chez *l'Enterococcus faecium* et *l'Enterococcus faecalis* **(Robert , 2007)**.

En 2015, le réseau algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques a signalé une proportion de 8,69% (10/115) d'*Enterococcus faecium* résistants à la vancomycine **(RSA, 2015)**.

### **III.2.5. *Acinetobacter baumannii***

Le genre *Acinetobacter* représenté aujourd'hui un modèle d'adaptation particulièrement efficace en termes d'antibiorésistance en l'espace de 40 ans. *Acinetobacter* principalement représenté par l'espèce *baumannii* c'est un bacille à gram négatif non fermentant présentant souvent une multi résistance aux antibiotiques **(Zahar et al, 2012)**.

Il est naturellement résistant à plusieurs bêtalactamines et considéré comme un pathogène opportuniste occasionnellement responsable d'infection nosocomiale .il représente 2 à 4 % des bactéries responsables des infections nosocomiales **(Poirel et Nordmann , 2006)**.

Les infections les plus souvent rencontrées sont les infections pulmonaire en particulier chez les patients intubé et ventilé en réanimation, les septicémies, les infection de plaie et les infections du tractus urinaire **(Patwardhan et al., 2008)**.

*Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipenème a présenté une proportion de 82, 79 (491/593) dans le service de réanimation selon les données de réseau algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques **(RSA, 2015)**.

### **III.3. Germes hospitaliers et communautaires**

Il ne faut pas à confondre avec infection à bactérie multi résistante qui peut survenir dans un cadre hospitalier ou communautaire. Les germes «hospitaliers» diffèrent des germes responsables d'infections dites «communautaires» par les espèces rencontrées et leurs caractères de résistance aux antibiotiques. Ils sont plus volontiers associés aux épidémies,

mais la majorité des IN est due à des germes de type «communautaire » encore relativement sensibles aux antibiotiques (Cohat, 2010).

Les caractéristiques bien différentes, est cependant obscurcie par l'individualisation récente d'une catégorie intermédiaire «d'infection associée aux soins», favorisée par les échanges fréquents entre la ville et l'hôpital et le développement des soins ambulatoires, qui partagent certaines caractéristiques microbiologiques des infections hospitalières. La diffusion importante de certaines bactéries multi résistantes dans l'univers hospitalier et les circulations de malades entre différents types d'institutions et la communauté extrahospitalière expliquent que certaines d'entre elles, tels les *staphylocoques* dorés résistants à la méticilline (SARM), les *entérobactéries* (notamment *Klebsiella* et *Enterobacter*) productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE), puissent être rencontrées dès l'admission à l'hôpital et en réanimation, notamment lors des infections « associées aux soins » ; dans la plupart des cas, il s'agit d'une acquisition lors d'un séjour hospitalier antérieur. (L'administration préalable) (Cohat, 2010).

#### **IV. Infections nosocomiales en réanimation**

##### **IV.1. Définition d'une infection nosocomiale en réanimation**

Les infections nosocomiales sont particulièrement fréquentes chez les malades hospitalisés en réanimation, comparativement aux autres secteurs de soins. Cette situation expose es malades et leurs proches à une incompréhension vis-à-vis du risque et de la survenue d'une infection **(Carlet , 2002)**.

Elle est définit comme une infection contractée dans un service de réanimation, est une infection qui n'est pas présente ou en incubation lors de l'admission. Par convention, on admet qu'une infection survenant plus de 48 heures après l'admission, ou directement liée à un acte de soin (quelle que soit sa date de survenue), est nosocomiale **(Robert , 2007)**.

##### **IV.2. Caractéristiques principales des infections nosocomiales en réanimation et leurs facteurs de risque**

On distingue plusieurs types d'IN qui relèvent de modes de transmission différents :

**Les infections d'origine « endogène »** : le malade s'infecte avec ses propres germes, à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une fragilité particulière.

**Les infections d'origine « exogène »** : Il peut s'agir

- Soit d'infection croisée, transmises d'un malade à l'autre par les mains ou les instruments de travail du personnel médical ou paramédical,
- Soit d'infections provoquées par les germes du personnel porteur,
- Soit d'infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, matériel, alimentation.) **(SRLF, 2009)**.

La caractéristique principale de ces infections observées en réanimation est directement ou indirectement associée aux techniques de suppléance invasives utilisées pour pallier une défaillance vitale, qui nécessite le plus souvent la mise en place de matériel étrangers. Les infections nosocomiales, les plus fréquemment rencontrées sont, par ordre décroissant **(Marco, 2007)**.

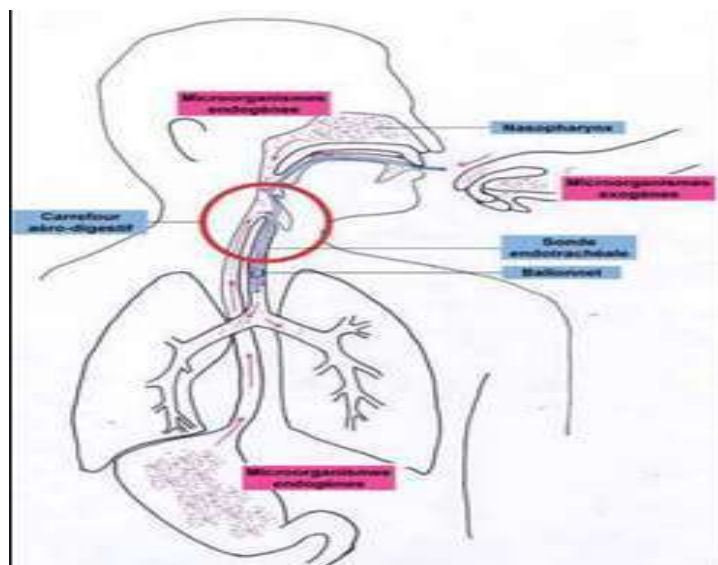
#### IV.2.1. pneumopathie nosocomiale (PN)

La pneumopathie nosocomiale (PN) est un problème de santé publique qui concerne tous les services hospitaliers et en particulier la réanimation. La plupart des patients de réanimation nécessitent le recours à la ventilation mécanique invasive. Les PN posent des problèmes spécifiques en milieu de réanimation et particulièrement (**Nasiriani et al., 2016**).

Lorsqu'elles se développent chez le malade ventilé. Elles sont, le plus souvent, liées à des micro-aspirations de la flore oro-pharyngée formée de germes commensaux chez les sujets sains et de germes gram négatifs chez les sujets malades ou traumatisés. On considère que lorsqu'elles surviennent dans les 5 premiers jours d'hospitalisation elles sont, le plus souvent, dues à des germes d'origine extrahospitalière ; au-delà de ce délai, les germes sont, le plus souvent, d'origine intra-hospitalière (**Nasiriani et al., 2016**).

##### IV.2.1.1 principaux facteurs de risque d'acquisition d'une infection pulmonaire sont:

- la présence de la sonde d'intubation endotrachéal (**Merrer et Carbonne, 2010**).
- L'intubation peut aussi léser l'épithélium de la muqueuse trachéal et en faciliter la colonisation (**Merrer et Carbonne, 2010**).
- La durée de ventilation assistée (**Ricard, 2007**).
- Les facteurs de risque environnementaux comme la présence de *P. aeruginosa* dans les points d'eaux ( **Jaisson-Hot et al., 2000**)
- L'usage d'équipements de ventilation mal désinfectés est considéré comme un facteur de risque (**Merrer et Carbonne, 2010**).



**Figure 4.intubation trachéal (principales voies d'acquisition des microorganismes)  
(Espinasse, 2010).**

#### **IV.2.2. L'infection urinaire (IU)**

L'infection urinaire (IU) représente environ un quart de l'ensemble des infections nosocomiales en réanimation) (Alfandari, 2003). Elle représente toujours la deuxième cause d'infection acquise en réanimation après les PN (**Vincent et al., 1995**) .

L'IU est définie par la présence d'une leucocyturie et de bactéries en grand nombre (> 10<sup>5</sup> cfu/mL) associées à des signes cliniques; chez le malade sondé, on admet qu'un taux plus faible (10<sup>4</sup>, voire 10<sup>3</sup> cfu/mL) est significatif d'infection du fait du drainage permanent des urines. La mise en place d'une sonde vésicale va perturber les défenses de l'hôte et faciliter le développement d'une IU (**Pavese P, 2003**). La lésion de la muqueuse urétrale par la sonde favorise l'implantation des bactéries. Le risque de survenue d'une IUN est relativement stable dans les quatre premiers jours puis augmente de façon très significative de 5% par jour de sondage (**Martine et al., 1997**) .

##### **IV.2.2.1. facteurs de risque :**

- La colonisation de sac de drainage (**Richards et al., 1999**)
- Les obstructions de la sonde vésicale et le non-respect de la déclivité du système de drainage sont les erreurs les plus fréquentes (**Richards et al., 1999**).
  
- la durée du sondage ( **Stamm, 1991**)

Il existe plusieurs types de germes responsables d'IUN : *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Entérobacter*, *Enterococcus spp* (**Aljohi et al., 2016**) .

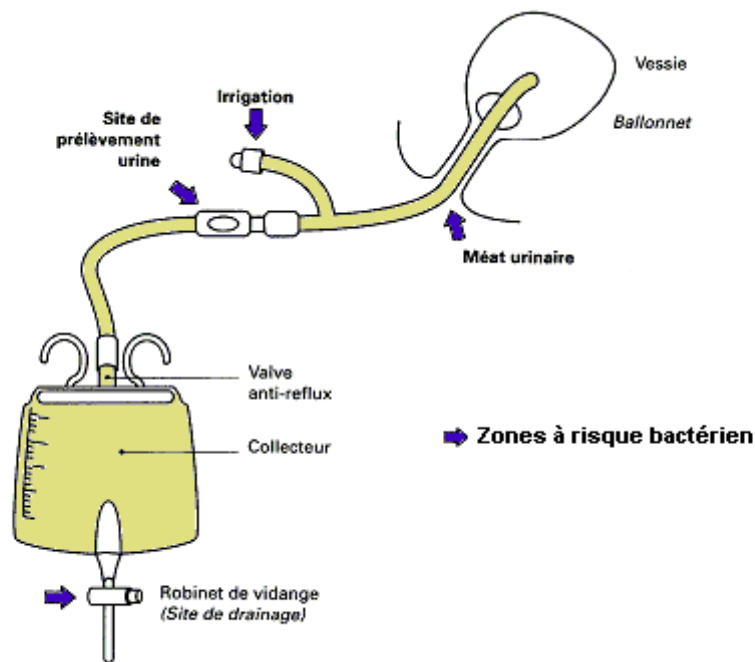


Figure 5. Les différentes zone a risque d'une infection urinaire (Espinasse, 2010).

#### IV.2.3. Infections liées aux cathéters

Le cathétérisme veineux consiste en l'introduction dans le système veineux (Mimoz et al., 2001), par voie transcutanée. Le cathétérisme soit veineux périphérique ou cathétérisme veineux central (C.CLIN Paris-Nord, 2001).

Les infections liées aux cathéters représentent 18 à 25 % des bactériémies nosocomiales. Elle est définie par la présence de microorganismes à la surface interne et/ou externe du cathéter responsables d'une infection locale et/ou générale.(C.CLIN Paris-Nord, 2001) .

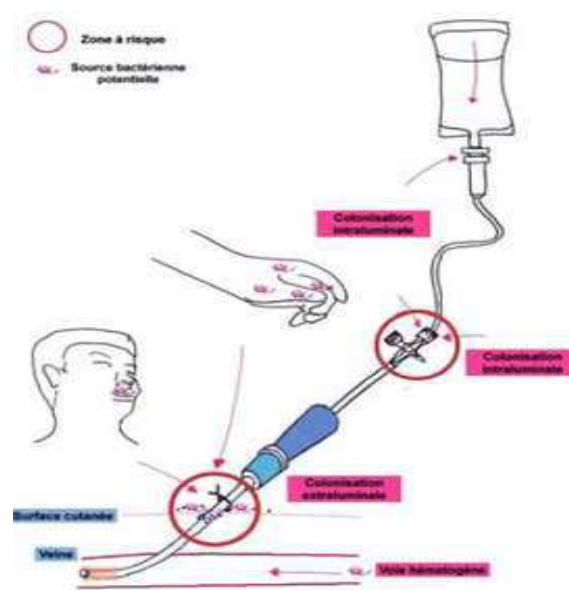
Les voies vasculaires doivent être inspectées quotidiennement en réanimation, lors la présence signes locaux francs d'infection (œdème ou érythème important, voire purulence au site d'insertion) nécessite l'ablation du cathéter (C.CLIN Paris-Nord, 2001).

#### IV.2.3.facteurs de risque :

- La durée du cathétérisme (Bleichner et al., 1994).
- Pour les cathéters artériels pulmonaires, il existe une augmentation du risque au-delà du quatrième jour de cathétérisation (Bleichner et al., 1994).

- La colonisation de la face externe du cathéter à partir de son point d'entrée cutané constitue la voie de colonisation la plus habituelle pour les cathétérismes de courte durée (Merrer , 2005)
- La colonisation de la face interne du cathéter, par les bactéries présentes sur les mains du personnel soignant et venant contaminer le pavillon du cathéter lors de manipulation de la ligne veineuse, est la voie prédominante de colonisation des cathétérismes prolongés. il existe aussi d'autres facteurs telque le site d'insertion (Merrer ,2005).

À côté des principaux facteurs de risque on peut additionner d'autres des facteurs qui sont liés au patient : Les âges extrêmes, la dénutrition, l'immunodépression induite par une chimiothérapie, l'existence d'un foyer infectieux à distance et la présence de lésions cutanées sévères (Mimoz , 2001).



**Figure 06. Cathéter vasculaire (principales voies d'acquisition des microorganismes)**  
(Florence et al., 2010).

#### IV.2.4. Infection du site opératoire : ISO

Les infections de site opératoire (ISO) sont affirmées, si elles surviennent dans les 30 jours suivant l'intervention ou dans l'année qui suit la mise en place d'un implant (Haond et al., 1996).

Elles sont classées en infections superficielles et profondes de la plaie opératoire. Les infections superficielles sont caractérisées par la présence de pus (ou de nombreux polynucléaires altérés), avec ou sans isolement d'un germe, au niveau de l'incision chirurgicale ou entre l'aponévrose et la peau. Les infections profondes sont caractérisées par la présence des mêmes signes dans la région sous-aponévrotique ou au site même de l'intervention. La plupart des ISO sont dues à des cocci à Gram positif, notamment *Staphylococcus spp.* Le polymicrobisme est cependant fréquent, associant aux précédents des *entérobactéries* et *streptocoques*, ou anaérobies (**Horan et al., 1992**).

#### IV.2.4.1. facteurs de risque des ISO :

- concernent autant les soignants que les patients (**Horan et al., 1992**).
- un séjour préopératoire long entraîne une modification de la flore bactérienne du patient Par colonisation des bactéries d'origine hospitalière (**Reiffel et al., 2013**) .
- la gravité de maladies sous-jacentes (**Reiffel et al., 2013**).

#### IV.3. Maîtrise de la diffusion des BMR

La maîtrise de la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR) constitue une priorité pour nos hôpitaux. Cette situation demeure réellement préoccupante en raison de la fréquence et de la gravité de ces infections, de leurs conséquences en termes de morbidité, de mortalité, mais aussi par leur poids considérable en termes de consommation de soins, d'examens, de journées d'hospitalisation. La mise en œuvre d'une stratégie active, efficace contre ces bactéries s'impose des différentes stratégies pour la maîtrise de diffusion des BMR telle que : (**Raisin, 2015**).

- Isoler les porteurs.
- Arrêter les transferts des porteurs et des contacts.
- Dépister et isoler les contacts, y compris ceux déjà transférés au moment de la découverte du premier cas.
- Dépister les contacts 1 fois/semaine jusqu'à leur sortie.
- En cas d'épidémie, regrouper les patients dans 3 secteurs distincts avec du personnel dédié.
- patients porteurs (secteur des cas)
- patients contacts (secteur des contactes)



- nouveaux admis.
- Identifier les réadmissions des cas et des contacts.
- Améliorer l'hygiène des mains.
- Maitriser l'antibiothérapie. **(Raisin, 2015).**

# *Chapitre II*

## *Matériel et Méthodes*

## **I. Matériel I et Méthodes**

### **I.1 .Lieu d'étude**

Notre étude à été réalisée au niveau de l'établissement public hospitalier (EPH) d'Ouargla précisément dans les services : réanimation et laboratoire d'analyse bactériologique. .l'hôpital est situé géographiquement au centre de la ville, et il s'étale sur une superficie globale de 18199 mètres carrés et sa capacité d'accueil peut atteindre les (625) lits et (17) services avec (30) lits chacun.

#### **I.1.1 Description du service de réanimation**

Le service est constitué de(06) chambres (chacune d'elles comporte 02 lits), deux (02) chambres individuelles, une chambre d'échographie, une pharmacie, une salle de soin, (02) toilettes, cuisine et un vestiaire.

Chaque chambre est dotée du matériel suivant : Seringue électrique et un appareil de mesure de la tension artérielle (pour chaque patient) .Concernant les (02) chambres individuelles chacune d'elle comporte un appareil de radiographie, écographie, ECG (électrocardiographie) et un électrochoc. Il est à noter que le service comprend aussi(04) aspirateurs et(02) respirateurs.

### **I.2.Matériel**

#### **I.2.1. Instruments et Appareillage**

- Boites pétri.
- Gants.
- Pipette pasteurs.
- Anse de platine..
- Lames et lamelles.
- Tubes à essais.
- Les écouvillons.
- Pince.
- Etuve.
- Microscope optiques.

- Bec bunsen.
- PH mètre.
- Spectrophotomètre.

### **I.2.2. Réactifs**

- Eau physiologique stérile.
- Violet de Gentiane.
- Lugol.
- Alcool 90°.
- Bleu de méthyle
- Fushine basique.
- Disques imprégnés d'antibiotiques.
- Réactif de Kovacs.
- -TDA
- Eau distillée.
- Rouge de méthyl.
- VP I, VP II.
- Disques ONPG
- Huile de vaseline stérile.
- Huile d'immersion

### **I.2.3. Milieux de culture**

#### **I.2.3.1. Milieux de cultures solides**

- Gélose Chapman
- Gélose Hektoen
- Gélose au sang
- Gélose nutritive
- Gélose Mueller Hinton
- MacConkey

**I2.3.2 .Milieux de cultures liquides**

- Bouillon cœur cervelle (BHIB)
- Bouillon nutritif (BN)

**I.2-4.-Tests biochimiques**

- Eau oxygénée à 10 volumes
- Milieu TSI
- Milieu urée indole ;
- Milieu citrate de Simmons ;
- Milieu Clark et Lubs ;
- Milieu mannitol mobilité ;
- Milieu king A ;
- Milieu king B ;
- Milieux MOELLER.
- Bouillon nitraté.
- Plasma humain

**I.2.5. antibiotiques****Tableau 1. Les antibiotiques testés sur *Pseudomonas aeruginosa***

	<b>La famille</b>	<b>Les antibiotiques</b>	<b>Sigle</b>	<b>La charge</b>
<b>Les betas lactamines</b>	Carboxypénicilline	Ticarcilline	TIC	75µg
	Carbapénème	Imipenème	IMP	10µg
	Clavams	Ticarcilline + acide clavulanique	TCC	20+10 µg
	Monobactames	Aztréoname	ATM	30µg
	Polymixine	Colistine	CT	30µg
	C3G	Céfazoline	CAZ	30µg
	<b>Aminoside</b>	Gentamycine	CN	15µg

**Tableau 2. Les antibiotiques testés sur *staphylococcus aureus***

La famille	Les antibiotiques	Sigle	La charge
aminosides	Amikacine	AK	30µg
	Tobramycine	TOB	10µg
	Gentamycine	CN	15µg
Macrolides	Erythromycine	E	15µg
	Lincomycine	L	15µg
	Pristinamycine	PT	15µg
glycopeptides	Vancomycine	VA	30µg
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30UI
Quinolones	Ofloxacine	OFX	5µg
Fosfomycines	Fosfomycine	FF	50µg
Rifamycine	Rifampicine	RA	30µg
Fusidanines	Acide fusidique	FA	30µg
Beta lactamine	Oxacilline	OX	5µg

Tableau 3. Les antibiotiques testés sur *les entérobactéries*

Famille	Les antibiotiques	sigle	La charge	
Beta lactamines	Aminopénicilline	Amoxicilline	AX	25µg
	Carboxypénicilline	Ticarcilline	TIC	75µg
	Carbapénème	Imipenème	IMP	10µg
	Clavams	Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	20µg +10µg
	Monobactame	Aztréoname	ATM	30µg
	C1G	Céfalotine	KF	30µg
	C2G	Céfoxitine	FOX	30µg
	C3G	Céfazoline	CAZ	30µg
	C4G	Céfotaxime	CTX	30µg
		Céfépime	FEP	30µg
	Aminosides	Amikacine	AK	30µg
	Gentamycine	CN	15µg	

			Tobramycine	TOB	10µg
Quinolones	Quinolone génération	1 <sup>ère</sup>	Acide nalidixique	NA	30µg
Fosfomycines			Fosfomycine	FF	50µg
Phénicoles			Cloramphénicol	C	30µg

- C1G : Céphalosporine de 1<sup>ère</sup> génération.
- C2G : Céphalosporine de 2<sup>ème</sup> génération.
- C3G : Céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération.

### I.3. Méthodes

#### I.3.1 Population d'étude

Les patients admis en réanimation du (EPH) d'Ouargla du 29 Janvier 2018 au 13 Mars 2018 : (15) patients ont été inclus dans notre étude.

#### I.3.2. Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués avant toute toilette ou antiseptie, à partir de l'environnement (bord du lit, poignée de porte, gants, mains de personnel, interrupteur, blouse et lavabo, réfrigérateur, les murs , la table) et à partir de divers liquide pathologiques des patients hospitalisés (urine, sécrétion pulmonaire, crachat, plaie et pus) , aussi à partir des déférents dispositifs médicaux(sonde vésicale, sonde d'aspiration , sonde trachéal , cathéter vinaireux ) au niveau du service de réanimation puis acheminés au laboratoire pour être incubés à 37°C pendant 24 heures.

##### I.3.2.1. produits pathologiques

###### A. Pus

Après la collecte du pus au niveau de l'ouverture, le prélèvement se fait avec des écouvillons secs.

**B. urines**

On recueille les urines dans un récipient stérile. Si le patient est porteur d'une Sonde urinaire, on prélève directement de la poche d'urines.

**C. Plaie**

La méthode consiste à faire passer un écouvillon stérile dans la plaie suppurée du malade d'une façon profonde.

**D. Sécrétions broncho-pulmonaires et crachats**

Après un lavage broncho-alvéolaire ou aspiration bronchique en milieu spécialisé on recueille le crachat dans un flacon stérile, et pour Sécrétions broncho-pulmonaires par écouvillonnage.

**I3.2.2. dispositifs médicaux**

L'insertion des défères dispositifs à travers la peau (cathéter vésical, sonde vésicale, sonde trachéale et sonde d'aspiration) expose un risque de colonisation par des micro-organismes de la flore cutanée résidente. Le risque infectieux varie avec le site d'insertion des dispositifs.

Le prélèvement de ces dispositifs nécessite l'ablation du matériel et le placer dans un tube contenant des bouillons nutritifs. Les échantillons prélevés ont été rapidement transportés au laboratoire de microbiologie, où ils sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition de culture bactérienne qui se manifeste sous forme de trouble.

**I.3.2.3. L'environnement**

Nous avons utilisé la méthode d'écouvillonnage qui consiste à frotter sur la surface sèche à analyser, l'extrémité cotonnée de l'écouvillon préalablement humidifiée à l'aide d'eau physiologique ou d'eau distillée stérile, puis tromper et agiter dans un tube contenant du bouillon nutritif. Si la surface à analyser est humide (solution, eau ou surface humide), il suffit de frotter directement sans l'utilisation de l'eau physiologique.

Pour le prélèvement de l'air nous avons utilisés des boîtes contenant GN (géloses nutritive) en les laissant ouvertes en contact avec l'air pendant 20 minutes pour permettre la mise en place des germes existants dans le milieu d'isolement. Les échantillons ainsi prélevés ont été



rapidement transportés au laboratoire de microbiologie, où ils sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition de culture bactérienne qui se manifeste sous forme de trouble.

#### **I.3.2.4. Fiche de renseignement**

Durant notre étude, nous avons établi deux fiches de renseignements.

- La fiche de renseignement numéro (1) a été utilisée pour les patients qui ont admis dans le service, elle inclura : sexe, âge, la date d'entrée en service de réanimation, hospitalisation antérieure.
- La fiche de renseignement numéro (2) a été utilisée pour une enquête sur la qualité de désinfection et d'asepsie.

#### **I.3.4. Isolements et purification**

Chaque prélèvement était ensemencé en quatre types de milieux de culture : la gélose Chapman, la gélose Mac Conkey (MC) ou Hektoen et la gélose au sang et gélose nutritive.

L'ensemencement sur gélose a été fait comme suit si on a :

- ensemencée à l'aide de l'extrémité cotonnée de l'écouvillon imbibé dans le bouillon nutritif, en frottant à la surface de la gélose. La deuxième partie a été ensemencée par l'anse de platine ou une pipette Pasteur), à partir du premier ensemencement, en faisant des stries éloignées par méthode de l'épuisement pour diminuer la charge afin d'obtenir des colonies isolées.
- ensemencée directement par une pipette pasteur ou bien l'anse de platine par la méthode des stries et on flambe avant chaque quadrants (épuisement) on utilise cette méthode pour ensemencement à partir des liquide pathologique (urines comme un exemple) ou bien les bouillons nutritif déjà ensemencé (contient les dispositifs par exemple).

Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition des colonies.

Afin de confirmer la pureté des souches, nous avons effectué des repiquages successifs en alternant milieu liquide (bouillon nutritif) et milieu gélosé sélectif.

### I.3.5. Identifications bactériennes

L'identification comporte une série d'étapes, se succédant le plus souvent dans un ordre déterminé, dont la coloration de Gram est l'étape clé dans notre travail, cette étape de l'examen directe est essentiel pour apprécier la présence et la morphologie des germes et permet de classer les bactéries en deux grandes catégories (Gram + et Gram - ).(Larpen et Larpen, 1990)

#### I.3.5.1. Identification des Staphylocoques

Les souches à Gram positif isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards telque (la coloration de Gram, catalase et le test de coagulase) .Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.

##### A. test catalase

La catalase (Ferro porphyrine de poids moléculaire élevé) à la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène .C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne.

On prend une goutte d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à 10 volumes qu'on dépose sur une lame avec une colonie bien distincte de culture jeune de 24 h, le dégagement immédiat de bulles d'oxygène exprime la présence d'une catalase.



##### B. Test coagulase

C'est une protéine qui prouve qu'il y'a coagulation du plasma humain, elle n'est sécrétée que par les *staphylocoques* pathogènes (*S.aureus*).

La détection de cette coagulase s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0,5 ml de plasma humain et 0,5 ml d'une culture de staphylocoques de 24h, le mélange est incubé à 37° pendant 4 à 24h .Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum.

### **I.3.5.2. Identification des bactéries à Gram négatif**

On a réalisé la galerie biochimique classique pour mettre en évidence les caractères biochimiques de ces bactéries. Pour chaque souche, préparer d'abord la suspension en mettant une colonie prélevée de la boîte de pétrie après repiquage dans 5 ml d'eau physiologique.

#### **Tests classiques**

**A. Milieu TSI :** On réalise un ensemencement par stries sur la pente et par piqûre centrale dans le culot.

Le milieu permet de tester avec ou sans production de gaz, l'utilisation de glucose, saccharose et lactose par le virage du rouge de phénol au jaune et la production d'H<sub>2</sub>S par la souche qui se traduit par un dépôt noir de fer, la lecture se fait au bout de 24h d'incubation à 37°C.

**B. Utilisation du citrate :** La pente du milieu Citrate de Simmons est ensemencée avec une strie sur toute la surface. Incubation à 37°C, pendant 18 heures.

Une réaction positive se traduit par une alcalinisation du milieu en le faisant virer au bleu.

**C. Mannitol-mobilité :** Le test permettant de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et l'étude de la mobilité de la souche. L'ensemencement du milieu s'est fait par piqûre centrale dans le culot jusqu'au fond du tube .Incubation dure 24 heures à 37°C.

La fermentation du mannitol se révèle par une acidification du milieu qui fait virer l'indicateur de pH au jaune.

La mobilité se traduit par la diffusion des bactéries à partir de la ligne d'ensemencement vers la périphérie, en créant une turbidité .Les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la pique centrale.

**D. Test pour la mise en évidence de l'uréase, tryptophane désaminase (TDA) et la production d'indole :** Ce test consiste à inoculer dans le milieu urée indole des colonies bactériennes identiques, suite à une incubation de 18 heures à 37°C, la révélation de la présence de l'uréase se traduit par une alcalinisation du milieu d'où une coloration rose rouge.

L'addition du réactif de Kovacs montre la production de l'indole qui se traduit par un anneau rouge en surface du milieu.

La désamination du tryptophane se manifeste par une coloration brune après l'adjonction de perchlorure de fer.

#### **E. Etude des voies de fermentation de glucose (test RM et VP) :**

Nous avons utilisé le milieu Clark et Lubs qui permet l'étude des produits de fermentation du glucose. Nous l'avonsensemencé avec la souche bactérienne à analyser. Après avoir incubé à 37°C pendant 18 heures nous avons partagé le milieu en deux tubes pour pratiquer les deux tests :

- **Test VP (Vosges-Proskauer) :** La mise en évidence de la production d'acétoïne au cours de la fermentation par la voie du butane-diol en présence de réactif VP (en ajoutant quelques gouttes du réactif VP1 et le même volume du réactif VP2), l'acétoïne donne une coloration rouge. La lecture s'effectue après quelques minutes.
- **Test du rouge de méthyle :** En additionnant 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle, la mise en évidence des fermentations acides mixtes par acidification d'un milieu glucosé et l'apparition d'une couleur rouge. La lecture est immédiate.

**F. Test de la bêta galactosidase (Test de l'O.N.P.G) :** Le test consiste à faire une suspension dense d'une culture dans 0,25ml d'eau physiologique et on ajoute un disque d'O.N.P.G. Incuber à 37°C. La présence d'une bêta - galactosidase se traduit par la libération de l'ortho -nitrophényl soluble de couleur jaune qui apparaît après 1 à 24h. Le test est pratiqué en réalisant une suspension dense de la bactérie testée dans de l'eau distillée puis à l'aide d'une pince flambée et refroidie nous avons ajouté un disque imprégné d'ONPG et nous avons mis le tube dans l'étuve.

Après l'incubation la présence d'une bêta-galactosidase se traduit par la libération de l'orthophényle soluble de couleur jaune qui apparaît après la durée d'incubation.

**G. Teste des décarboxylases (LDC, ODC, ADH) :** A partir d'une culture de la souche à étudier sur gélose, on prépare une suspension en eau physiologique, on ensemence chacun des tubes avec 2 ou 3 gouttes de cette suspension :

- Le premier contient uniquement le milieu de Møller, c'est le tube témoin.
- Le 2eme contient le milieu Møller avec lysine.
- Le 3eme contient le milieu Møller avec l'arginine.
- Le 4eme contient le milieu Møller avec l'ornithine.

On recouvre les quatre tubes avec une couche d'huile de vaseline et on incube pendant 24h à 37°C

- Résultat négatif : virage au jaune.
- Résultat positif : virage au violet

**H. Test de nitrate réductase :** Au cours de ce test, on recherche la production d'une enzyme : la nitrate-réductase par la bactérie, on met quelques gouttes de la suspension bactérienne dans le bouillon nitraté et après l'incubation 24h à 37°C on a ajoutés 5 gouttes de chacun des réactifs nitrite 1 et 2. La réduction des nitrates par la nitrate réductase se traduit par la production de nitrites qui se révèle par une coloration rose.

**I. Productions des pigments :** Des espèces des *Pseudomonas* produisent des pigments dont les deux principaux (pyocyanine et pyoverdine) peuvent être mis en évidence sur les géloses King A et King B.

Le milieu est ensemencé par strie sur la pente, incubation à 37°C pendant 24h.

**King A :** La gélose King A est utilisée pour la caractérisation des *Pseudomonas* par la mise en évidence de la production de pyocyanine. La production de pyocyanine se caractérise par une pigmentation bleu vert.

**King B :** La gélose King B permet la production de fluorescéine (ou pyoverdine), pigment jaune vert fluorescent sous lumière ultra-violette, par certains *Pseudomonas*.

### I.3.6. Etude de l'antibiorésistance des souches bactériennes

Nous avons testé la sensibilité de toutes les souches identifiées vis-à-vis à différentes antibiotiques par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton(MH) selon les recommandations du Comité Française de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**Communiqué du CFA-SFM, 2012**).

**Milieu utilisé :** Nous avons utilisé la gélose MH, les boites sont ensuite séchées à 37°C-20min afin d'éliminer l'excès d'humidité.

**Préparation de l'inoculum :** On prélève quelques colonies et on les dissocie dans 5ml d'eau distillée stérile, l'inoculum son opacité doit être équivalente à une DO de 0,08 à 0,1 lue à 625 nm soit 0,5 la valeur de Mac Farland. Cela correspond à une culture pure à peine confluyente de  $10^6$  à  $10^8$  UFC/ml (**CA-SFM, 1998**).

**Ensemencement :-** On ensemence par écouvillonnage les boites de gélose MH ;

- On dépose les disques d'antibiotiques à tester.
- On incube les boites 24h à 37°C.

**Lecture :** On mesure à l'aide d'une règle les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques. L'interprétation en sensible(S) ou résistante(R) est effectuée selon les critères définis par le CFA-SFM (**Communiqué du CFA-SFM, 2012**). Il y a actuellement une graduation à 3 niveaux de sensibilité :

- **S** = bactérie sensible : la concentration minimale inhibitrice mesurée pour cette bactérie est inférieure à la concentration critique humorale de l'antibiotique administré par voie habituelle aux doses habituelles
- **R**= bactérie résistante : la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est supérieure à la concentration critique chez le malade.
- **I**= niveau intermédiaire : la concentration minimale inhibitrice est à la limite de ces concentration critiques.

### I.3.7. Conservation des souches

Les souches ont été conservées à 4°C dans des tubes de gélose inclinée ou dans des tubes de gélose profonde

### I. 3.8. Tests complémentaires

#### A. Test de détection de BLSE

La recherche de BLSE se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxiciline + acide clavulanique (AMC 20/10 µg) à 30mm (centre à centre) d'un disque de C3G : céfotaxime (CTX 30 µg), ceftazidime (CAZ 30 µg), et aztréonam (ATM 30 µg). Incuber 18 heures à 37°C

La production des BLSE peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie dite en « Bouchon de champagne » entre le disque AMC et CTX/ CAZ/ ATM

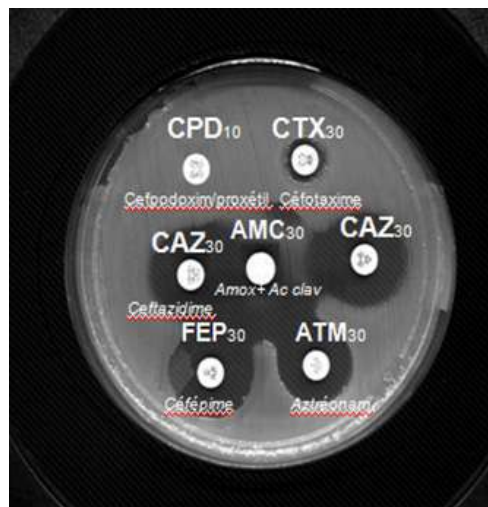


Figure 6. Test de synergie pour la détection des BLSE (Rahal et al. 2005).

**B. Test du rapprochement des disques :** Lorsqu'un second mécanisme de résistance est susceptible de masquer la présence de l'image de synergie, il est possible de retrouver cette image en rapprochant du disque contenant l'acide clavulanique et les disques de C3G

- On a Procédées de la même manière que le test de synergie dans la préparation de l'inoculum et l'ensemencement.

- on Place les disques de C3G (céfotaxime CE dans notre travail) à différentes distances (15, 20, 25 et 30 mm) du disque AMC sur les boites de Pétri .
- Incubation pendant 24 heures à 37°C

La restauration de l'activité de C3G utilisée est traduite par l'apparition de l'image de Synergie entre C3G et AMC.

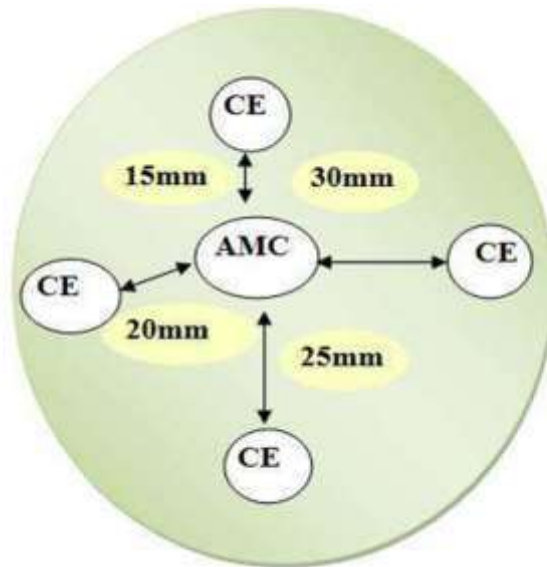


Figure 7. Test du rapprochement des disques (Rahal et al. 2005).

### C. Test de détection de *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline

On a utilisées la méthode par diffusion en milieu gélosé ou « méthode des disques » sur gélose de Mueller-Hinton sur laquelle l'inoculum de la suspension bactérienne étéensemencé puis on a déposé les disques d'oxacilline penicilline , amoxicillin et amoxicillin plus acide clavulanique . Les boîtes sont par la suite incubées à 37 °C pendant 18 h.





Figure 8 .Test de détection des SARM

## II. Résultats et discussion

### II.1. Prélèvements

Entre le 29 janvier et le 13 mars 2018, un nombre total de (75) prélèvements a été analysé, la répartition de ces prélèvements est comme suit : 20 prélèvements de liquides pathologiques (prélèvements de sécrétion pulmonaire, ECBU, pus, plaie, crachat), (25) sont à partir des dispositifs médicaux (sonde d'aspiration, sonde d'intubation, sonde urinaire, cathéter périphérique et central), tous ces prélèvements ont été effectués à partir de 15 patients qui sont admis au service de réanimation de l'hôpital MOHAMMED BOUDIAF de OUARGLA.

Notre étude a concerné également l'environnement 30 prélèvements (les mains du personnel, blouse, les draps, l'air, lavabo et les bords de lits) ont été réalisés.

Le tableau (02) regroupe le nombre de l'ensemble des prélèvements réalisés

**Tableau 4. Nombre de prélèvements effectués dans le service de réanimation**

	Service de réanimation		
	Liquide pathologique	Dispositifs médicaux	Environnement
<b>Type de prélèvement</b>	Sécrétions pulmonaire(7)	Sonde d'aspiration (4)	Personnel (5)
	ECBU (6)	Sonde d'intubation (5)	L'air(5)
	Pus (3)	Sonde urinaire (8)	Blouse(3)
	Crachat(3)	Cathéter périphérique (7)	Mur (3)
	Plaie (1)	Cathéter central (1)	Draps (6)
			Lavabo(4)
			Bord de lit (4)
<b>Nombre total</b>	<b>(20)</b>	<b>(25)</b>	<b>(30)</b>

## II. 2. Description générale de la population d'étude

### II. 2.1. Répartition des malades selon le sexe

Parmi les 15 patients admis en réanimation, (09) sont des hommes avec un pourcentage de (55%), et(07) sont des femmes avec un pourcentage de (45%).

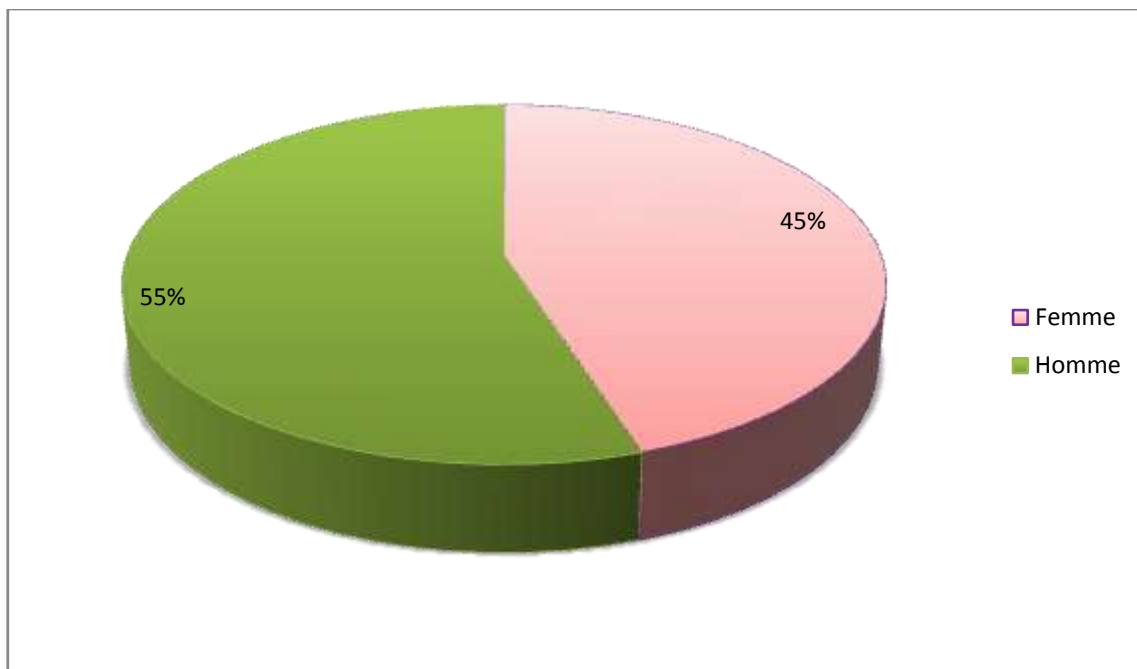


Figure 9. Distribution des prélèvements selon le sexe

### II. 2.2. Répartition des malades selon l'âge

La répartition des malades en fonction de l'âge dans la figure(10) montre que le pourcentage le plus élevé a concerné la tranche d'âge de (15 à 29 ans) avec un nombre de 5 patients, suivis par la tranche d'âge de (60 à 74 ans) dont le nombre est de 3 patients. Le nombre des patients été (2), (3) respectivement pour les tranches d'âge de (30 à 44) et plus de (75ans). Aucun patient ne figure dans la tranche d'âge 0-14 ans.

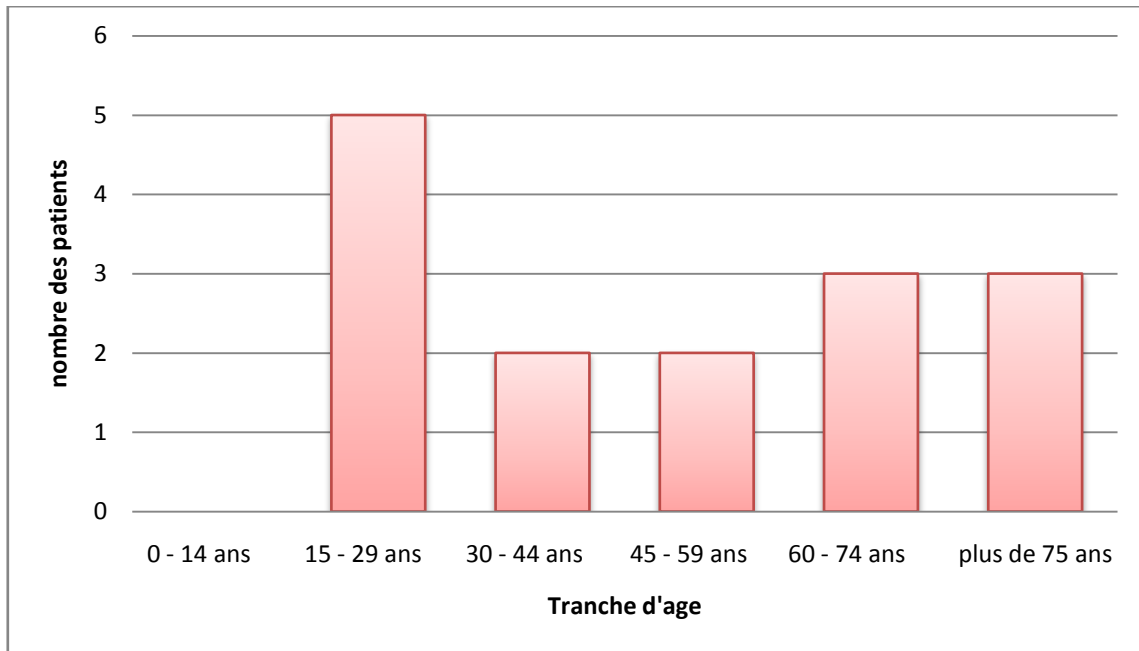


Figure 10. Répartition des malades selon l'âge

II. 2.3. Répartition des malades selon la durée de séjours

Selon la figure (11) la durée la plus longue du séjour en réanimation est de (5 à 10 jours) avec (09) patients, suivi par (05) patients pour une durée d hospitalisations supérieur à 30 jours et seulement 01 patient pour la durée entre (10 à 15 jours).

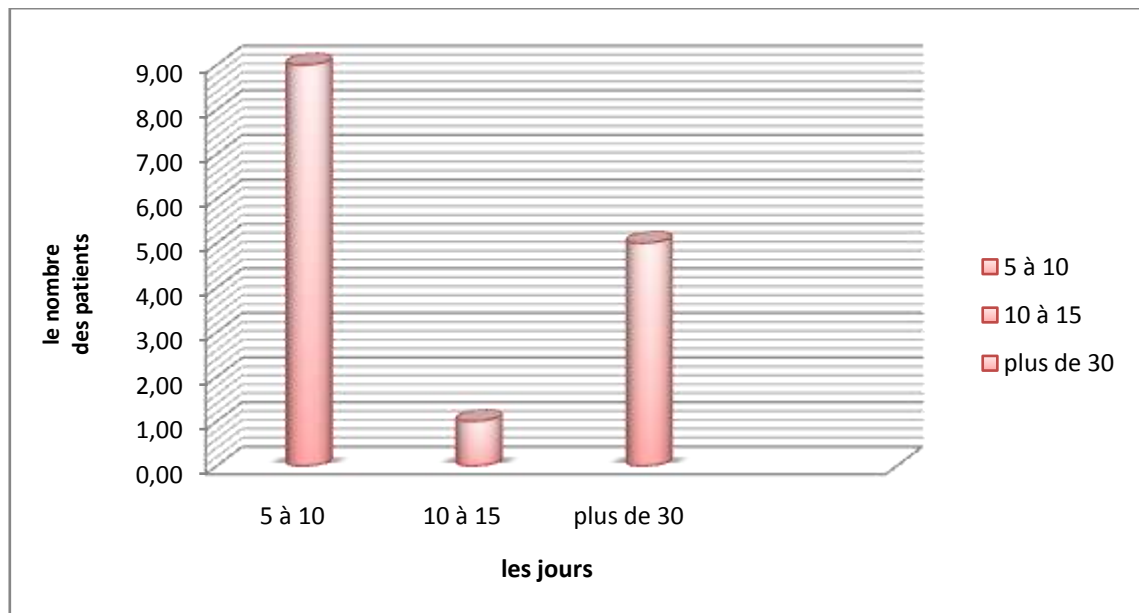


Figure 11. Répartition des malades selon la durée de séjour dans le service de réanimation

Il est bien évidant que le risque d'infection augmente avec la durée de séjour en soins intensifs, la lourdeur des mesures de réanimation et le nombre des dispositifs invasifs.

L'analyse statistique a montré que la durée de séjour est l'un des facteurs de risque de portage des BMR en réanimation (**Oubaassine, 2008**)

#### II. 2.4. Répartition des malades selon l'évolution

Parmi les 15 malades séjournant dans le service pendant notre période d'étude 10 soit (66%) sont décédés.

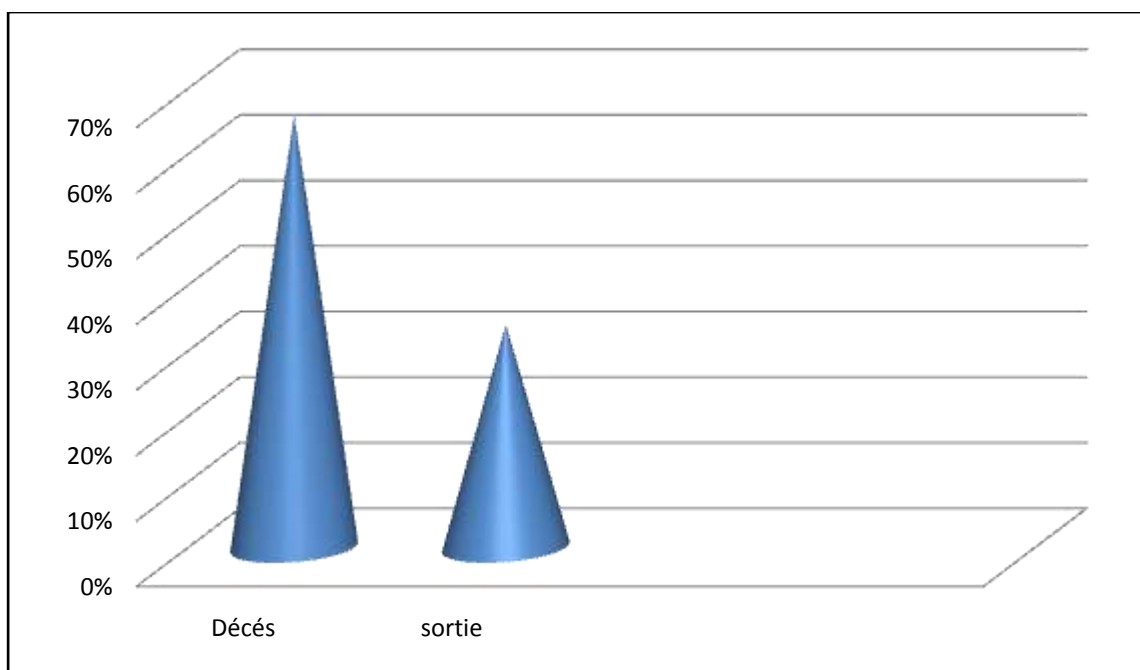
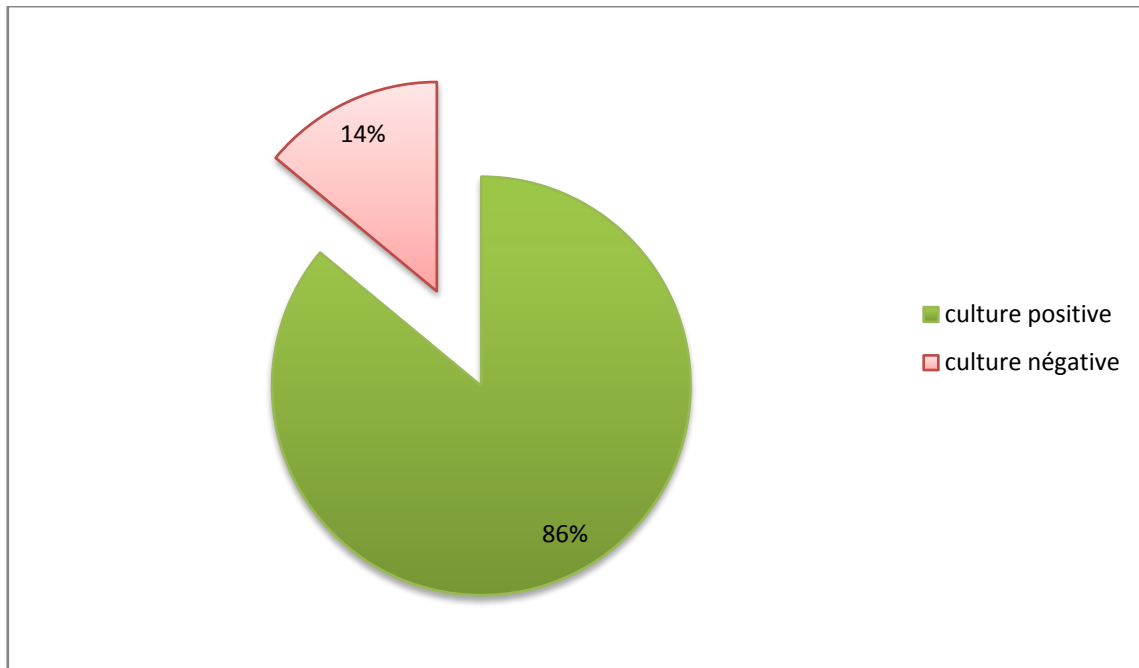


Figure 12. Répartition des malade selon l'évolution

#### II. 2.5. Répartition des cultures positives et négatives des prélèvements

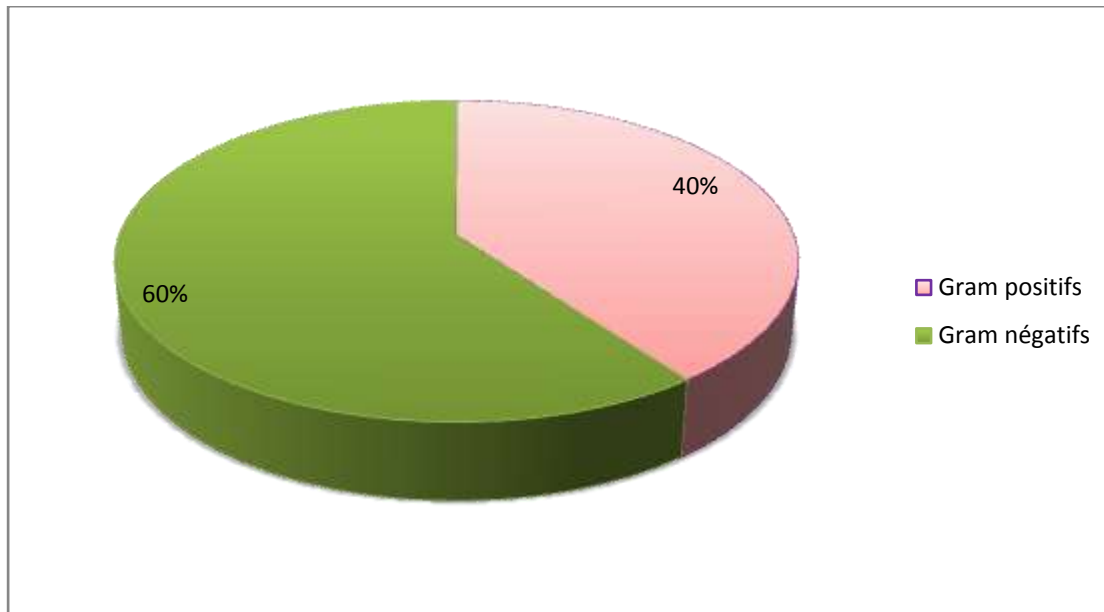
Durant la période d'étude le pourcentage des cultures positives est plus élevé (86%) avec le nombre de (65) prélèvements par rapport au cultures négatives (14%) avec un nombre de (10).



**Figure 13 .Répartition des cultures positives et négatives des prélèvements**

### **II. 3. Résultats des analyses bactériologiques**

Après vérification de certains tests d'identification (coagulase , TSI, ,citrate ,mannitol mobilité, uréase , indole TDA ,ODC , LDC , ADH,VP,RM,ONPG, recherche des pigments ) nous avons isolé et identifié (143) souches, la répartition des souches Gram positifs et Gram négatifs ( Figure15) montre que le nombre des bactéries à Gram négatifs est de( 86) avec un taux de( 60 %) alors que les bactéries à Gram positives sont représentées par (57) souches avec un taux de (40 %).

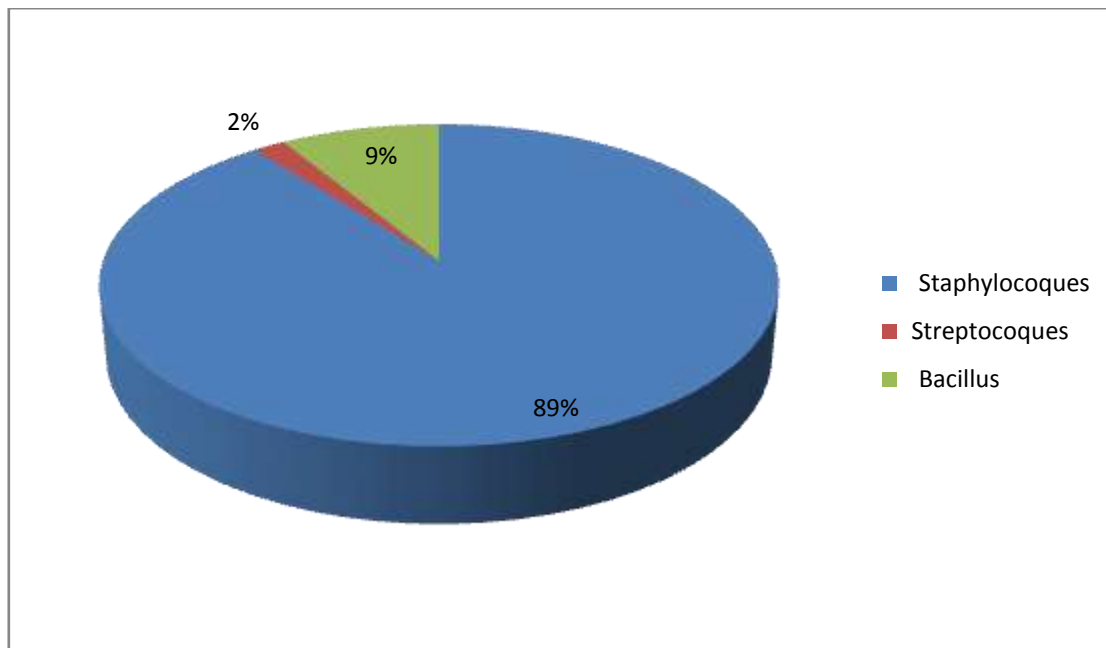


**Figure 14. Distribution des souches Gram positifs et négatifs isolées dans le service de réanimation durant la période d'étude à l'hôpital MOHAMMED BOUDIAF d'OUARGLA**

La constitution bactériologique de la flore microbienne en réanimation est caractérisée par sa diversité. Cette écologie microbienne polymorphe impliquée dans les infections nosocomiales se trouvent partout : dans l'air, sur les surfaces, le linge, les dispositifs médicaux et les liquides pathologiques (Oubaassine, 2008).

### **II. 3.1. Isolement et identification des Gram positifs**

(57) bactéries Gram positives ont été isolés a partir de(75) prélèvements, dont (51) souches appartiennent à la famille *Staphylococcaceae* (89%), (05) à la famille des *Bacillaceae* (9%) et une seul bactérie appartient à la famille des *Streptococcaceae* (2%).



**Figure 15. Distribution des souches Gram positifs isolées dans le service de réanimation**

Il a été rapporté dans une étude faite par (Beaudreuil et al., 2008) que parmi les agents pathogènes les plus fréquemment retrouvés dans le service de réanimation sont les cocci à Gram positifs, en majorité des *staphylocoques*..

### II. 3.1. 1. Isolement et identification des *Staphylocoques*

#### A. Caractères phénotypiques des souches de *Staphylocoques* isolées

**-Aspect des colonies :** Sur le milieu de Chapman, les colonies présentent l'aspect macroscopique caractéristique du genre *Staphylococcus*. Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, si non les colonies sont de couleur blanche. Les colonies sont arrondies à bords réguliers de 1 à 2 mm de diamètre après 24h d'incubation à 37°C.



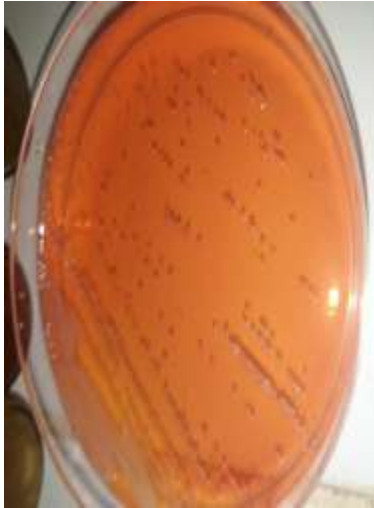


Figure 16. Photo de colonies de *S.aureus* sur milieu Chapman



Figure 17. Photo de colonies de *SCN* sur milieu Chapman

- **Coloration du Gram** : La coloration de Gram des colonies isolées sur milieu de Chapman, nous a permis de donner l'aspect des bactéries, qui est sous la forme de cocci en amas ( grappe de raisin ) ou en diplocoques.

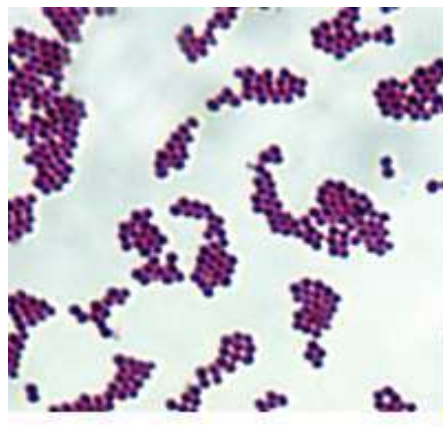


Figure 18. Photo d'observations microscopiques des souches de *Staphylocoques* après une coloration de Gram à grossissement x100.

-**Test catalase** : Les tests de catalase étaient positifs pour l'ensemble des bactéries gram positif isolé à partir de milieu Chapman.



**Figure 19. Photo de la production de catalase par les cocci à Gram positif isolé**

**-Test coagulase :** Le test coagulase est un test clé pour l'identification du genre de *staphylococcus*. Les souches de *staphylocoques aureus* montrent un coagulase positive alors que les souches de *staphylococcus sp* ont un coagulase négative.

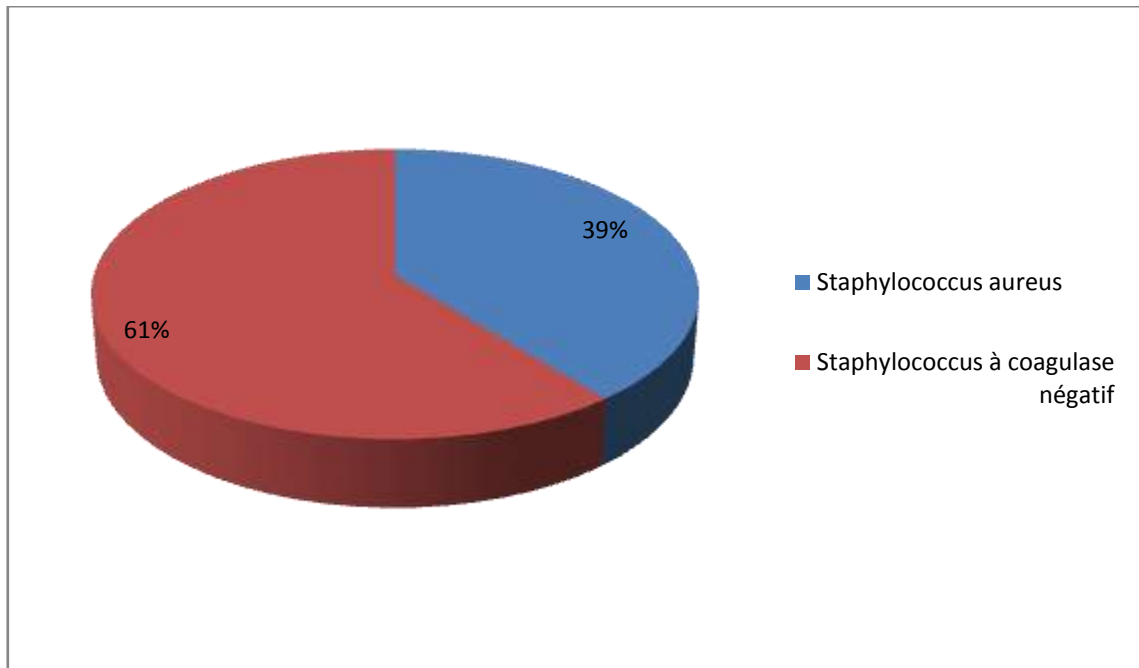


**Figure 20. Photo d'observation du test de coagulase libre (coagulase positive)**



**Figure 21. Photo d'observation du test de coagulase libre (coagulase négative)**

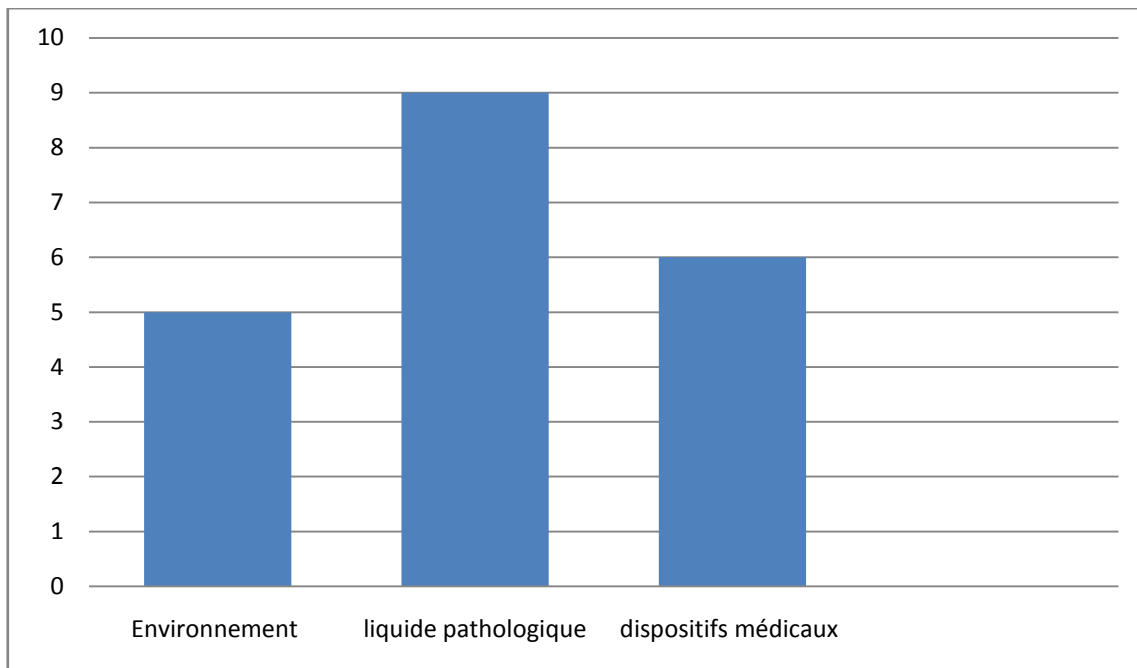
**B. Répartition des souches en fonction de l'espèce :** La répartition des souches (51 souches de *Staphylocoques*) isolées dans le service de réanimation dont (20) souches (39%) appartiennent à l'espèce *Staphylocoques aureus* qui est responsable d'une variété d'infections suppuratives et toxiques (Madec, 2013), et les *Staphylocoques* à coagulase négative (SCN) présentent le pourcentage le plus élevé (61%) dont le nombre est de (31) souches.



**Figure 22. Distribution des souches de *Staphylocoques sp* isolés dans le service de réanimation**

La répartition de nos souches va dans le même sens que celle retrouvée par (**Guirguitzova, 2002**) qui montre que parmi les (266) souches de *staphylocoques* isolées, (13,5 %) appartiennent au *S. aureus* et (86,5 %) sont des staphylocoques à coagulase négatives.

**C. Répartition des souches *Staphylococcus aureus* selon le type des prélèvements :** Pour les prélèvements, le nombre d'isolement de *Staphylococcus aureus* occupe la première place dans les prélèvements de liquides pathologiques avec un nombre de (9) prélèvements, suivi par les prélèvements effectués à partir des dispositifs médicaux (6) et (5) prélèvements à partir de l'environnement.



**Figure 23.**Répartition des souches *Staphylococcus aureus* selon le type des prélèvements

### II. 3.1.2 Isolement et identification de *Streptococcus sp*:

**-Aspect des colonies :** Sur le milieu gélose au sang, les colonies présentent l'aspect macroscopique caractéristique du genre *Streptococcus*. Sur ce milieu, les colonies de *Streptococcus* apparaissent des petites colonies translucides aux diamètres variables certains colonies se traduit par un halo : c'est le caractère hémolytique après 24h d'incubation à 37°C.

**- Coloration de Gram :** La coloration de Gram des colonies isolées, nous a permis de donner l'aspect des bactéries, qui est sous la forme de cocci gram positif disposés, en chaînettes.



**Figure 24.**Photo de coloration de Gram de *Streptocoque*

- **Test de catalase** : Le test catalase était négatif pour *Streptococcus* isolé.

### II. 3.1.3 Isolement et identification de *Bacillus* sp

- **Aspect des colonies** : Les colonies présentant une forme irrégulière de couleur blanche crème ou jaune, translucide à surface brillante.



Figure 25. Photo colonies *Bacillus* sp sur milieu Chapman

-**Coloration de Gram**: La coloration de Gram des colonies isolées, nous a permis de donner l'aspect des bactéries, qui est sous la forme des gros bacilles à Gram positif groupés en longues en chaînettes.

-**Tests catalase** : Le test catalase était positif pour les bacilles Gram positifs isolés.

Notre identification pour les souches suspectées *Streptococcus* sp et *Bacillus* sp nécessite des testes complémentaires.

### II. 3.2. Isolement et identification des bactéries Gram négatifs

(86) bactéries Gram négatives ont été isolés à partir de (75 ) prélèvements , dont (50 ) appartiennent au genre des *Enterobactéries* (58%) , (15) au genre de *Neisseria* (18% ) , une seule souche pour le genre de *Acinetobacter* (1%) et 20 souches appartient au genre des *Pseudomonas* (23%) .

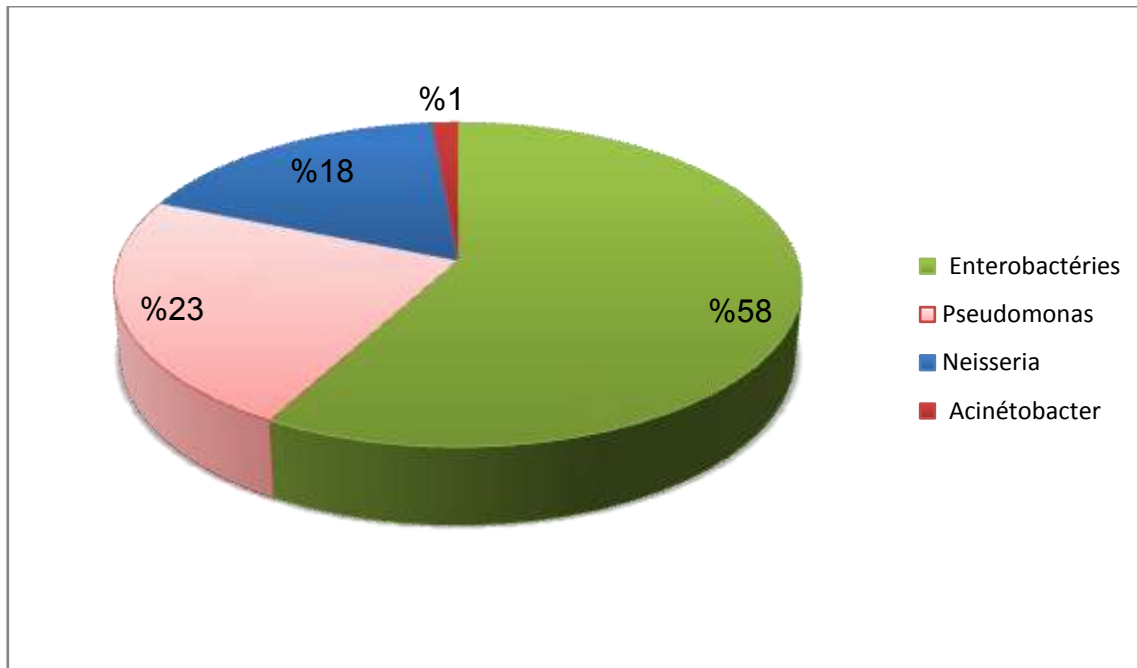


Figure 26. Répartition des bactéries Gram négatives

### II.3.2.1. Isolement et identification des cocci Gram négatifs (*Neisseria sp*)

-Aspect des colonies : Les colonies de *Neisseria sp* apparaissent sous forme des colonies grisâtres à bords réguliers sur milieu gélose au sang cuit.

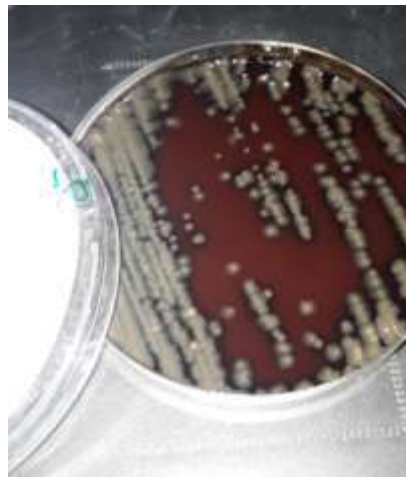
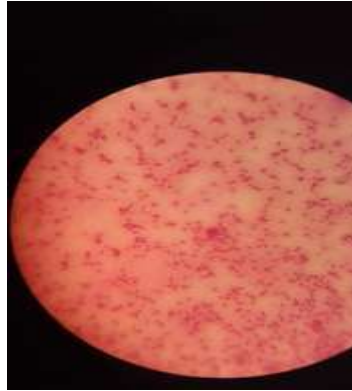


Figure 27. Photo colonies *Neisseria sp* sur milieu gélose au sang cuit

- Coloration de gram : Les bactéries du genre *Neisseria* se caractérisent par un aspect morphologique particulier diplocoques à Gram négatif.



**Figure 28. Photo de coloration de Gram de *Nisseria sp***

Notre identification pour les souches suspectées *Nisseria sp* nécessite des tests complémentaires

### II. 3.2.2. Isolement et identification des bacilles grams négatifs

#### A. Caractères phénotypiques des souches de bacilles Gram négatifs isolées

- **Aspect des colonies** : Sur le milieu de Hektoen après 24 h d'incubation, les colonies caractéristiques aux bactéries fermentant qui fermentent l'un ou les trois sucres présent dans le milieu (lactose, saccharose, salicine) apparaissent habituellement lisses, brillantes, ces bactéries forment des colonies de couleur "saumon", alors que les bactéries non fermentaires (*pseudomonas sp* et *Acinéto bacter sp*) apparaissent avec une coloration vertes.



**Figure 29. Photod'aspects des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur le milieu Hektoen (sucre -)**



**Figure 30. Photod'aspects des colonies de *E.coli* sur le milieu Hektoen (sucre +)**

**-Coloration de gram :** La coloration de Gram des colonies isolées sur milieu Hektoen , nous a permis de distinguer entre *entérobactéries* ,*Pseudomonas* (bacilles) et la forme coccobacille pour *Acinétobacter* .



**Figure 31. Photo de coloration de Gram des bacilles isolées**

**- Identification par la galerie biochimique classique :** la galerie classique nous a permis d'identifier particulièrement les bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* , et *Pseudomonadaceae* et la famille *Moraxellaceae* (la famille d'*Acinétobacter* ) par l'étude de leurs caractères biochimique ( test d'indole , rouge de méthyl , test de Vosges Proskauer , test de citrate , TSI , bouillon nitrate , test ONPG , mannitol mobilité , test de décarboxylase LDC, ODC, ADH ).



**Figure 32. Photo de résultats de quelques tests de la galerie biochimiques classiques**

**- La production des pigments par les *Pseudomonas* :**Les deux milieux King A et King B nous ont permis de mettre en évidence la pyocyanine et la pyoverdine qui colore le milieu de culture.



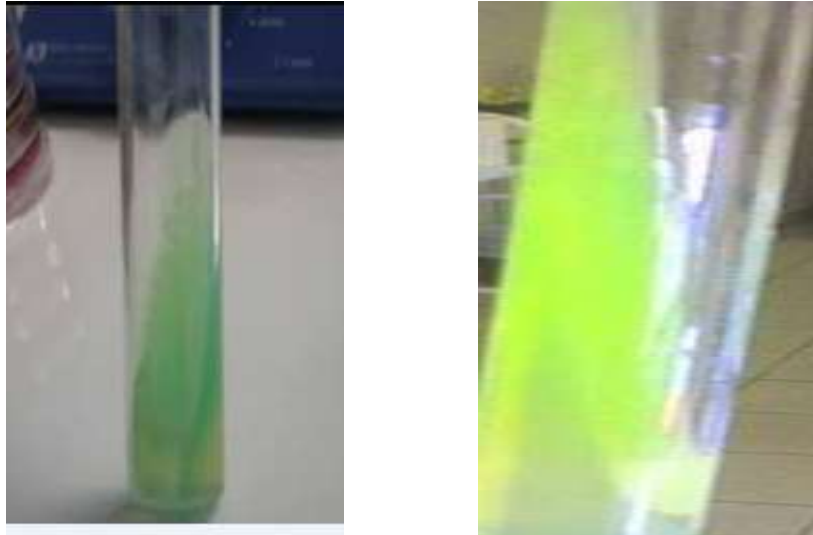


Figure 33. Photo de culture de *Pseudomonas aeruginosa* sur le milieu King A

**B. Répartition des souches en fonction du groupe de BGN :** La Figure (34) montre que le groupe des non fermentant (BGNnF) présentent (21) souches avec un taux (30%), tandis que (70 %) c'est-à-dire (50) souches appartiennent à la famille des *entérobactéries* (BGNF).

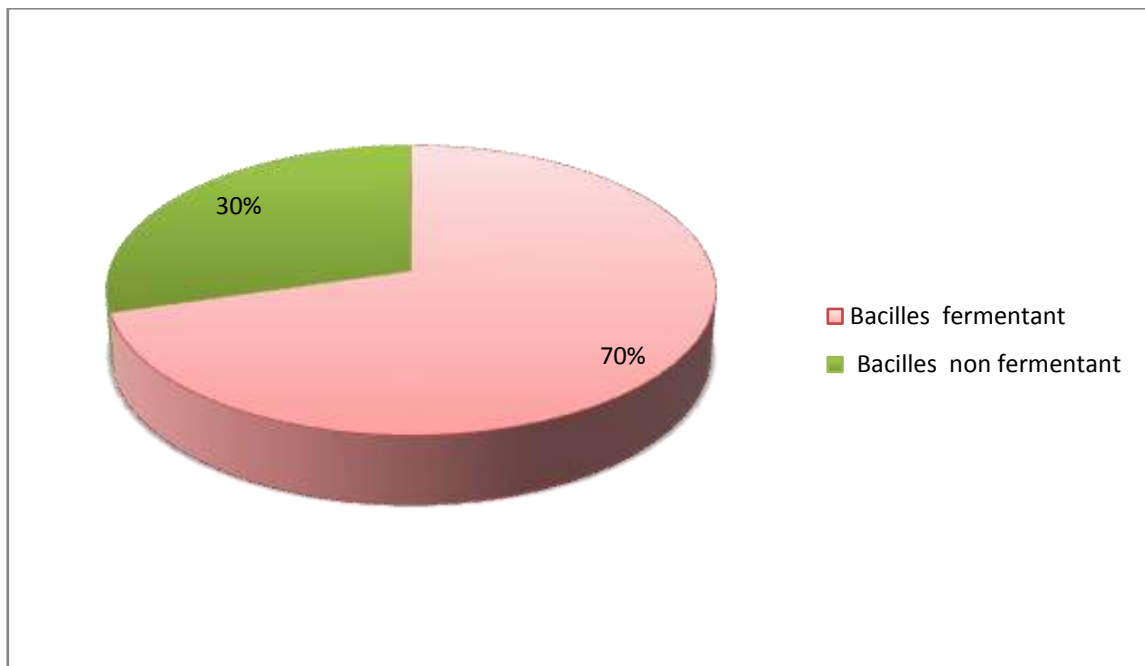
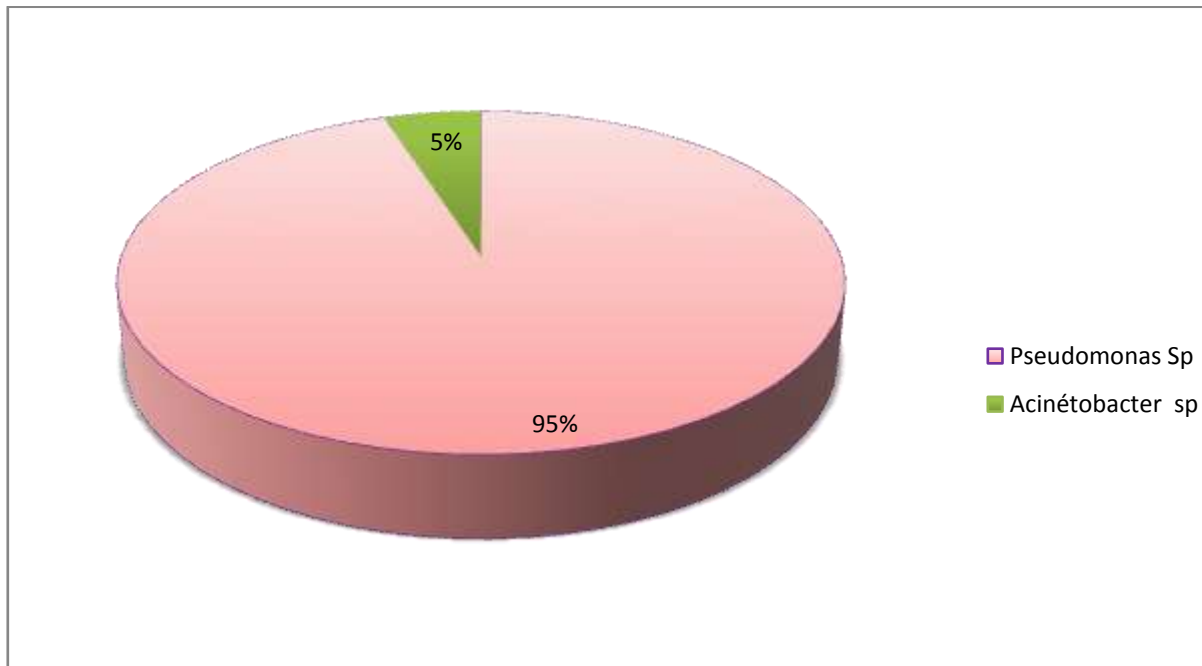


Figure 34. Répartition des bacilles fermentant et non fermentant

Notre résultat est comparable avec l'étude tunisienne de (Saïdani , 2006) marquée aussi par la prédominance des entérobactéries (BGNF 29%), suivi par *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (BGNnF 24%).

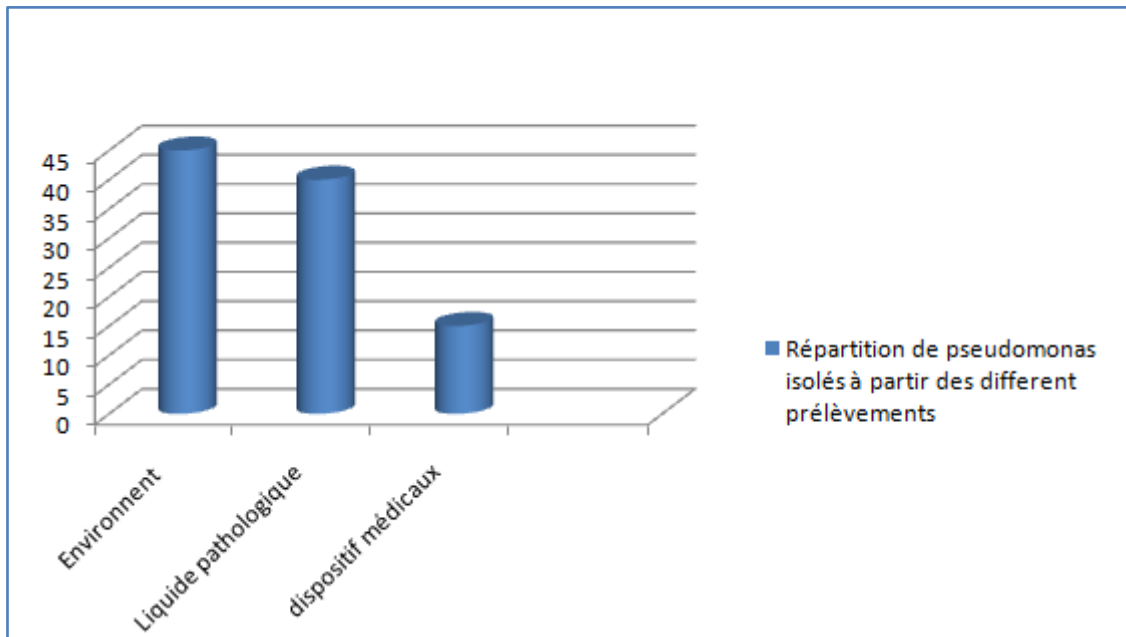
### II. 3.2.2. 1. Bacilles Gram négatives non fermentant

**A. Répartition des bacilles Gram négatifs non fermentant en fonction de l'espèce :** Sur la totalité des souches de BGNnF ont été identifiées, (20) souches de *Pseudomonas sp* (95%) et une seule souche d'*Acinetobacter baumannii* (05%).



**Figure 35. Répartition des (BGNnF) isolés à partir du service de réanimation**

Les mêmes résultats ont été constatés dans le service de soins intensif du CHU de Tlemcen avec un taux d'isolement de (58,37%) pour *Pseudomonas sp* et de (33,33%) pour *A.baumannii* (Chenika, 2013).

**B- Répartition de *Pseudomonas sp* selon le type de prélèvements :****Figure 36. La répartition des *Pseudomonas sp* selon les types de prélèvements**

Nombreuses autres espèces ont été isolées en réanimation et identifiées, en particulier les bacilles à Gram négatifs non fermentant tels que les genres *Pseudomonas*, *Acinetobacter* qui sont des pathogènes opportunistes responsables d'infections nosocomiales sévères (McGowan, 2006).

L'espèce *P. aeruginosa* est ubiquitaire dans l'environnement, elle est trouvée dans le sol, dans l'eau, à la surface. En milieu hospitalier, *P. aeruginosa* est parfois retrouvée dans les solutions aseptiques et sur les instruments tels que les cathéters, les sondes, ou encore dans les canalisations, les lavabos. Son extrême adaptabilité à différents environnements est probablement liée à la plasticité de son grand (Wolfgang et Kulasekara et al., 2003).

**II. 3.2.2.2. Bacilles Gram négatifs fermentants**

**A- Répartition des souches en fonction des espèces :** L'identification des souches isolées a permis, sur la base des caractères morphologiques et biochimiques, de caractériser 50 souches comme étant des bacilles à Gram négatif fermentaires : 17 *Klebsiella pneumonia* ( 35% ), 14 *E. coli* (29%), 8 *Providencia sp*( 17% ), 6 *Proteus sp* ( 14% ), 1 *Citrobacter sp* ( 2 %), 1 *Yersinia sp* ( 2 %), , 1 *Enterobacter sp* ( 2 %), et 2 *Serratia sp* ( 4%).

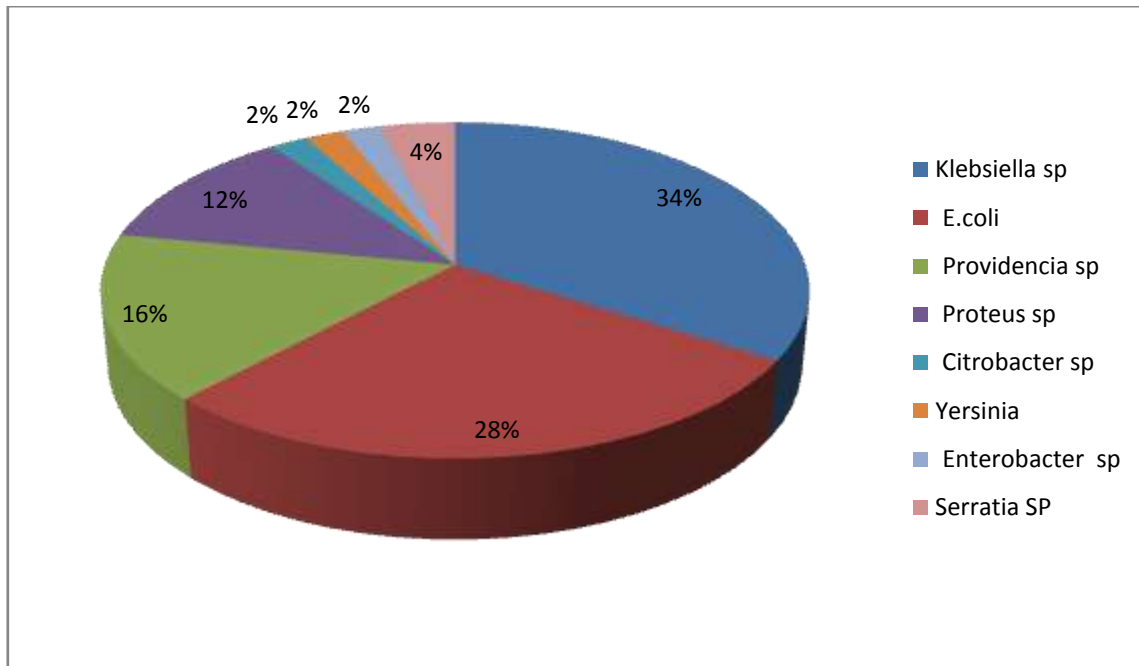


Figure 37. Répartition de la flore Gram négatives fermentative (*Entérobactéries*)

**B. Répartition des Entérobactéries isolées selon le type de prélèvements :** selon la figure (38) le nombre la plus élevé des entérobactéries était isoler a partir des liquides pathologique avec un taux de 45% suivi d'un taux de (36%) pour les prélèvements des dispositifs médicaux et un taux de (11) pour les entérobactéries a partir de l'environnement .

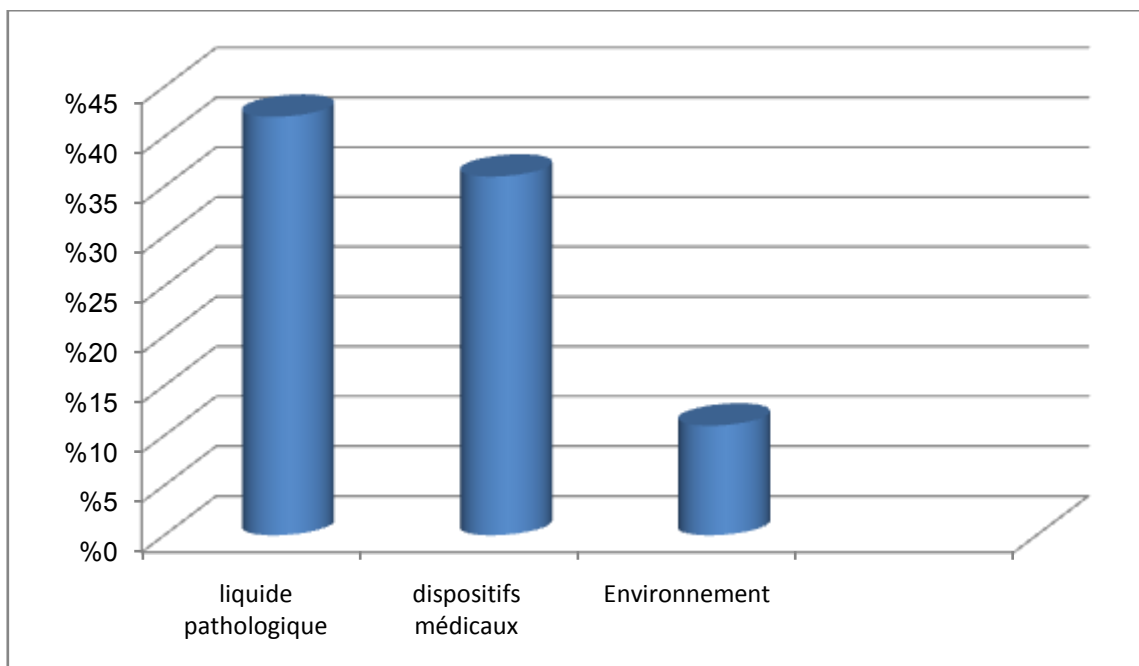


Figure 38. Répartition des entérobactéries isolées selon le type de prélèvements

Les bacilles à Gram-négatif, fermentaires (les *entérobactéries*) constituent certainement en pathologie humaine, un groupe prédominant puisque ils sont parmi les causes les plus fréquentes dans les infections des unités de soins intensifs (réanimation) (Mcgowan, 2006)

## II. 4 - Etude de la Résistance aux antibiotiques

A partir de(143) souches isolées et identifiées, des antibiogrammes ont été réalisés pour (92) souches, dont (20) souches appartenait à l'espèce *Staphylococcus aureus*, (20) au genre *pseudomonas* dont (11) *Pseudomonas aeruginosa* et (50) souches pour les *Entérobactéries* Un antibiogramme est effectué pour chacune des souches de *Streptococcus Sp* et *Acinetobacter Sp*.

### II. 4.1. Résistance des Gram positifs

#### II. 4.1.1. Niveau et de résistance des souches des *Staphylococcus aureus*

Sur l'ensemble des souches de *Staphylococcus aureus* étudiées, les résultats (figure 39) révèlent une résistance importante des souches aux: fosfomycine avec (95%) , à l'oxacilline avec un pourcentage de (90%) et aussi une résistance remarquable a la vancomycine avec (65%) qui doit être signalé car la vancomycine est utilisé comme dernier recours dans l'antibiothérapie des infections causé par *Staphylococcus aureus*..

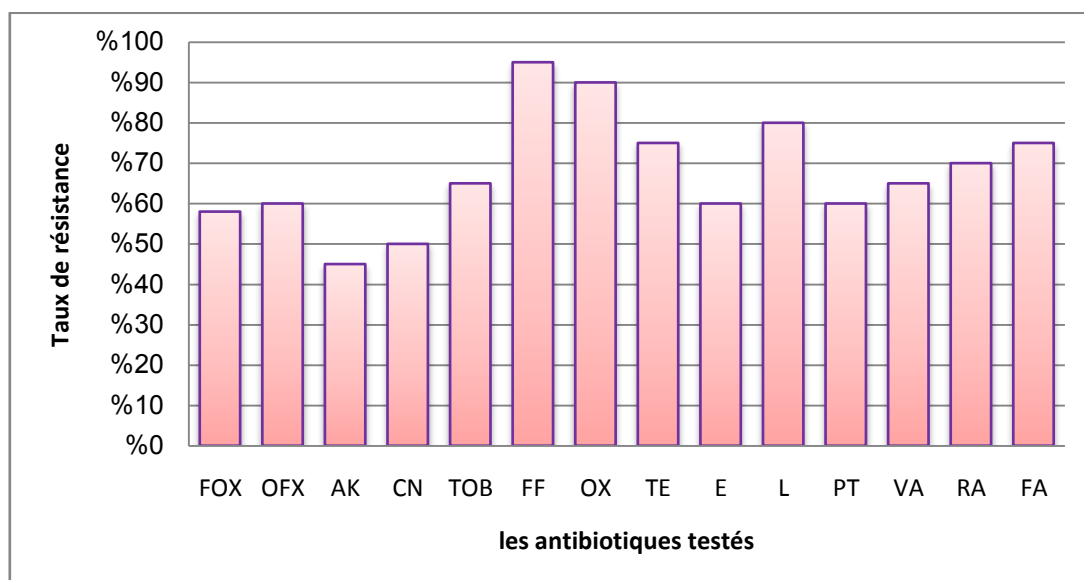
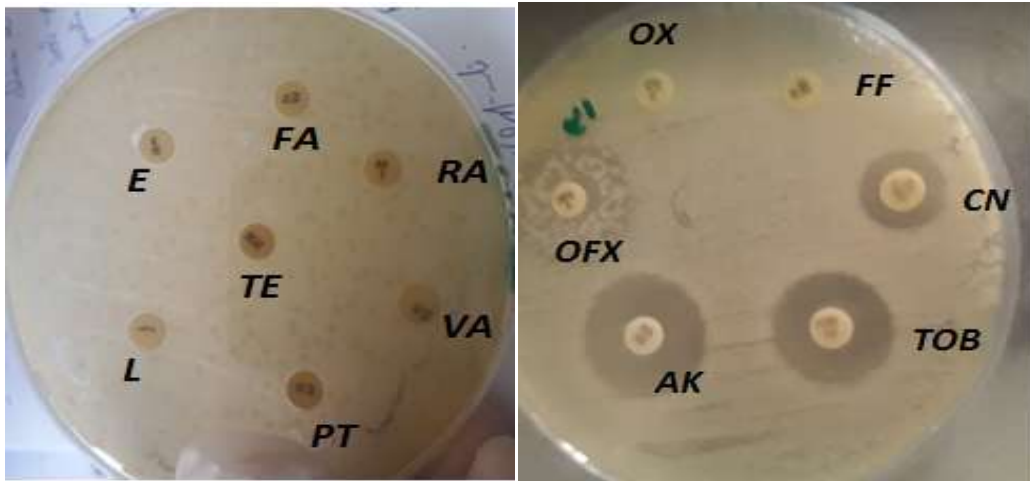


Figure 39. Taux de résistance aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolé



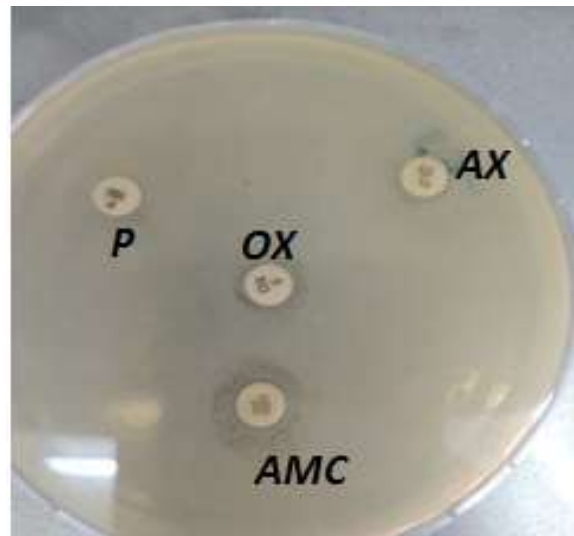
**Figure 40. photo résultats d'antibiogramme d'une souche de *staphylococcus aureus* isolé à partir de sécrétion pulmonaire**

Les souches des *staphylococcus aureus* isolées montrent aussi une résistance assez importante aux aminosides représentée par (45 %) pour l'amikacine, (50%) au gentamycine et (65%) au Tobramycine) et aux macrolides (Erythromycine (60%), Lincomycine (80%) et Pristinamycine (65%)).

*Staphylococcus aureus* (SA) a acquis une place primordiale dans les pneumopathies nosocomiales dans la réanimation en termes de fréquence et de gravité, et pose des problèmes thérapeutiques du fait essentiellement de ses résistances aux antibiotiques et des difficultés de gérer les anti *staphylococciques* majeurs (**Ibelings et Bruining , 1998**).

Pour confirmer ces résultats et déterminer le phénotype de résistance de nos souches on a réalisé le test de la détection de la métilino-résistance.

## II. 4.1.1.1- Test de détection de la méticillino-résistance



**Figure 41. Photo résultat du test de détection de la méticillino-résistance de la souche *S.aureus* isolé à partir de sécrétion pulmonaire.**

Le *Staphylocoque* doré méticilline résistant (MRSA) est un *staphylocoque* doré sur lequel certains antibiotiques ont perdu leur efficacité. Le MRSA est en particulier résistant aux antibiotiques du type bêtalactamines . Certaines souches de MRSA sont devenues résistantes à pratiquement tous les antibiotiques (Cosgrove *et al.*, 2003).

La méticilline, comme l'oxacilline et la cloxacilline, est une pénicilline M non hydrolysée par les pénicillinases. La résistance à la méticilline est principalement due à la production d'une nouvelle PLP, la PLP2a qui codent au gène *mec A* et ayant une affinité diminuée pour les bêta-lactamines (Hisata *et al.*, 2005).

Cet épuisement des ressources thérapeutiques est la raison pour laquelle des mesures de prévention doivent être mises en place pour éviter la dissémination du MRSA. Ces mesures doivent être adaptées au type d'établissement et de patients (Cosgrove *et al.*, 2003).

La figure (41) montre que la souche présentent une résistance à l'oxacilline indique que les souches de *S. aureus* isolées possédant le gène *mec A* donc elles sont résistantes à toute la famille des  $\beta$ -lactamines (SARM) (Ibelings MM et Bruining HA, 1998).

la souche présentent une résistance à l'oxacilline indique que les souches de *S. aureus* isolées possédant le gène *mec A* donc elles sont résistantes à toute la famille des  $\beta$ -lactamines (SARM) (Ibelings et Bruining , 1998).

La majorité des patients qui ont admis en réanimation et durant tout la période de leurs séjours sont intubés, ce qui augmente le risque d'avoir une pneumopathie nosocomiales à SARM, l'étude de (Pujol et coll, 1998) montre que (63 %) des (347) patients intubés étaient porteurs de SARM dans les voies respiratoire.

La plupart des *Staphylococcus aureus* isolées présentent aussi une résistance importante à la vancomycine, ces souches possèdent sans doute le gène van et dénommé (VRSA) (Cui, Iwamoto et al., 2006).

Cette résistance est due principalement à la prescription trop fréquente de certaines classes d'antibiotiques qui entraîne la pression de sélection par une mono-antibiothérapie (Manhold et al., 1998).

#### II.4.1.2 Niveau de résistance de *Streptococcus sp*

Le tableau ci-dessous montre une résistance presque totale de la souche de *Streptococcus sp* isolée à partir de sécrétion pulmonaire testée vis à vis l'ensemble des antibiotiques qui appartient à la famille des macrolides et aminoside présentés par (E, L, CN), cette souche résiste aussi les antibiotiques appartient à la famille des beta lactamine testés (OX, TCC, CTX); et une sensibilité à la vancomycine (la famille des glycopeptide).

**Tableau 5. La résistance de *Sptertococcus sp* aux différents antibiotiques testés**

Antibiotique testé	RP	L	E	C	RIF	VA	CN	TCC	CTX	OX
niveaux de sensibilité	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R

#### II. 4.2 Résistance des Gram négatifs

##### II. 4.2.1. Niveau et de résistance des souches *Pseudomonas sp*

La majorité des souches étudiées montrent un niveau de résistance élevé vis-à-vis de la famille des beta lactamine (céftazidime, ticarcilline, ticarcilline plus acide clavulanique, l'imipénème, azétreonam), il est important de signaler aussi la résistance à la colistine avec un taux de (100%).



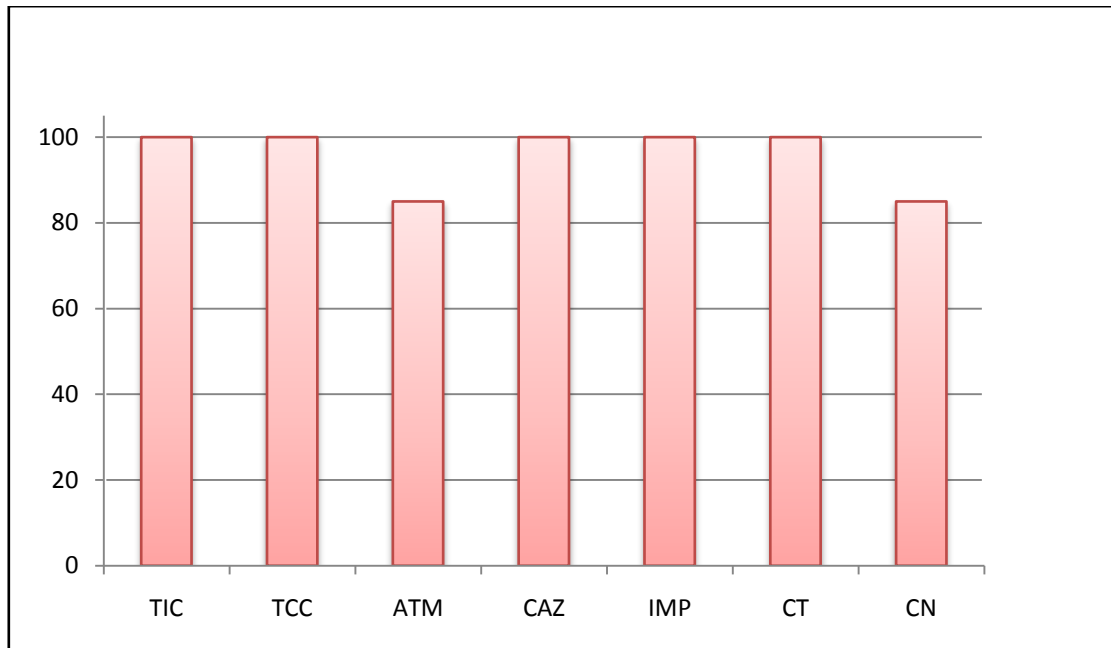


Figure 42. Taux de résistance aux antibiotiques des souches *Pseudomonas sp* isolées

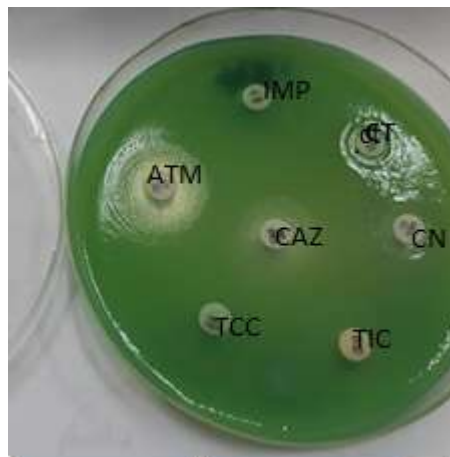


Figure 43. Photo résultat d'antibiogramme de *Pseudomonas sp* isolé à partir d'une sonde d'intubation

*Pseudomonas sp* constitue une cause majeure de mortalité en milieu hospitalier (**Boutiba-Ben Boubaker et al. 2003**). Ce germe est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques.

L'acquisition de nouvelles résistances est facile et rapide pour les *Pseudomonas sp*, favorisée en milieu hospitalier par une forte concentration bactérienne et une pression de sélection par les antibiotiques. Cette résistance acquise peut toucher toutes les molécules y compris l'imipénème (**Boutiba-Ben Boubaker et al., 2003**).

Une étude faite par (Lahsoun *et al.*, 2007) montre que la résistance du *pseudomonas* à L'imipénème a augmenté de manière alarmante ces dernières décennies dans la réanimation

La colistine est un antibiotique complexe comme aucun autre difficile à utiliser. Elle ne doit être utilisée qu'en cas d'absolue nécessité, uniquement après isolement de la souche responsable de l'infection et détermination de la sensibilité *in vitro* confirmant à la fois la résistance aux autres antibiotiques (Cohen, 2010).

#### II. 4.2.2- Niveau de résistance de la souche *Acinetobacter sp*

Les souches étudiées présentent une résistance à certaines antibiotiques de la famille des bêta – lactamines (imipénème, ticarcilline et ticarcilline plus acide clavulanique) tandis que les autres antibiotiques de même classe sont sensibles (aztreoname et céftazidime)

La souche *d'Acinetobacter sp* montre aussi une résistance à l'aminoside présenté par la gentamicine et aussi à la colistine

**Tableau 6. Le taux de résistance de la souche *Acinetobacter sp* isolé**

Antibiotique testé	IMP	CT	TIC	TCC	CN	ATM	CAZ
niveaux de sensibilité	R	R	R	R	s	S	S



**Figure 44. Photo résultat d'antibiogramme d'*Acinetobacter sp* isolé à partir de sécrétion pulmonaire**

Les espèces d'*Acinetobacter* sont des bactéries marquées par leur extrême capacité à acquérir des mécanismes de résistance vis-à-vis de la plupart des nouveaux antibiotiques (Peleg *et al.*, 2008).

Il est essentiellement à l'origine de pneumopathies ou de bactériémies et touche principalement les patients présentant un terrain fragilisé, ayant des dispositifs invasifs et ayant reçu une antibiothérapie (**Towner , 2009**)

La fréquences importantes d'isolement des souches d'*Acinetobacter* sp est liées aux principaux facteurs de risque dans les unités de soins intensifs (la ventilation assistée, l'antibiothérapie à large spectre, la durée de séjour prolongée et le cathétérisme) (**Lahsoun et al., 2007**) ainsi que le non respect des règles d'hygiène (**Boutiba et al., 2003**).

*A.baumannii* pose actuellement un problème émergent de multirésistance aux antibiotiques, notre souche présente une résistance aux plus part des antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (**Naas et al., 2008**).

Leur résistance à l'imipénème est le plus souvent associée à la production de carbapénèmase, L'émergence de cette résistance vis-à-vis à l'imipénème dans notre hôpital peut entraîner un sérieux problème thérapeutique et épidémiologique (**Naas et al., 2008**).

#### **II. 4.2.3 Niveau de résistance des *Entérobactéries***

Les espèces étudiées des Entérobactéries ont présentés un taux élevé de résistance aux bêta-lactamines dont le taux est de (100% et 98% ) pour les pénicillines (AX ,TIC ) malgré la présence des pénicillines avec inhibiteurs avec un taux de (100% ) pour (AMC ) et ( TIM ).

Les Entérobactéries isolés montrent notamment une résistance aux céphalosporines de 2ème générations ( FOX ) avec un taux de (98%) et aux céphalosporines de 3ème générations (CAZ , CTX ) marqués par des taux de (100 % et 98 %).

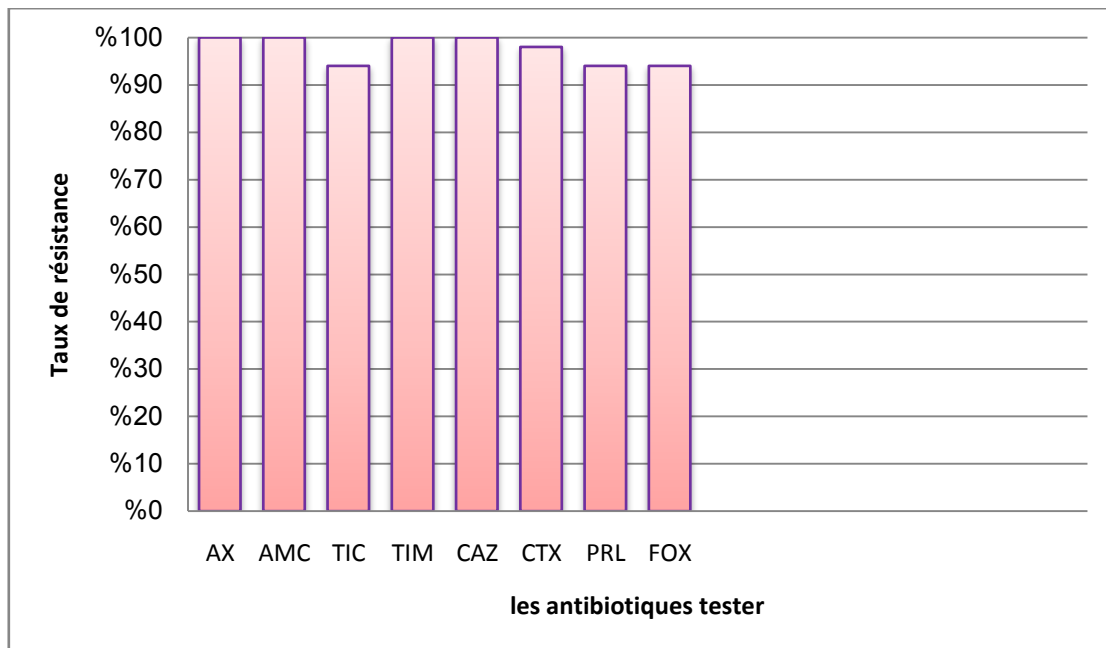


Figure 45. Taux de résistance aux beta- lactamines des souches des Entérobactéries isolées

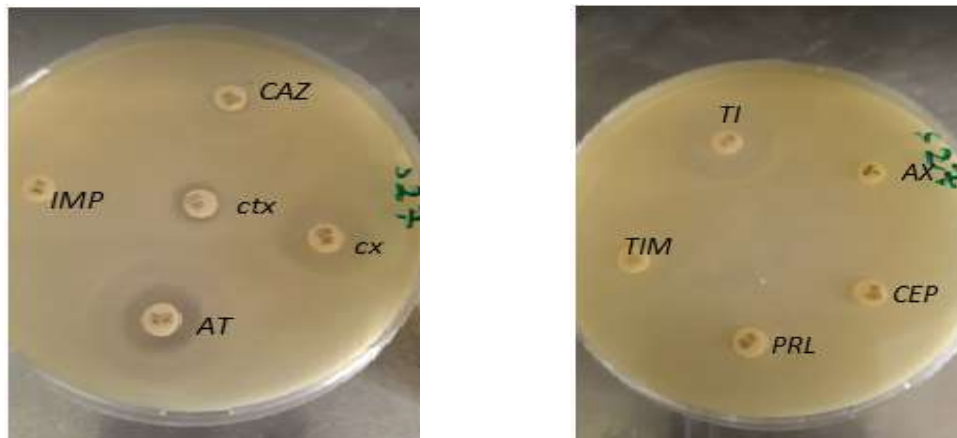
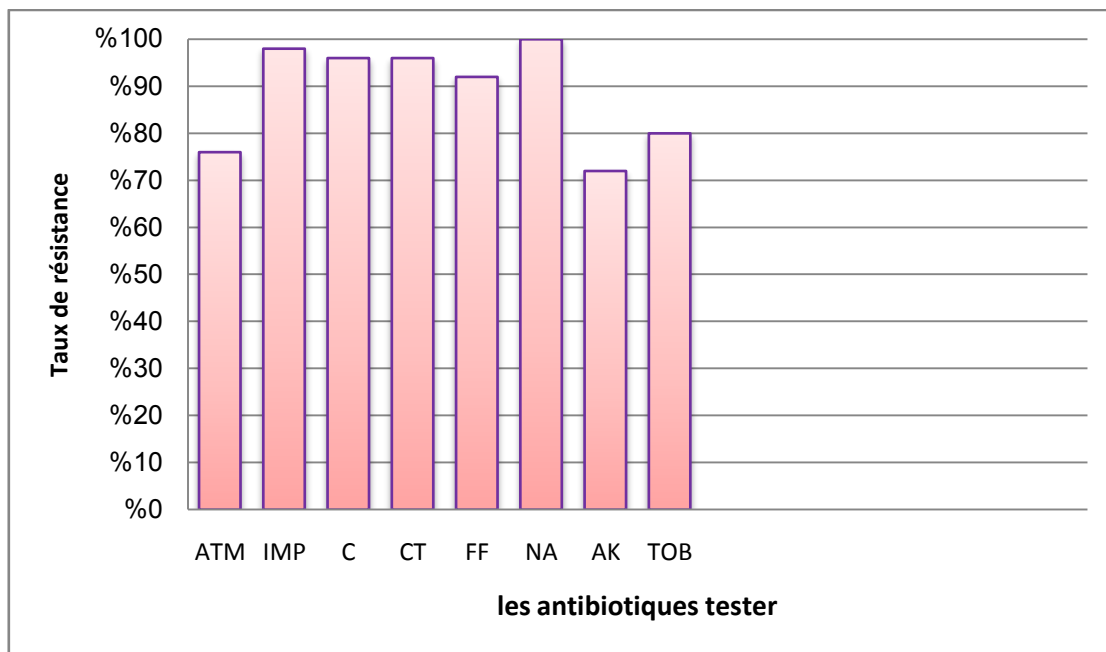


Figure 46. photo résultats de résistance de *klebsiella pneumoniae* isolé à partir d'une sonde d'intubation à différentes antibiotiques des beta- lactamines

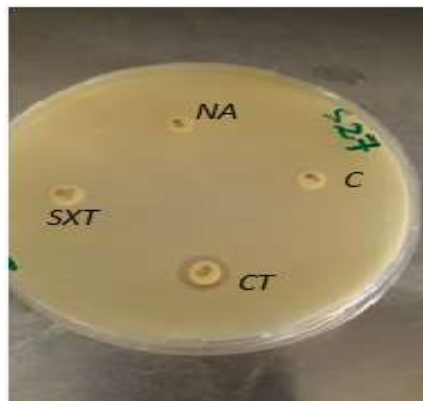
Parmi les (50) souches isolées, nous avons étudié la résistance des (25) souches des Entérobactéries vis-à-vis d'autre classe d'antibiotiques.

l'ensemble des 25 souches testées montrent une résistance aux aminoside ( TOB , AK ) marquée par un taux de ( 80%) et (72 %), à Chloramphénicol (C) ( 96%) , au fosfomycine et colistine par un taux de ( 92%) (96%) et une résistance élevée à la quinolone représenté par

(NA) avec un taux de (100%). La résistance à l'IMP était assez importante dont le pourcentage est de (98 %) et au aztreonam (76 %).



**Figure 47. Taux de résistance aux autres classes d'antibiotiques des souches d'entérobactéries**



**Figure 48. photo résultats de résistance de *klebsiella pneumoniae* isolé à partir d'une sonde d'intubation aux différentes autres classes des antibiotiques.**

Les entérobactéries sont capables de résister à de nombreux antibiotiques grâce au développement de nombreux mécanismes de résistances (Nordmann, 2006).

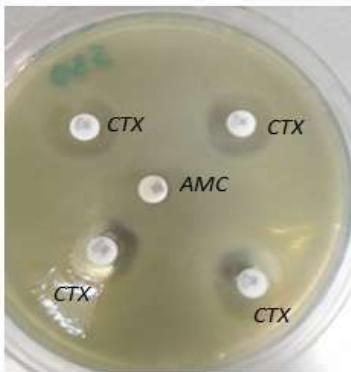
Les souches isolées en plus de leurs résistances aux betalactamines présentés, elles sont toutes résistantes aux carbapinèmes présenté par (IMP), ce même constat a été rapporté dans une étude réalisée par (Touatit et al., 2012)

La totalité des (50) souches isolées sont résistantes aux pénicillines, pénicilline avec inhibiteur et l'ensemble des céphalosporines indique que les souches d'entérobactéries présentent des hauts niveaux de résistances.

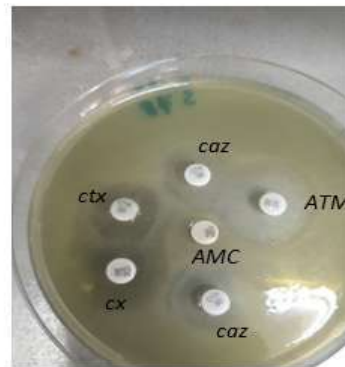
La résistance à l'imipénème et à l'aztreonam de ces souches révèle que ces dernières sont suspectées être des carbapénémases en l'absence d'image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de bêta-lactamase et un disque de (C3G).

#### II. 4.2.3.1- mécanisme de résistance des *Entérobactéries*

##### A. Test de détection de BLSE



**Figure 49. Photo de test d'approche des disques**



**Figure 50. photo de test de synergie**

Les figures(49) montrent une résistance à l'ensemble des antibiotiques testés et l'absence d'images de synergie (bouchon de champagne qui est la clé de confirmation de présence des BLSE) entre (AMC) et C3G (CTX) ce qui indique l'absence de production de BLSE.

Le 2<sup>ème</sup> test (approche des disques) montrer dans la figure (50), les diamètres de zone d'inhibition sont toutes les mêmes autour des disques C3G (CTX) se qui confirme les résultats de premier test.

Dans ce cas et d'après les résultats des antibiogrammes des souches, on suspecte que les bactéries étudiées présente un mécanisme hautement développé qui est la carbapénémase, cette résistance acquise par ces souches dans la réanimation présente un grand danger pour les patients.

Les carbapénèmes sont des  $\beta$ -lactamines possédant un très large spectre anti-bactérien doublé d'une grande stabilité envers la quasi-totalité des  $\beta$ -lactamases. Pour cette raison, ils font partie des antibiotiques utilisés en première ligne au cours du traitement probabiliste des infections nosocomiales sévères (**Queenan et Bush , 2007**).

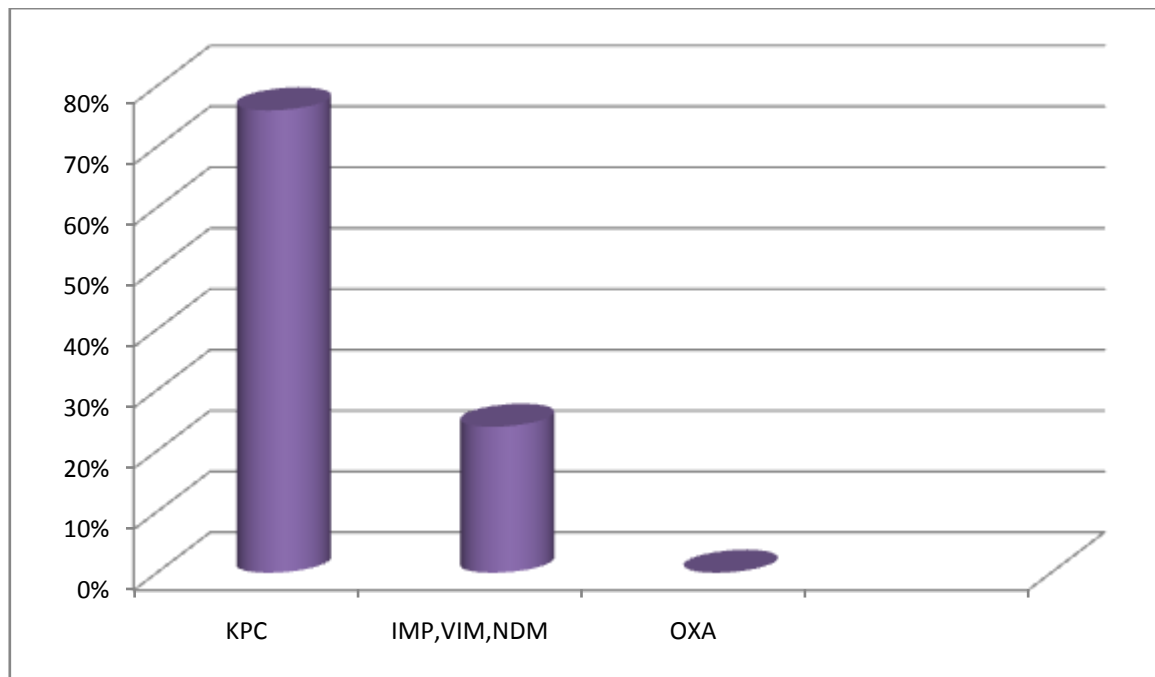
L'émergence et la diffusion de la résistance des entérobactéries aux carbapénèmes constituent désormais un énorme problème de santé publique. Les infections causées par ces bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) sont associées à des échecs thérapeutiques, une lourde mortalité et à des dépenses élevées (**Nordmann , 2009**).

Ces carbapénémases peuvent appartenir aux quatre classes de la classification d'Ambler mais les trois plus importantes actuellement sont regroupées dans les classes A (enzymes de type KPC), B (type IMP/VIM et NDM-1) et D (type OXA) (**Nordmann , 2009**).

### **B. Détection des mécanismes de résistance des Entérobactéries suspectées carbapénèmes (EPC)**

La détection des carbapénémases, est difficile à cause de l'expression de variable enzymes (parfois dans les limites de détection de nos méthodes) nous avons reposé sur une détection minutieuse des résultats du phénotype de résistance déduit de l'antibiogramme obtenu par des méthodes classiques (Méthodes des disques).

La figure (51) montre que (38/50) souches des entérobactéries dont le taux est de (76%) ont été catégorisées dans la classe de KPC alors que (12) souches (24%) classés dans la classe IMP, VIM, NDM.



**Figure 51. Répartition des mécanismes de carbapénèmases chez les Entérobactéries isolées dans le service de réanimation**

parmi les plus importantes classe des carbapénème cliniquement sont, actuellement, les  $\beta$ -lactamases de type KPC , IMP/VIM chez les gram négatifs en réanimation (**Nordmann , 2009**) .

Notre études est de même sens avec l'étude faite par **Bernard-Alex Gaüzère** en **2016** qui dit qu'entre janvier et septembre 2013, 1487 souches suspectes gram négatif dans une unité de soin intensif, la distribution des carbapénèmases identifiées était la suivante : KPC (5,6%) VIM (3,6%), IMP (0,8%) et IMI (0,5%).

Ces mécanismes de résistance sont très importants d'un point de vue clinique car il confère dans la grande majorité des cas à la bactérie une résistance à toutes les bêta-lactamines (**Queenan et Bush , 2007**).

Le danger des bactéries gram négatifs est qu'ils sont résistants à tous les antibiotiques les plus efficaces et que le fait d'être simplement colonisé à EPC (sans infection) est un facteur de risque indépendant de mortalité (**Queenan , Bush , 2007**).

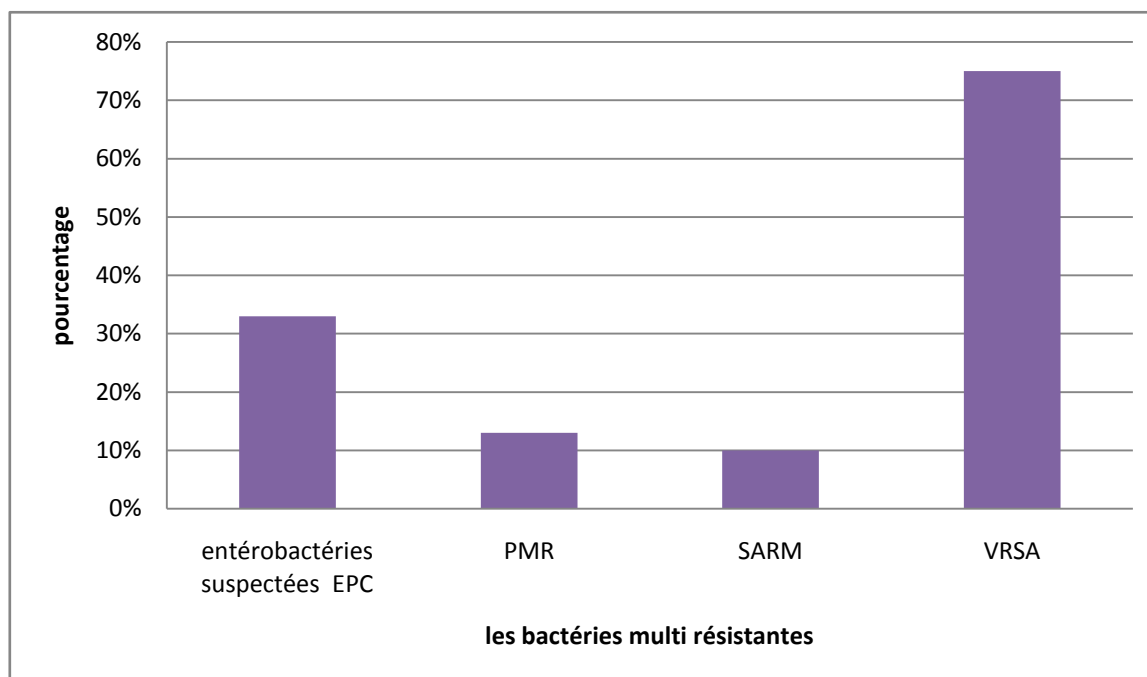
L'un des principaux facteurs expliquant l'augmentation alarmante des épisodes impliquant des bactéries gram négatifs est la pression de sélection exercée par les antibiotiques à large spectre comme les carbapénèmes (**Dautzenberg et al., 2015**).



## II. 5. Bactéries multi résistantes en réanimation

### II. 5.1. Prévalence des BMR isolés dans le service de réanimation

Les souches suspecter EPC (*Entérobactéries* productrices de carbapénèmase ) occupaient la première place avec (33%), PMR(*Pseudomonas* multi résistant ) (13%) puis SARM (*staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ) (10%).



**Figure 52. Prévalence des BMR isolés dans le service de réanimation**

Les BMR sont un problème majeur à l'hôpital, particulièrement dans les Services de réanimation. En effet, elles prolongent la durée de séjour et aggravent le pronostic des malades hospitalisé. La persistance d'une colonisation avec des bactéries multirésistantes (BMR) chez les patients peut jouer un rôle important dans la diffusion de ces bactéries (**Ben Haj Khalifa et al, 2010**).

La propagation des BMR dans le service de réanimation est élevé a cause de : prescription importante d'antibiotiques, procédures invasives, la charge en soins importante (**Ben Haj Khalifa et al, 2010**).

La multi résistance est une étape vers l'impasse thérapeutique. En raison de leur fréquence élevée, de leur potentiel pathogène, de leur caractère commensal, de leur caractère clonal ou

du caractère aisément transférable des mécanismes de résistance impliqués, qui expose au risque de diffusion (**Institut Pasteur, 2009**).

Certaines résistances sont particulièrement importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène. C'est le cas des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et des entérobactéries productrices de carbapénème (**Abed et Essayd , 2015**).

*Pseudomonas* multirésistants posent des problèmes préoccupant dans le service de réanimation en raison de leurs fréquence, leurs dissémination dans ce service , et de leurs résistance important aux antibiotiques ce qui conduit a une épidémiologie à *pseudomonas* dans le service de réanimation.

L'Organisation mondiale de la Santé (**OMS**) a publié en **27 février 2017** sa première liste «d'agents pathogènes prioritaires» résistants aux antibiotiques, énumérant les 12 familles de bactéries les plus menaçantes pour la santé humaine, La liste de l'OMS comporte trois catégories selon l'urgence du besoin de nouveaux antibiotiques: critique, élevée ou moyenne.

Le groupe critique comporte des bactéries multi résistantes qui représentent une menace particulière dans les hôpitaux, ou pour les patients dont les soins imposent d'utiliser des dispositifs comme des respirateurs ou des cathéters sanguins. Ce groupe critique comporte :

- *Acinetobacter baumannii*, résistance aux carbapénèmes
- *Pseudomonas aeruginosa*, résistance aux carbapénèmes
- *Enterobacteriaceae*, résistance aux carbapénèmes,

Le deuxième et le troisième groupe de la liste (les catégories de priorité élevée et moyenne) comportent d'autres bactéries de plus en plus résistantes provoquant des maladies plus courantes. (**OMS, 2017**).

Le deuxième groupe de niveau élevée comporte plusieurs familles dont le quelle *Staphylococcus aureus*, résistance à la méthicilline, résistance intermédiaire ou complète à la vancomycine, alors que le dernier groupe (moyenne) regroupe *Streptococcus pneumoniae* (**OMS, 2017**).

Donc selon l’OMS les souches isolées à partir de service de réanimation Ouargla sont suspecté d’être de niveau critique et élevé.

## II. 5.1.1-Prévalence des BMR isolés dans les prélèvements de l’environnement et les dispositifs médicaux

### II. 5.1.1.1. Prévalence des BMR isolés dans les prélèvements de l’environnement

A partir de (15) malades et (30) prélèvements de l’environnement, la répartition des BMR dans l’environnement qui est montrée dans la figure (52) est comme suit : (10) souches de BMR à partir de l’air, (7) et (4) pour les personnels et lavabo, et seulement (3) et (2) BMR pour les prélèvements à partir des draps et murs.

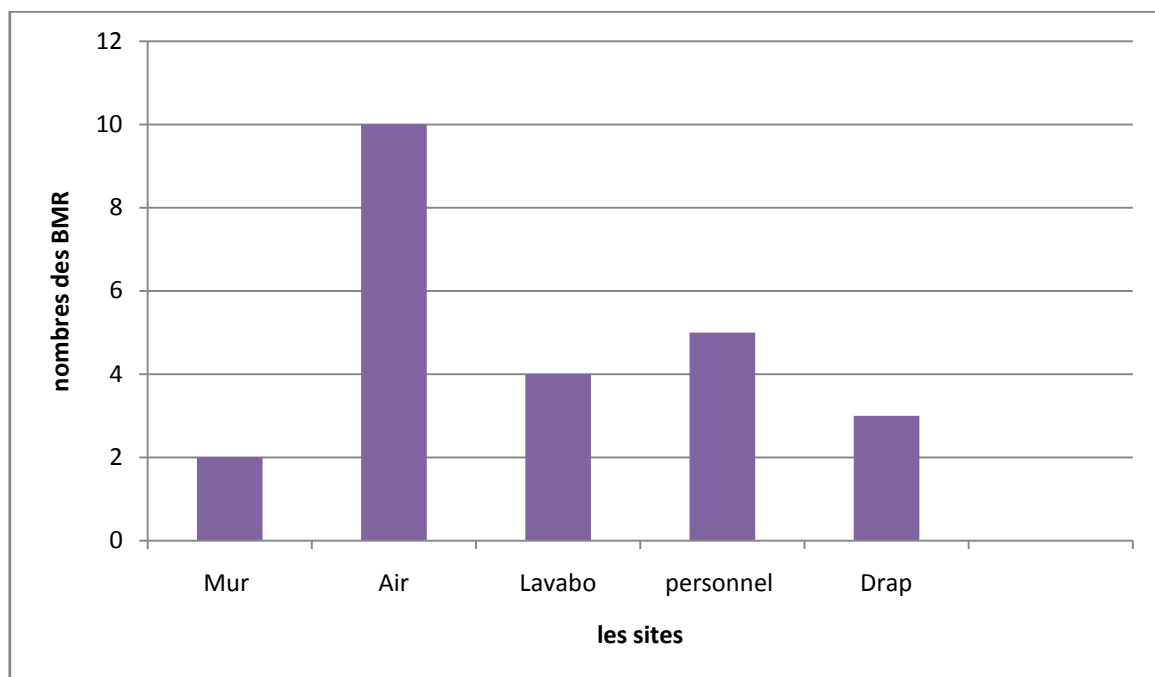
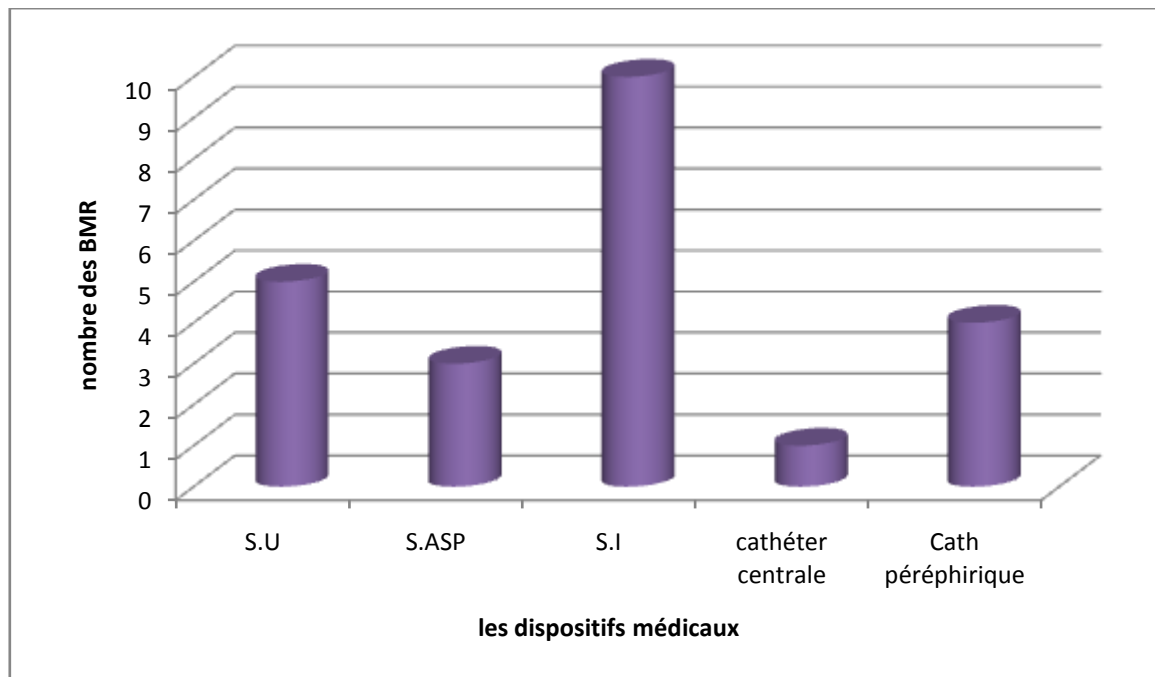


Figure 53. le taux de contamination des différents sites de l’environnement par les BMR

### II.5.1.1.2. Prévalence des BMR isolés dans les prélèvements des dispositifs médicaux

Le nombre des BMR est plus élevé dans les prélèvements à partir des sondes d’intubation avec un nombre de (10), suivi par prélèvements à partir des sonde urinaire, cathéter périphériques et sonde d’aspiration dont le nombre est de (5), (4), (3), et seulement une BMR dans le prélèvement à partir de cathéter centrale.



**Figure 54. Prévalence des BMR isolés à partir des dispositifs médicaux.**

On regroupe habituellement sous terme environnement hospitalier les éléments suivants : air, eau, surface, linge, aliments, dispositifs, déchets, qui sont susceptibles en contacte avec les patients, les visiteurs et le personnel d'une structure d'hospitalisation (**Alain, 2004**).

La réanimation prend en charge des patients avec des pathologies extrêmement sévères qui sont soumis à un traitement aux antibiotiques qui modifient leur flore. L'environnement proche de ces malades colonisé et/ou infectés est souvent contaminé (**Alain, 2004**).

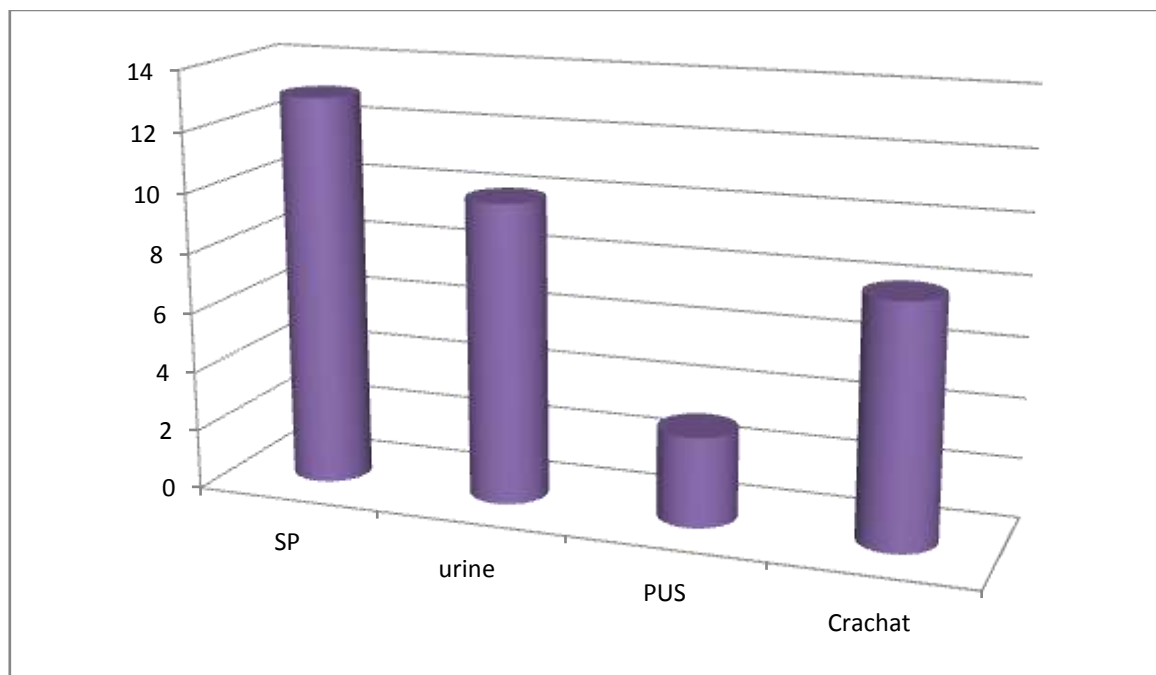
L'air, les surfaces et les objets sont naturellement contaminés par des germes de contamination. A l'hôpital ou dans une structure de soins, le danger vient de ce que les microorganismes qui nous entourent trouvent des conditions favorables à leur développement en quantité tout en devant de plus en plus résistants (**Hugard , 2003**). Cette contamination environnemental est très variable qualitativement et quantitativement d'un établissement à l'autre et au sein d'un même établissement en fonction des services des patients (sain, colonisés, infectés), de soins et des technique pratique (**Vesley et Streifel, 1996**).

L'environnement représente aussi une source de germes. L'air, l'alimentation contiennent des germes qui ne sont dangereux dans les conditions normales mais peuvent provoquer des infections chez les patients fragiles. La contamination exogène peut s'agir d'un malade à l'autre par les mains ou les dispositifs médicaux (**Hugard , 2003**).

L'augmentation de la fréquence et la durée d'exposition à un dispositif invasif, quelque soit sa nature expose d'avantage les patients au risques des infections au BMR en réanimation (Hugard , 2003).

### II.5.1.2-Prévalence des BMR isolés à partir des liquides pathologiques

Selon la figure(55) le nombre plus élevé (13) des BMR est retrouvé dans les prélèvements à partir des sécrétions pulmonaires, suivi par (10) BMR dans les prélèvements des urines, puis (8) BMR dans les prélèvements à partir de crachats, et (3) BMR dans les prélèvements des pus.



**Figure 55. Prévalence des BMR isolés à partir des liquides pathologiques**

Le patient constitue la plus importante source de germes. C'est bien normal car l'être humaine est porteur d'un grand nombre des germes, en réanimation même les germes banale peuvent causer des maladies dangereuses du fait d'une fragilité particulière des malades ou d'un traitement d'antibiotique incontrôlé qui augmente la résistance de ces germes (Hugard , 2003)

# *Conclusion*

## **Conclusion**

Les BMR constituent un problème majeur de santé publique, car elles sont responsables d'une morbi-mortalité importante avec un surcoût considérable.

Au terme des deux mois d'études, nous avons pu isoler un total de (143) souches bactériennes. Les résultats de l'identification ont révélé que la fréquence des bactéries isolées à partir des divers prélèvements (l'environnement, malade, dispositifs médicaux) est dominée par les *Staphylocoques* avec (39%), suivie des *Entérobactéries* avec (34%) et des *Pseudomonas* avec (14%).

La technique de diffusion en gélose utilisée pour l'étude de la résistance de ces souches a montré que toutes les souches étudiées présentent une résistance importante vis-à-vis de presque la totalité des classes d'antibiotiques comme les beta-lactamines (pénicilline , céphalosporine , carbapénème ,) , les glycopeptides (vancomycine) , macrolides ( Erythromycine ) et les aminosides ( Gentamycine).

Les souches *E. coli*, *Klebsiella Spp* et *Enterobacter Spp* sont fortement résistantes aux beta lactamines (céphalosporine, carbapénème ) avec (96%) , aux aminosides (60%) et au Chloramphénicol (C) ( 96%) .

(95%) des *Staphylococcus aureus* résistaient à la l'oxacilline et (65% ) pour la vancomycine.

La pression de sélection exercée par l'usage abusif des antibiotiques à large spectre est à l'origine de l'émergence préoccupante de ces souches. En plus de l'antibiothérapie, les procédures invasives (pose de sonde, intubation, ventilation artificielle, intervention chirurgicale) sont d'importants éléments à considérer.

(56%) de souches sont qualifiées de multi résistante isolées à partir des différents prélèvements (environnement, dispositifs médicaux, liquides pathologiques).

Elles présentaient une particularité remarquable puisque elles avaient résisté à toutes les classes d'antibiotiques testés. Ces cas doivent être signalés pour permettre ainsi aux équipes soignantes de les prendre en charge dans les meilleures conditions et d'éviter la transmission nosocomiale de ces germes qui représente une véritable menace pour la santé publique.

La lutte contre les BMR est fondamentale c'est une priorité national qui implique tous les professionnels de santé. Pour cela il est important d'impliqué les moyens de prévention qui sont comme suites :

- Application des mesures d'hygiène habituelles.
- Renforcement de réseau ville/hôpital (par la réalisation d'une fiche d'information sur les BMR destinée au médecin)
- limité la diffusion des BMR en renforçant .l'information et la formation des médecins généralistes au sujet des BMR .
- Diminuer la pression de sélection: par la proposition des protocoles d'antibiothérapie pour le médecin

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

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



*Références  
bibliographiques*

**Références bibliographiques**

1. **Abed N, Essayd M. (2015).** Profil de résistance des bactéries à Gram positif et à Gram négatif isolées au niveau du CHU de Constantine, *Ecologie Microbienne, Université des frères Mentouri Constantine* P : 21-22.
2. **Moroh J-L Aboya. (2013).** Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. *Agricultural sciences. Université de Bretagne occidentale – Brest. Université Félix Houphouët- Boigny. French.*
3. **Alain R. (2004).** *Hygiène et soins infirmiers. Paris. P : 185.*
4. **Alfandari A. (2003).** Prévention des infections urinaires nosocomiales : effets de l'infection urinaire nosocomiale sur la durée de séjour, le coût et la mortalité. *Médecine et maladies infectieuses. P: 247.*
5. **Aljohi AA, Hassan HE, Gupta RK. (2016).** The efficacy of noble metal alloy urinary catheters in reducing catheter-associated urinary tract infection. P: 423-9.
6. **Babic M, Hujer AM, Bonomo RA. (2006).** What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. *Drug Resist Updat. P: 142-145.*
7. **Ben Haj Khalifa et al. (Avril 2010).** Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uropathogènes à l'hôpital universitaire Tahar Sfar De Mehdia. *Revue Tunisienne d'Infectiologie .Vol.4 . N°2. P : 60.*
8. **Bergogne E, Dellamonie P. (1995).** *Antibiothérapie en pratique clinique. Edition Masson. P: 34 – 35.*
9. **Bert F, Labert ZN. (2000).** *Pseudomonas aeruginosa : actualités sur la résistance aux bêta-lactamines et implication thérapeutique. P:195-201.*
10. **Blanchéte JP. (2009).** Règles de la consultation gynécologique. *Journal de gynécologie obstétrique de la reproduction. P : 263-268.*
11. **Boutiba-Ben Boubaker I, Boukadida J, Triki O, Hannachi N, Ben Redjeb S. (2003).** Épidémie d'infections urinaires nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant aux antibiotiques. *Pathologie Biologie. P: 147-150.*
12. **Brigitte Brelière, Martine Cerrato, Annie Martinez, Virginie Romoli. (2009).** *Microbiologie et les savoirs en situation. p: 28 .*
13. **Brun-Buisson C. (2005).** Risques et maîtrise des infections nosocomiales en réanimation: texte d'orientation SRLF/SFAR. *Réanimation P : 463–471.*
14. **C.clin Paris-Nord. (2001) .**le cathétérisme veineux, guide de bonnes pratiques *Recommandations pour l'élaboration de protocoles de soins sur les voies*

- veineuses.. Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'Interrégional Paris – Nord.
15. **Calgagno F, Lacroix R. (2011).** Pharma-memo Infectiologie. Paris. Editions Vernazobres-Greco. p : 246.
  16. **Canu A, Beter F. (2001).** La préparation sur pharmacie : microbiologie-immunologie. Paris.
  17. **Braudy Chantal, Brezellec Huguette. (2006).**Microbiologie-immunologie. P : 54.
  18. **Chenika Sarah. (2013).** Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non Fermentaires isolés dans le service de Neurochirurgie du CUH de Tlemcen. Mémoire de Master, Microbiologie. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen. P : 60.
  19. **Chevrolet JC, et al. (1997).** Prévention des infections à bactéries multi résistantes en réanimation : en dehors des modalités d'optimisation de l'antibiotique. Réanimation urgence. P : 167-173.
  20. **Cohen R. (2010)** .Colimycine : un vieil antibiotique qu'il faut apprendre à connaître. Archives de Pédiatrie. P : 171.
  21. **Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN et Al. (2003).** Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. P:36.
  22. **Cui L, Iwamoto A, Lian JQ, et al. (2006)** . Novel mechanism of antibiotic resistance originating in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. P : 38.
  23. **Delarras c. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Paris. Edition Tec and Doc.
  24. **Edouard PF, et al. (2006).** The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. Clin Infect Dis P: 692-699.
  25. **Espinasse F, Page B, Cottard-Boulle B. (2010).** Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. P : 51- 63.
  26. **Fauchere L, Avril j. (2002).** **Microbiologie général et médicale.** Edition ellipses. Paris. P : 141-319.
  27. **Figarella J, Leyral G, Terret M. (2007).** Microbiologie générale et appliquée. P : 103.
  28. **Floret N, Bertrand X, Thouverez M, Talon D. (2009).** Infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* : origine exogène ou endogène de la bactérie responsable ? Pathologie Biologie. P : 9-11.

29. **Francois B, Michel W. (2010).** Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*. P: 960- 968.
30. **Garbe PL, et al. (1985).** *Staphylococcus aureus* isolates from patient with non-menstrual toxic shock syndrome. Evidence for additional toxine. *JAMA*. P: 2538-2542.
31. **Guzlane Tebibel N, Kahlouche B, Athmani Guemouri S. (2011).** *Microbiologie*. p : 115.
32. **Haskouri S. (2002).** Résistance aux antibiotiques : mécanismes et évolution. Thèse doctorat en pharmacie. Rabat : université mohammed V faculté de médecine et de pharmacie de rabat. P : 104.
33. **Henriet L, Guillemot D. (2000).** Pharmaco-épidémiologie des résistances, consommation des antibiotiques : Médecine et Maladies Infectieuses. P : 160-163.
34. **Hisata K, Kuwahara-Arai K, Yamamoto M, et al. (2005).** Dissemination of methicillin-resistant staphylococci among healthy Japanese children. *J Clin Microbiol*. P : 3364-3372.
35. **Hugarard L. (2003).** Hygiène et soins infirmière. France, P : 153.
36. **Ibelings MM, Bruining HA. (1998) .** Methicillin-resistant *staphylococcus aureus* : Acquisition and risk of death in patients in the intensive care unit. P : 411.
37. **Jaisson-Hot C, Haond ME, Reverdy B. (2000).** Infections nosocomiales en réanimation. Trois années de surveillance portant sur 815 patients de réanimation chirurgicale. P : 520.
38. **Jean Pierre Flandroin. (1997).** Bactériologie médicale. P : 288-291.
39. **Julioaires. (2011).** Les systèmes d'efflux actifs bactériens : caractérisation et modélisation pour quelles perspectives ? France. P: 265-270.
40. **Köhler T, Rechere JC, Plesiat P. (1997).** L'efflux actif : un phénomène de résistance inquiétant. *La presse médicale*. P : 173-177.
41. **Lahsoune M, Boutayeb H, Zerouafi K, Betabbes H, El Mdaghri N. (2007).** Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii* dans un CHU marocain. *Médecine et maladies infectieuses*. P: 828-831.
42. **Lepelletier D. (2006).** *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : incidence, facteurs de risque de colonisation et intérêt du dépistage systématique en unité de soins intensif et réanimation. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. P : 626-632.

43. **Les infections liées aux soins. (2002).** Actualités et Dossiers en Santé Publique. La Documentation Française. Edition: Carlet J. P : 23–70
44. **Stuart Levy B, Bonnie Marshall . (2004).** Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. P: 122-125.
45. **Lozniewski A, Rabaud C. (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins. CCLIN Sud-est. P: 1-4.
46. **Marco L. (2007).** Revue scientifique semestrielle, Management de la santé, nouvelles perspectives, histoire et sciences de gestion. Editions l’Harmattan P : 15-16.
47. **Martine BL, Henry B. (1997).** Infections urinaires nosocomiales. **Progrès en Urologie P : 674-682.**
48. **Merrer J, Carbonne A. (2010).** Recommandations nationales pour la prévention de la transmission croisée : quoi de neuf pour la pratique quotidienne en réanimation ? Réanimation. P : 361-365.
49. **Minchella A, Molinari L, Alonso S , Bouziges N, Sotto A, Lavigne JP.(2010).** Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. P : 1-6.
50. **Muylaert A, Mainil JG. (2012).** Résistance bactérienne aux antibiotiques: les mécanismes et leur contagiosité. P109.
51. **Naas T, Fortineau N, Nordmann P. (2008).** Diffusion d’*Acinetobacter baumannii* multi résistant dans les établissements de sante : situation actuelle en France et mesures de contrôle. Hygiène .P: 481-491.
52. **Nasiriani K, al. (2016).** The Effect of Brushing with a Soft Toothbrush and Distilled Water on the Incidence of Ventilator-Associated Pneumonia in the Intensive Care Unit. Tanaffos P: 101-107.
53. **Nordmann P, Poirel L, Rodriguez-Martinez JM, Plésiat P. (2009).** Naturally Occurring Class A  $\beta$ -Lactamases from the *Burkholderia cepacia* Complex.P : 876–882.
54. **Patwardhan RB, Dhakephalkar PK, Niphadkar KB, et al. (2008).** A study on nosocomial pathogens in ICU with special reference to multirésistant *Acinetobacter baumannii* harbouring multiple plasmids. P:178.
55. **Paul H, Roy. (1997).** Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique à l’oeuvre chez les bactéries. Médecine sciences. P: 927-933.

56. **Paul Tulkens, Françoise Van Bambeke. (2008).** Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse : Antibiotiques. Antifongiques. P : 120.
57. **Pavese P. (2003).** Infections urinaires nosocomiales : définition, diagnostic, physiopathologie, prévention, traitement. Médecine et maladies infectieuses. P : 274.
58. **Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. (2008).** Acinetobacter baumannii : emergence of a successful pathogen. Clin. Microbiol. Rev. P: 538-582.
59. **Charbonneau Pierre, Wolff Miche. (2013).** Infectiologie en réanimation. P : 55-56.
60. **Cohat Pierre. (2010).** Réanimation pédiatrique. Edition Doin P : 288-291.
61. **Ploy MC, Lambert T, Gassama A, Denis F. (2000).** Place des intégrons dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques. P : 439-442.
62. **Poirel L, Nordmann P. (2006).** Résistance aux  $\beta$ -lactamines chez Acinetobacter baumannii : évolution et émergence de nouveaux mécanismes. P: 100-107.
63. **Quincampoix JC, Mainardi JL. (2001).** Mécanisme de résistance des cocci à Gram positif service de microbiologie clinique. France. Réanimation. P : 267-275.
64. **Rahal JJ, et al. (1998).** Class restriction of cephalosporine use to control total cephalosporin resistance in nosocomial Klebsiella. JAMA. P: 1233-1235.
65. **Réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques AARN. 16<sup>ème</sup> rapport d'évaluation. (2015).**
66. **Ricard J-D. (2007).** Prévention des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique comment l'améliorer ? Réanimation. P : 249-252.
67. **Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP, and the National Nosocomial Surveillance System. (1999).** Nosocomial infections in medical intensive care unit in the United States. P: 887- 892.
68. **Robert J. (2007).** Conduite à tenir devant un malade porteur d'un entérocoque résistant à la vancomycine. P: 259–262.
69. **Ronald N, Jones MD. (2001).** Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the past few years. P: 397-404.
70. **Société française d'anesthésie et de réanimation (SFAR), Société de réanimation de langue française (SRLF). (2009).** Prévention des infections nosocomiales en réanimation (transmission croisée et nouveau-né exclus). P : 912–918.

71. **Société française d'hygiène hospitalière, surveiller et prévenir les infections associées aux soins. France. (2010).**
72. **Stamm WE. (1991).** Catheter associated urinary tract infections: epidemiology, pathogenesis and prevention. P: 865-871.
73. **Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France Réseau BMR-Raisin.( 2013).**
74. **Sylvie C. (2009).** Art : La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important!
75. **Tankouic J. (2002).** Intoxication non médicamenteuses. Paris. P : 425-429.
76. **TouatiM, DIENE SM, RACHERACHE A, DEKHIL M, DJAHOUDI A, ROLAIN JM. (2012) .** Emergence of *bla*OXA-23 and *bla*OXA-58 carbapenemase-encoding genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from University Hospital of Annaba, Algeria. P : 89–91.
77. **Towner KJ.(2009).** Acinetobacter: an old friend, but a new enemy. J. Hosp. Infect. P: 355-363.
78. **Vesley D, Streiff A.(1996).** Environnemental service. In May- hallc. Hospital epidemiology and infection control Williams & Wilkins. Baltimore. P: 818-823.
79. **Vincent C. (2004).** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. Pathologie Biologie. P : 607–610.
80. **Vincent C. (2008).** Les nouvelles bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). Pathologie infectieuse enréanimation. P: 203-205.
81. **Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM et al. (1995).** The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. JAMA. P:639-644.
82. **Vincent.J. (2000).** Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux française :bilan et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du Réseau d'Alerte d'Investigation et de surveillance des Infection Nosocomiales (RAISIN).
83. **Vodovar D, Marcadé G, Raskine L, et al. (2013).** Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectreélargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. Médecine interne. P: 687-693.
84. **Weiss K. (2002).** La résistance bactérienne la nouvelle guerre froide :le médecin du québec. P : 41-49.

85. **Yala D, Merad AS, Mohamdi D, et al. (2001).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb.
86. **Zahar JR, Manzer MF, A.Koratch. (2012).** L'isolement en réanimation: intérêt, limites, perspectives. Réa. P: 494-500
87. **Vicca AF. (1999).** Nursing staff workload as a determinant of methicillin-resistant
88. **Staphylococcus aureus spread in an adult intensive therapy unit. J Hosp Infect 43.P:113**
89. **Nouri. M, Ziadi.C. (2015).** étude bactériologique et résistance aux antibiotique de klebsiella pneumonie.Génétiquemoléculaire, université des frère mentouri Constantine. P : 4
90. **Auboyer C. (2003).** Infections urinaires en réanimation : diagnostic et traitement Méd. Mal Infect P : 474–482.
91. **Sanders P. (2005).** L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France. P: 137.
92. **Pascal A. (2002).** Agnès L. La mortalité attribuable aux infections hospitalières. Que sont les infections liéesaux soins ?. P :27-29.
93. **Khiev B, Veber. B. (2010).** Patient BMR + : risques de contamination et prévention en pré hospitalier et aux urgences. 52e congrès national d'anesthésie et de réanimation. Infirmiers. Infirmier(e)s d'urgence.
94. **TULKENS PAUL, VAN BAMBEKE FRANÇOISE. (2008).** Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse : Antibiotiques. Antifongiques.
95. **Flandrois,J.C, Courco, L, Lemeland, J.F, Ramuc, M, Sirot, J, et Souny C.J. (1997).**
96. **Bactériologie médicale. Pesses Universitaire de Lyon. ISBN : 2729705678.**
97. **Lavigne J-P. (2007).** Effet des antibioques et mécanismes de résistance. Cours de bactériologie. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes
98. **Rahal K(2013).** Les antibiotiques .Office des publications universitaires. P : 165
99. **Merrer J. (2005).** **Épidémiologie des infections liées aux cathéters en réanimation. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation P:278–281.**
100. **Carlet J. (2002).** Les infections liées aux soins. Editor : Actualités et Dossiers en Santé Publique. La Documentation Française. p. 23–26.
101. **Bleichner G, Beaucaire G, Gottot S. (1994).** Infections liées aux cathéters veineux centraux en réanimation. XII<sup>e</sup> conférence de consensus en réanimation et médecine d'urgence. P : 321-330.
102. **Mimoz O. (2001).**infection urinaire en réanimation; Département d'Anesthésie et de Réanimation Chirurgicale; Centre Hospitalo-universitaire la Milétrie, p:496.)
103. **Florence E, Bernard P, Brigitte C .B. (2010).**Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs ; Revue Francophone des Laboratoires - n°426
104. **Haond C, Tissot G-F, Allaouchiche B. (1996).** Infections nosocomiales en réanimation. Une année de surveillance portant sur 248 patients de réanimation chirurgicale.Méd Mal Infect.
105. **Horan T C, Gaynes R P, Martowe WJ ET al. (1992).**Definitions for nosocomial surgical sites infections. A modification of CDC definitions of surgical wound infections. Infect control hosp epidemiol.P: 115.
106. **Reiffel AJ, Barie PS, Spector JA. (2013).** A Multi-Disciplinary Review of the Potential Association between Closed-Suction Drains and Surgical Site Infection. Surg Infect. P:244-
107. **R. Oubaassine. (2008).** Les infections nosocomiales en réanimation, p : 185



108. **Beaudreuil S, Hebibi H, Charpentier B. (2008).** Les infections graves chez les patients en dialyse péritonéale et en hémodialyse chronique conventionnelle : péritonites et infections de la voie d'abord vasculaire. *Réanimation*. 17: 233-241.
109. **Saïdani M, Boutiba I, Ghozzi R, Kammoun A, Ben Redjeb S . (2006).** Profil bactériologique des bactériémies à germes multi résistants à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis. 36.
110. **McGowan John E. (2006).** Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: Multidrug resistance to the maximum. *The American Journal of Medicine*. 119:S29—S36.
111. **Wolfgang Matthew C, Kulasekara Bridget R..(2003).** Conservation of genome content and virulence determinants among clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*.
112. **Pujol M, Corbella X, Pena C, Pallares R, Dorca J, Verdaguer R, DiazPrieto A, Ariza J, Gudiol F. (1998).** Clinical and epidemiological findings in mechanically-ventilated patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pneumonia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 17 : 622-8.
113. **Manhold C, Von Rolbicki U, Brase R, Timm J, Von Pritzbuier E, Heimesaat M, Kljucar S . (1998).** Outbreaks of *staphylococcus aureus* infections during treatment of late onset pneumonia with ciprofloxacin in a prospective, randomized study. *Intensive Care Med* ; 24 : 1327-30.
114. **Queenan AM, Bush K. Carbapenemases. (2007).** the versatile  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol* .20 : 440-58.
115. **Bernard-Alex Gaüzère. (2016).** Pathologies infectieuses émergentes Actualités.
116. **Organisation mondiale de la santé. (2017).**
117. **Rahal, K., Belouni, R., and Benslimani, A. 2005.** Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. *Rec de L'OMS*. 4ème édition. Algérie. 46-52.
118. **Larpent JP, larpent MG.(1990).** Mémento technique de microbiologie . seconde édition . technique et documentaire lavoisier .

**Web références :**

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

**MEDQUAL. 2012.** Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. [En ligne]. Disponible sur <http://www.medqual.fr/pro/Marie/RESSOURCES%20ET%20INFORMATIONS/2-THERA/Antibiotique%20Resistance/824-MECANISME-R-ATB-2012.pdf>) consulté a 23/03/2018.

# *Annexes*

## **Annexes**

### **Annexe 1: Milieux de culture**

#### **1. Milieu de Chapman**

La formule théorique de ce milieu de culture en g/L d'eau purifiée est :

Extrait de viande (bovin ou porcin).....	1g
Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin).....	10g
Chlorure de sodium.....	75g
Mannitol.....	10g
Agar.....	15g
Rouge de phénol.....	0,025g

pH=7,6

**Préparation :** 111g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

#### **2. Milieu Hektoen**

Protease-peptone.....	12,0g
Extrait de levure.....	3,0g
Lactose.....	12,0g
Saccharose.....	12,0g
Salicin.....	2,0g
Citrate de fer III et d'ammonium.....	1,5g
Sels biliaire.....	9,0g
Fuschine acide.....	0,1g
Bleu de bromothymole.....	0,065g

Chlorure de sodium.....	5,0g
Thiosulfate de sodium.....	5,0g
Agar.....	13,0g
pH = 7.5	

### **3. Gélose au Sang**

Polypeptone .....	17,0g
Peptone pancréatique de coeur .....	3,0g
Extrait autolytique de levure.....	3,0g
Amidon de ma s .....	1,0g
Chlorure de sodium.....	5,0g
Agar agar bactériologique.....	13,5g
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,3 0,2.	

**Préparation :** 42.5g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20 min. le sang est ajouté stérilement dans le milieu stérile en surfusion.

### **4. Gélose Mueller-Hinton**

Infusion de viande de boeuf.....	300ml
Peptone de caséine.....	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar.....	10.0g
pH= 7.4	

**Préparation :** 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 116°C, 15min.

**5. Gélose nutritive**

Peptone.....	10.0g
Extrait de viande.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	10.0g
pH=7.3	

**Préparation :** prêt à l'emploi en petits tubes fins.

**6. Bouillon coeur-cervele (BHIB) :**

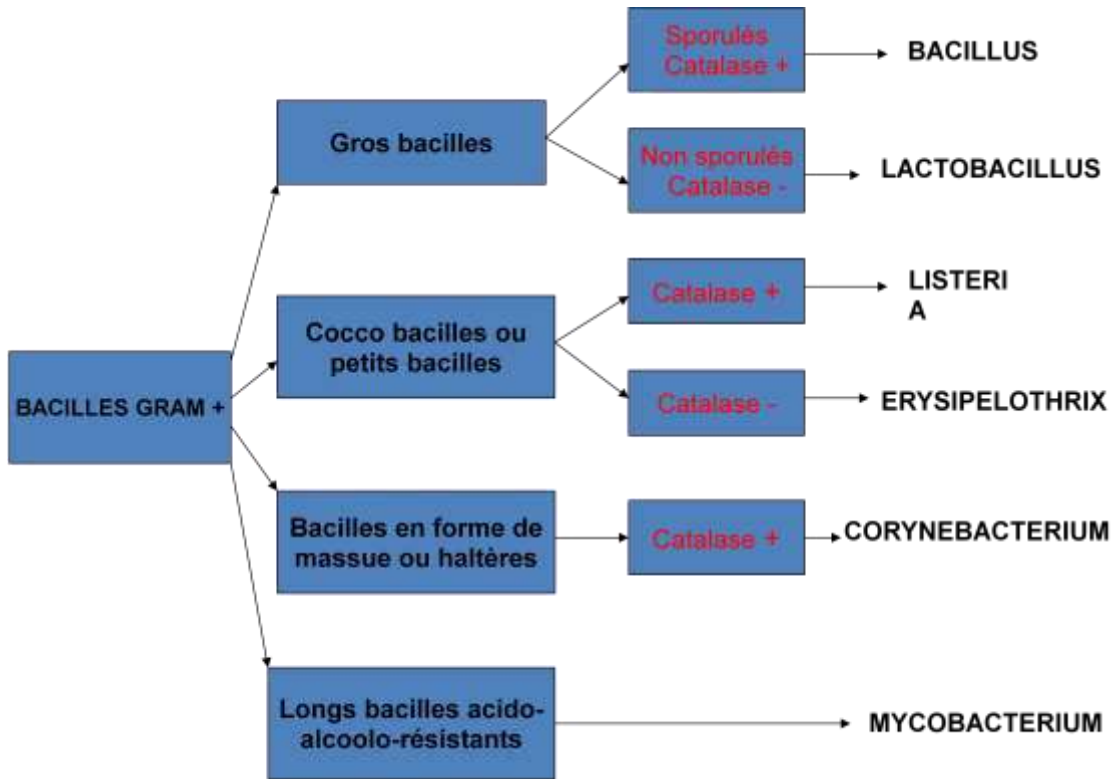
Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de coeur de boeuf.....	5.0g
Peptone.....	10.0g
Glucose.....	2.0g
Chlorure de sodium.....	2.0g
Phosphatase di sodique.....	5g
pH= 7.4	

**Préparation :** 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min.

**7. Bouillon nutritif**

Tryptone .....	10,0 g
Extrait de viande.....	5,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 0,2.	

Annexe 2 : Identification des Gram positifs



Annexe 3 : Identification des entérobactéries

	ESCHERICHIA COI	CITROBACTER	ENTEROBACTER	KLEBSIELLA	SERRATIA	SALMONELLA	SHIGELLA	PROTEUS	PROVIDENCIA	YERSINIA
GLUCOSE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LACTOSE	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
INDOLE	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP (ACETOÏNE)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+ *
CITRATE	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
MOBILITÉ	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+ *
URÉE	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
PDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H <sub>2</sub> S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

Annexe 4 : Enquête de la qualité de désinfection et d'asepsie

Enquête sur la qualité désinfection et d'asepsie :

Questionnaire :

- 1- Concordance entre la formation théorique et la pratique à l'hôpital : Oui  Non
- 2- La cause : Matériel insuffisante   
Pression de travail   
Omissions
- 3- Lavage des mains : Avant et après chaque geste   
A la prise et à la fin de service
- 4- La réfection du lit de malade : Quotidiennement   
Jour par jour   
Si nécessaire
- 5- Transport des literies pour le nettoyage : Se fait ensemble  Trie
- 6- Toilette journalier : Le matin  Chaque jours  Si nécessaire
- 7- Le responsable de toilette journalière: L'infirmier  Le garde malade  Lui-même
- 8- Le nettoyage des vêtements du malade : Lui-même  Sa famille  Agent de



9- La méthode de nettoyage locaux et des salles : Oui  Non

10- Le produit utilisé pour le nettoyage des locaux et des salles :

L'eau de javel  Eau de javel et savon  Antiseptique

11- L'évacuation des déchets hospitaliers hygiéniquement : Oui  Non

12- Le serveur des repas du malade : Serveur spécialisé

L'infirmier

Agent de service

13- La protection de repas contre l'infection : Oui  Non

14- Les désinfections, La stérilisation et le tirage du matériel : Rigoureuse

Retard

A la fin de tous les soins

15- La désinfection du service une fois par : Semaine

Mois

Si nécessaire

16- Les renseignements sur l'hygiène : Sous forme de module

Pendant le stage

Autre

**Annexe 5 : Fiche recueillies**

**Code :**

**Date d'hospitalisation :**

**Date de sortie:**

**Décès : oui ou non**

**Motif d'hospitalisation :**

**Age :**

**Sexe :**

**Mode d'admission (direct / mutation / transfert)**

**Hospitalisation dans les mois précédents :**

**Les antécédents (diabète, maladie cardiovasculaire, cancer, immunodépressions, dialyse ....) :**

**Chirurgie antérieure :**

**Dispositif invasif :**

**Antibiothérapie préalable :**

**Antibiothérapie administrés :**

**date de début :**

**Durée de séjour :**

**Prélèvement (type) :**

**Date d'isolement :**

**Souche identifiée :**

**Milieu d'isolement :**

**Méthode d'identification :**

**Antibiogramme réalisé :**

## Annexe 6 : Profils de résistance des souches isolée

Tableau : Profils de résistance des *Pseudomonas sp*

SOUCHE	Prélèvement	Souche suspecté	TIC	TCC	ATM	CAZ	IMP	CT	CN
01	Environnement	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
02	Sécrétions pulmonaire	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
03	ECBU	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
04	Sécrétions pulmonaire	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
05	Sonde d'intubation	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	S
06	Lavabo	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
07	Sécrétions pulmonaire	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
08	Environnement	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
09	Sonde d'intubation	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
10	Environnement	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
11	Environnement	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
12	Sonde d'intubation	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	S
13	Sécrétions pulmonaire	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
14	Sécrétions pulmonaire	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	S	R	R	R	S
15	Sécrétions pulmonaire	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	S	R	R	R	R
16	Sécrétions pulmonaire	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	S	R	R	R	R
17	Les mains	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
18	Environnement	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
19	Les mains	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R
20	ECBU	<i>Pseudomonas sp</i>	R	R	R	R	R	R	R

Tableau : profile de résistance des entérobactéries isolées

Numéro	Prélèvement	Suspicion de souche	AX	TI C	TI M	PR L	FO X	CA Z	FE P	IMP	AT M	AM C	CT X
01	Personnel	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
02	Crachat	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
03	Sonde urinaire	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
04	Cathéter	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
05	SONDE D'INTUBATION	<i>Proteus sp</i>	R	S	R	S	R	R	R	R	S	R	R
06	ECBU	<i>Providencia SP</i>	R	S	R	S	R	R	R	R	S	R	R
07	ECBU	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
08	Crachat	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
09	Sécrétion pulmonaire	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
10	Sonde urinaire	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
11	Sonde urinaire	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
12	Crachat	<i>Serratia sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
13	Sécrétion pulmonaire	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
14	Cathéter	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
15	Sonde d'aspiration	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
16	Crachat	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
17	Sonde d'aspiration	<i>Morganella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
18	SONDE D'INTUBATION	<i>Providencia SP</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
19	ECBU	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
20	lavabo	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
21	crachat	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
22	ECBU	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
23	Sonde urinaire	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
24	Sonde d'aspiration	<i>Morganella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
25	Sécrétion pulmonaire	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

souche	Prélèvement	Souche suspecté	AMC	AX	TIC	TIM	PRL	CEP	CX	CAZ	CTX	FEP	IMP	ATM	AK	TOB	AK	NA	FF	CT	C	
26	crachat	Klebsiella sp	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
27	cathéter	E.coli	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
28	SI	E.coli	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R
29	crachat	Klebsiella sp	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
30	pus	Klebsiellasp	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	R	R
31	environnement	E.coli	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
32	sp	Klebsiella sp	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
33	SI	Klebsiella	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
34	asp	Klebsiell spa	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R
35	SI	Klebsiella sp	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
36	crachat	Klebsiella sp	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
37	pus	E.coli	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
38	environnement	Klebsiella	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
39	environnement	Klebsiella	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R
40	pus	Klebsiella	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R
41	sp	Klebsiella	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R
42	couloir	E.coli	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
43	ECBU	E.coli	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R
44	environnement	Klebsiella	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
45	Catheter central	Klebsiella	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
46	environnement	E.coli	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
47	environnement	e.coli	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
48	ECBU	e.coli	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S
49	SP	Klebsiella	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
50	Crachat	Klebsiella	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S

Tableau : profile de résistance des *staphylococcus aureus* isolés

Souche	Prélèvement	FOX	OFX	AK	CN	TOB	FF	OX	TE	E	L	PT	VA	RIF	FA
S01	SP	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S02	SI	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S03	SI	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R
S04	Environnement	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S05	SONDE D'INTUBATION	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
S06	Cathéter	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
S07	ASP	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R
S08	SP	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R
S09	Environnement	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S
S10	Lavabo	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
S11	SP	R	R	S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	S
S12	ASP	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S
S13	Su	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
S14	SP	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S15	SP	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S
S16	ASP	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S17	SP	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
S18	Personnelle	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1.6	R	R	R
S19	Cathéter	S	S	R	R	R	S	I	R	S	S	S	R	R	R
S20	Su	R	S	S	S	R	R	S	R	R	S	XS	R	S	R

## Dépistage et isolement des bactéries multi résistantes en réanimation de l'hôpital MOHAMED BOUDIEF, Ouargla

### Résumé

Les bactéries multi résistantes BMR représentent un problème de santé publique. Elles entraînent une augmentation de la morbidité, de la mortalité et des coûts d'hospitalisation.

Notre étude prospective couvrant la période allant du 29 Janvier au 13 Mars 2018 dans le service de réanimation de dans l'hôpital Mohamed Boudiaf de Ouargla avait pour objectif principale de déterminer la prévalence des BMR et évaluer le niveau d'hygiène atteint dans le service par l'isolement des bactéries à partir de plusieurs sites de l'environnement, le malade et le soignant.

On a isolés (143) souches, les *Staphylococcus* représentent la grande majorité des bactéries responsables des infections dont les espèces les plus dominantes sont *Staphylococcus* à coagulas négative suivi par les *staphylococcus aureus* (14%) . puis les *entérobactéries* (35%) et les *Pseudomonas* (14%). La majorité des souches isolées présente une résistance importants vis à vis les différentes classes des antibiotiques testés principalement aux betalactamines, aux aminosides et aux macrolides. Les principales BMR identifiées dans le service de ranimation étaient entérobactéries productrice de carbapéneme, pseudomonas nmultirésistant, *staphylococcus aureus* méticillino résistant, *staphylococcus aureus* vancomycyne

## Screening and isolation of multi-resistant bacteria in intensive care units at MOHAMED BOUDIEF hospital, Ouargla

### Abstrat

BMR multi-resistant bacteria represent a public health problem. They lead to increased morbidity, mortality and hospitalization costs.

Our study covering the period from January 29 to March 13, 2018 in the intensive care unit of Ouargla Mohamed Boudiaf Hospital had the main objective of determining the prevalence of BMR and assessing the level of hygiene achieved in the service by the isolation of bacteria from several sites of the environment, the patient, the caregiver.

Our study has shown that among the (143) strains isolated, Staphylococci account for the vast majority of the bacteria responsible for the infections of which the most dominant species are *Staphylococcus coagulas* negatif followed by *staphylococcus aureus* (14%). enterobacteria (35%) and *Pseudomonas* (14%). The majority of isolated strains show significant resistance to the different classes of antibiotics tested mainly with betalactamines, aminoglycosides and macrolides. The main BMRs identified in the resuscitation service were carbapenem-producing enterobacteria, non-resistant pseudomonas, methicillin-resistant

## فحص وعزل البكتيريا المقاومة للعديد في وحدات العناية المركزة في مستشفى محمد بوضيف ، ورقلة

### ملخص

تمثل البكتيريا متعددة المقاومة BMR مشكلة صحية عامة و ذلك لأنها تؤدي الى زيادة معدلات الاعتلال و الوفيات و تكاليف الاستشفاء خلال فترة دراستنا الممتدة من 29 جانفي الى 13 مارس 2018 في وحدة العناية المركزة في مستشفى محمد بوضيف بورقلة و التي كان الهدف الرئيسي منها هو تحديد انتشار البكتيريا المقاومة في هذه الوحدة و تقييم مستوى النظافة الصحية و ذلك عن طريق عزل البكتيريا من عدة مواقع (المرضى، البيئة، والأجهزة الطبية).

أظهرت دراستنا أن من بين 143 سلالة معزولة أن العنقوديات تمثل الغالبية العظمى من البكتيريا المسؤولة عن الالتهابات حيث نوع المكورات العنقودية التي لديها مخثرات سلبية تمثل النسبة الأكبر 35% تليها المكورات العنقودية الذهبية بالنسبة 14% ثم 35% entérobactérie وأخيرا pseudomonas 14%

أظهرت غالبية السلالات المعزولة مقاومة كبيرة لفئات مختلفة من المضادات الحيوية التي تم اختبارها أساسا مع Beta lactamines, aminosides, macrolides.

الكلمات المفتاحية: وحدة العناية المركزة، المضادات الحيوية، بكتيريا متعددة المقاومة.