



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité:

Microbiologie appliquée

Présenté par :

M^{elle} BOUSSAID Nesrine

M^{elle} MOKADEM Saloua

***Recherche des bactéries Gram négatif multi-résistantes
isolées des patients et de leurs environnements à l'EPH
« MOHAMED BOUDIEF » et l'EHSE mères et enfants
de Ouargla .***

Soutenu publiquement Le : 27 /06/2018

Devant le jury :

| | | | |
|--------------|---|-------------------|---------------|
| Président | Me ^{lle} .BOUDERHEM .Amel | M.A.A | Univ. Ouargla |
| Examineur | M.MOSBAH. Said | M.A.A | Univ. Ouargla |
| Encadreur | M ^{me} .OULED EL HADJ-KHELIL.A | Professeur | Univ. Ouargla |
| Co-Encadreur | M ^{elle} .YAGOUBAT.Mounira | Doctorante | Univ. Ouargla |

Année Universitaire : 2017/2018

REMERCIEMENTS

Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Nous tenant tout d'abord à remercier très sincèrement : Notre promotrice, Madame **OULED EL HADJ-KHELIL A**, professeur à l'université **KASDI MERBAH** d'Ouargla d'avoir dirigée ce travail qui sans ses encouragements nous n'aurions pas progressé.*

*À notre Co-promotrice, **Melle YAGOUBATE Mounira** doctorante à l'université **KASDI MERBAH** d'Ouargla, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'il m'a témoigné tout au long de cette étude.*

Je remercie vivement les membres examinateurs pour avoir accepté d'évaluer ce travail, particulièrement :

***Melle. BOUDERHEM. A**, M.C.B. à l'université **KASDI MERBAH** d'Ouargla, pour avoir accepté de présider le jury.*

***Ms. MOSBAH. S** M.C.B. à l'université **KASDI MERBAH** d'Ouargla, , pour avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce travail.*

Enfin, grands merci à nos familles respectives et nos amis qui nous ont aidés.

Nous profitant de l'occasion pour remercier tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

A decorative border of pearls and roses surrounds the text. The border consists of a top row of large pearls, a middle row of smaller pearls, and a bottom row of large pearls. On the left side, there are several roses, including a red one and several white ones with green leaves and buds. On the right side, there are more white roses with green leaves and buds.

DEDICACE

Je dédie ce mémoire

*À mes parents MOULAY et OUM
ELKHEIR, pour leur soutien constant, leur
amour et leurs mots d'encouragement qui m'ont
permis de me rendre ici aujourd'hui ;*

À mes sœurs: Aicha, Madjda

*À mon frère : Mouhammed, Marouan, Faisal
, Farouk, Azz elddine, Kaouider*

*À toute la famille Boussaid et la famille Abd
Elghani*

À mes amies et mes camarades

*Et à celui et ceux qui mes ont très chers et qui
m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce
travail*

Nesrine

A decorative border of pearls and roses surrounds the text. The roses are in shades of white and red, with green leaves. The pearls are arranged in a vertical line on the right and a horizontal line at the top.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

Mes très chers et adorables chers parents

Mon père « Alhachemi » et ma mère « Djemaa », 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 éclairés chemins

À mes sœurs et mes frères

Siham, Sakina, Solaf, Samia et Salma. Saïd, Yasine, Sami, Salman Siradje et Sebki, je vous dédie ce travail en témoignage des liens solides et intimes qui nous unissent et pour leurs soutien, encouragement en vous souhaitant avenir plein de succès et de bonheur

À Mlle YAGOUBAT Mounira

Merci pour les efforts qu'ils ont fournis durant nos études, pour la qualité de ton encadrement exceptionnel, pour soutien, efficacité, gentillesse.

À Ma deuxième moitié HAOUARI

pour ta compréhension, ta confiance, ta patience ta tendresse ta tendresse. tu ma toujours soutenu et reconforté. tu es et tu resteras toujours ma source d'encouragement, et merci infiniment d'être dans ma vie

À mes amies et camarades

merci pour tous les bons moments passés à vos côtés. J'espère qu'ils seront encore nombreux. et je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage.

À toute la famille Mokadem et la famille Ben cheham

*À tous mes enseignants et a tous ceux qui m'ont aidé,
En témoignage de mon amour et de ma reconnaissance*

Saloua

Liste des abréviations

| | |
|----------------|--|
| μL : | Microlitre |
| μg: | Microgramme |
| °C : | dégré celcus |
| ATB: | Antibiotique |
| ADN : | Acide désoxyribonucléique |
| ARN : | acide ribonucléique |
| BHIB: | Bouillon Infusion cœur-cervelle |
| BGN : | Bacille à Gram négatif |
| BLSE : | Bêta-Lactamases à Spectre Etendu |
| BMR: | Bactérie multi résistance |
| CA-SFM: | Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie |
| CIM: | Carbapenem Inactivation Method |
| C1G : | Céphalosporine de 1ere génération |
| C2G : | Céphalosporine de 2eme génération |
| C3G : | Céphalosporine de 3eme génération |
| C4G : | Céphalosporine de 4eme génération |
| C T: | Colistine |
| D-ala : | D-alanine |
| EHSE: | Etablissement hospitalier spécialisé enfant-mère |
| ERT : | Ertapinéme |
| EPH: | Etablissement publics hospitaliers |
| EPC : | Entérobactéries Productrices de Carbapénèmases |
| ERV : | Entérocoques Résistant à la Vancomycine |
| EUCAST: | European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing |
| EBLSE : | Entérobactérie productrice de Bêta-Lactamases à Spectre Etendu |
| I: | Intermédiaire |
| IMP : | Imipenème |
| IN: | Infection nosocomiale |
| LPS : | Lipopolysaccharide |
| MH : | Mueller Hinton |
| ML: | Millilitre |

OMS: Organisation Mondiale de la Santé
PLP: protéines de liaison aux pénicillines
R : Résistant
S: Sensible
SARM : Staphylococcus aureus résistante à la méthiciline
VAN: Vancomycine
UFC: unité formant colonie

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I: Classification des antibiotiques selon l'effet antibactérien | 14 |
| Tableau II: Antibiotiques et mécanismes inhibition de la synthèse de la paroi..... | 16 |
| Tableau III: Liste des antibiotiques testés..... | 32 |
| Tableau IV:Interprétation des résultats du Carba NP-test modifié..... | 33 |
| Tableau V: Répartition des souches isolées par catégorie de prélèvements..... | 35 |
| Tableau VI: Répartition des souches par sites de prélèvement s différente | 38 |
| Tableau VII: Le profil de résistance aux antibiotiques des Entérobactéries..... | 40 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: les principales cibles des antibiotiques..... | 14 |
| Figure 2: Présentation des mécanismes de résistance aux antibiotiques | 21 |
| Figure 3: Répartition des BGN par espèce | 36 |
| Figure 4: Répartition des souches par type de prélèvement | 36 |
| Figure 5: Taux de résistance des souches des BGNnF aux antibiotiques..... | 39 |
| Figure 6: Nombre des souches d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques..... | 39 |

Liste des Photos

| | |
|---|----|
| Photo 1: Le test CarbaNPtest. | 41 |
| Photo 2: Les différents sites du prélèvement de la surface (Originale). | 70 |
| Photo 3: Etapes de prélèvement de la surface et le pré-enrichissement (Originale)..... | 70 |
| Photo 4: Etapes L'enrichissement (Originale)..... | 70 |
| Photo 5: Etapes d'isolement (Originale). | 70 |
| Photo 6: Etapes de la Purification (Originale). | 70 |
| Photo 7: Etapes d'antibiogramme selon la technique de diffusion en milieu gélosé. (Originale)..... | 71 |
| Photo 8: Enrichissement dans un bouillon B.H.I.B (Originale). | 72 |
| Photo 9: Aspect des colonies des Entérobactéries après isolement dans le milieu MAC CONCKY+CAZ (Originale)..... | 72 |
| Photo 10: Aspect des colonies des bactérie non fermentaire après isolement dans le milieu MAC CONCKY+CAZ (Originale). | 72 |
| Photo 11: la purification sur milieu MH (Originale). | 72 |
| Photo 12: résultat de la purification (Originale). | 73 |
| Photo 13: résultat de l'antibiogramme (Originale)..... | 73 |

Liste des annexes

| | |
|--|----|
| Annexe 1 : Matériels..... | 65 |
| Annexe 2 : Les compositions des milieux de cultures utilisées :..... | 67 |
| Annexe 3 : Formulaire: | 69 |
| Annexe 4 : Photo de la méthodologie | 70 |
| Annexe 5 : Photo les résultats..... | 72 |

Sommaire

| | |
|------------------------|---|
| Liste des abréviations | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des figures | |
| Liste des Photos | |
| Introduction..... | 1 |

Partie bibliographique

Chapitre I: Environnement hospitalier

| | |
|---|---|
| I.1. Définition de l'environnement hospitalier | 5 |
| I.2. micro-organismes présents dans l'environnement hospitalier | 5 |
| I.2.1- bactéries d'origine humaine (la flore commensale) | 5 |
| I.2.2 bactéries d'origine environnementale (flore saprophyte)..... | 5 |
| I.3. Survie des micro-organismes dans l'environnement..... | 6 |
| I.4. Contamination de l'environnement par les micro-organismes..... | 7 |
| I. 4.1. Contamination de L'eau..... | 7 |
| I.4.2. Contamination de L'air..... | 7 |
| I.4.2. 1- Flore d'origine environnementale | 7 |
| I.4.2. 2Flore d'origine humaine | 8 |
| I.4.3. Contamination de Les surfaces..... | 8 |
| I.5-Relation entre l'environnement hospitalier et les personnes hospitalières | 8 |

Chapitre II: Antibiotiques

| | |
|---|----|
| II.1-Historique..... | 11 |
| II.2-Définition | 12 |
| II.3-Classification des antibiotiques | 12 |
| II.3-1-Classification des antibiotiques selon l' origine..... | 12 |
| II.3-2-Classification des antibiotiques selon la structure chimique | 13 |
| II.3-3.Classification des antibiotiques selon le spectre d'activité | 13 |
| II.3-4.Classification selon le mode d'action:..... | 14 |
| II.3-4.1-Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne | 15 |
| II.3-4.1-1- Beta-lactames | 15 |

| | |
|--|----|
| II. 3-4.1-2- Glycopeptides..... | 15 |
| II. 3-4.1-3- Quelques molécules d'intérêt mineur | 15 |
| II-3.4.2-Antibiotiques actifs sur la membrane cytoplasmique..... | 16 |
| II-3.4.2.1- Polymyxines | 16 |
| II-3-4-3-Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique | 16 |
| II-3.4.4-Antibiotiques inhibant la synthèse ou le fonctionnement de l'ADN..... | 17 |
| II-4.Grande familles d'antibiotique | 17 |
| II-4.1 . Bêtalactamines : BLA | 17 |
| II-4.1.1- Pénicillines | 18 |
| II-4.1-2- Carbapénèmes (noyau pénème) | 18 |
| II-4.1-3- Les céphalosporines : | 18 |
| II-4-1-4- Les monobactames..... | 19 |
| II-4-2- Aminosides (aminoglycosides) | 19 |
| II-4-3-. Tétracyclines | 19 |
| II-4.4. Phénicoles | 19 |
| II-4.4 -1. Chloramphénicol | 19 |
| II-4.4. 2 Thiamphénicol | 19 |
| II-4.5. Polypeptides..... | 19 |
| II-4.5.1. Vancomycine | 20 |
| II-4.5.2. Teicoplanine..... | 20 |
| II-4.5.3. Polymyxine | 20 |
| II-4.6. Macrolides | 20 |

Chapitre III : Résistance bactérienne aux antibiotiques

| | |
|---|----|
| III.1. résistance bactérienne aux antibiotiques..... | 18 |
| III.1.1. Définition de la résistance aux antibiotiques | 18 |
| III.1.2. Types de résistance bactérienne..... | 18 |
| III.1.2.1. résistance naturelle..... | 18 |
| III.1.2.2. résistance acquise..... | 18 |
| III.1.3. Mécanismes des résistances bactérienne aux antibiotiques | 18 |
| III.1.3.1. inactivation enzymatique | 19 |
| III.1.3.1.1. Enzymes inactivant les bêta-lactamines | 19 |
| III.1.3.1.1.1. Pénicillinases : | 19 |
| III.1.3.1.1.2. Céphalosporinases : | 19 |

| | |
|--|----|
| III.1.3.1.1.3. β -lactamases à spectre étendu | 19 |
| III.1.3.1.1.4- carbapénémases | 20 |
| III.1.3.2. Diminution de La perméabilité | 20 |
| III.1.3.3.Modification de la cible | 20 |
| III.1.3.3.1 Modification des PLP : | 20 |
| III.1.3.3.2 Modification du précurseur du peptidoglycane | 21 |
| III.1.3.4. Efflux actif | 21 |
| III.2.Bactéries multirésistantes | 22 |
| III.2.1. Définition de la bactérie multirésistant (BMR) | 22 |
| III.2.2. Principales bactéries multiresistantes | 22 |
| III.2.2.1.Bactéries Gram positif | 22 |
| III.2.2.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (SARM)..... | 22 |
| III.2.2.1.2 Entérocoque résistant à la vancomycine | 23 |
| III.2.2.2.Bactéries Gram négatif | 24 |
| III.2.2.2.1. Entérobactéries..... | 24 |
| III.2.2.2.1.1 Entérobactéries sécrétrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE)..... | 24 |
| III.2.2.2.1.2 Entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) | 24 |

Partie expérimentale

Chapitre I :Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| I-Méthodologie | 28 |
| I-1. Présentation du site d'étude | 28 |
| I-1.1. EHSE Ouargla « BOUKHRIS OMAR » | 28 |
| I-1.2. l'EPH<< MOHAMED BOUDIEF –OUARGLA>> | 28 |
| I-2. Prélèvements | 29 |
| I-2.1. Prélèvements à partir de patients..... | 29 |
| I-2.1.1 Prélèvements du dépistage du portage digestif des EPC et BLSE..... | 29 |
| I-2.2. Prélèvement à partir de l'environnement | 30 |
| I-2.2.1. Prélèvements à partir des surfaces | 30 |
| I-2.2.2. Prélèvements à partir de l'air | 30 |
| I-3.Isolement | 30 |
| I-4. Purification, identification et conservation. | 31 |
| I-5. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques | 31 |
| I-5.1. Inoculum | 31 |

| | |
|--|----|
| I-5.2. Ensemencement..... | 31 |
| I-5.3. Lecture..... | 31 |
| I-6. Détermination des phénotypes de résistance..... | 32 |
| I-6.1. Recherche de la production d'une β -lactamase à Spectre Etendu (BLSE) | 32 |
| I-6.2. Recherche de la production d'une carbapénèmase par le Carba NP test modifié..... | 33 |

Chapitre II :Résultats et discussion

| | |
|--|----|
| II-1- Répartition des prélèvements | 35 |
| II-2-Répartition des souches par espèce | 35 |
| II-3-Répartition des souches par type de prélèvement..... | 36 |
| II-4- Répartition des souches par sites de prélèvement | 37 |
| II-5-Etude de la résistance aux antibiotiques..... | 38 |
| II-5-1- Résistance des souches non fermentaires aux antibiotiques | 38 |
| II-5-2-Résistance des souches d'entérobactéries aux antibiotiques | 39 |
| II-6-Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines..... | 40 |
| II-6-1-Recherche de la production de BLSE par le test de synergie | 40 |
| II-6-2- Recherche de la production de carbapénèmases | 41 |
| Discussion générale | 42 |
| Conclusion | 48 |
| Références bibliographiques..... | 49 |
| Annexes | 63 |

Introduction

Introduction

Depuis leur découverte en 1928 par Alexander Fleming et dès leur utilisation durant la seconde guerre mondiale, les antibiotiques de la famille des β -lactamines ont été confrontés à l'émergence de la résistance. Celle-ci apparut rapidement, dès 1942, avec la première souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la pénicilline.

Après un demi-siècle d'utilisation des antibiotiques, l'émergence et la dissémination de la résistance bactérienne à cette classe thérapeutique est en perpétuelle évolution. Cette résistance bactérienne est la résultante d'interactions complexes entre la bactérie d'une part et son environnement d'autre part. Elle est liée essentiellement à un usage excessif des antibiotiques aussi bien en médecine humaine, qu'en médecine vétérinaire ou dans l'alimentation animale. Les bactéries pour faire face à la pression de sélection exercée par les antibiotiques utilisent des parades leur permettant de s'adapter aux conditions hostiles de leur environnement (**Milhaud et al., 1982**).

A l'hôpital, la prescription à grande échelle, et parfois inappropriée d'antibiotiques fait que les bactéries évoluent constamment vers la résistance, Le lien entre la consommation d'antibiotiques et l'émergence de résistance a bien été établi, notamment pour certains couples (germe-antibiotique) (**Thuong M et al., 2004**). La prescription souvent non régulée d'antibiotiques a rapidement entraîné l'accroissement des résistances et, si la découverte de nouveaux antibiotiques au cours des dernières décennies a pu laisser croire qu'il persisterait toujours des molécules efficaces, l'heure est à la désillusion, et le spectre de l'impasse thérapeutique menace dans certaines situations de multirésistance (**Schwarz et al., 2001**).

Les bactéries sont dites multirésistantes aux antibiotiques (BMR) lorsque, du fait de l'accumulation des résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique. Il n'y a cependant pas de définition précise consensuelle d'une BMR (**Jarlier V, 2000**).

La recrudescence des BMR en milieu hospitalier est un phénomène mondial observé pour toutes les espèces bactériennes, mais à des degrés variables selon les pays et les services, en fonction des habitudes de prescription et des pratiques d'hygiène (**Saadaoui, 2012**). Leur émergence constitue un réel problème de santé publique de par leur impact sur la morbidité et la mortalité des patients infectés, sur la thérapeutique (limitation des molécules efficaces) et le coût de prise en charge (durée d'hospitalisation, examens de laboratoire, antibiotiques) (**Zohoun A et al., 2010**).

Afin de mieux comprendre ce phénomène, nous avons jugé qu'il est important qu'on dispose de connaissances sur les résistances, les multirésistances bactériennes et les mécanismes d'actions des antibiotiques que nous allons aborder dans ce mémoire, divisé en deux grandes parties. La première est essentiellement bibliographique, elle traite l'environnement hospitalier, les antibiotiques et la résistance bactérienne aux antibiotiques et leurs principaux mécanismes de résistance. Dans le même contexte, la seconde partie est consacrée à la pratique et elle a pour objectif :

- ✓ Détection des principaux germes Gram négatif isolés des patients et de l'environnement hospitalier rencontrés à l'EPH « **MOUHAMED BOUDIAF** » et l'**AHSE** mères et enfants dans la région de Ouargla.
- ✓ Recherche des souches Gram négatif multi résistantes,
- ✓ Recherche du rôle de l'environnement hospitalier dans la diffusion de la résistance aux antibiotiques.

Partie bibliographique

Chapitre I

Environnement hospitalier

I.1. Définition de l'environnement hospitalier

Le terme d'environnement hospitalier regroupe les éléments suivants : air, eau, surfaces (sols, murs, mobilier, équipement), linge, aliments, dispositifs médicaux, déchets qui sont susceptible de rentrer en contact avec les groupes humains ,les visiteurs et le personnel d'une structure d'hospitalisation (CTIN, 2002).

Ces éléments supportent de nombreux micro-organismes et cette contamination environnementale 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 (sains, colonisés, infectés), des soins et des techniques pratiqués(Hajjar *et al.* , 2000).

I.2. Les micro-organismes présents dans l'environnement hospitalier

Les microorganismes présents dans l'environnement hospitalier sont extrêmement variés (bactéries, levures, champignons filamenteux, virus et parasites) et peuvent appartenir aussi bien aux espèces opportunistes qui ne manifestent leur virulence que sur un organisme dont les défenses immunitaires sont affaiblies, qu'aux espèces habituellement pathogènes pour l'homme (CTIN, 2002) .

Parmi ces microorganismes, les bactéries jouent un rôle potentiel dans les infections hospitalières. Deux types de bactéries peuvent être retrouvés dans l'environnement des patients :

I.2.1-des bactéries d'origine humaine (la flore commensale)

Lorsque les patients sont colonisés et surtout lorsqu'il existe une infection patente, leur environnement immédiat est en général fortement contaminé par ces microorganismes(Weber et Rutala, 1997)

Parmi lesquelles des bactéries multirésistantes aux antibiotiques comme *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) ou les *Enterococcus* résistants à la vancomycine (ERV) (Talou, 1999). Certains germes pathogènes peuvent aussi contaminer l'environnement à partir d'un réservoir humain comme les salmonelles, *Clostridium difficile*, etc. (Hajjar *et al.*, 2000)

I.2.2-des bactéries d'origine environnementale (flore saprophyte)

Dont certaines ont de fréquentes résistances naturelles aux antibiotiques, notamment les bacilles à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa* , *Acinetobacter baumannii*,

Stenotrophomonas maltophilia, *Burkholderia cepacia*, *Legionella pneumophila* (Weber et Rutala, 1997; Boyce *et al.*, 1997; Talon, 1999; Rampling *et al.*, 2001)

I.3. Survie des micro-organismes dans l'environnement

La survie et éventuellement la multiplication des bactéries conditionnent la nature l'importance de la colonisation environnementale et la capacité de l'environnement à devenir un réservoir dans lequel le micro-organisme persiste et éventuellement une source à partir de laquelle le microorganisme va pouvoir être transmis. (Talon, 1999).

La survie des micro-organismes dans l'environnement favorisée par la formation de biofilms au niveau des surfaces est de durée très variable, dépendant de différents facteurs comme la nature du germe, la température, le taux d'humidité, le type de surface et leur degré de salissure, en particulier leur teneur en matières organiques (Fekety *et al.*, 1981)

Différents travaux ont évalué la durée de survie des micro-organismes dans l'environnement. Par exemple, pour *Enterococcus faecalis*, cette durée varie de 30 minutes sur la membrane d'un stéthoscope à 5 jours sur le dessus d'un plan de travail (Weber et Rutala, 1997) De même, la survie sur les surfaces d'*Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine peut atteindre une semaine (Noskin *et al.*, 1995; Bonilla *et al.*, 1996). Des SARM peuvent survivre dans l'environnement pendant plus de 7 jours (Farrington *et al.*, 1992). Ainsi, des souches de *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter baumannii* sont les espèces parmi les plus résistantes à la dessiccation et peuvent survivre plusieurs semaines sur des surfaces sèches, devant *Pseudomonas aeruginosa*, certaines entérobactéries comme *Serratia marcescens* et les entérocoques qui peuvent survivre plus d'une semaine (Oie *et al.*, 1996; Wendt, 1998) *Escherichia coli*, l'entérobactérie la plus fréquente dans les infections nosocomiales est beaucoup moins résistante à la dessiccation (Jawad *et al.*, 1996; Wendt, 1998) Des survies particulièrement longues, atteignant plus de 6 mois sont décrites, en particulier avec certaines souches épidémiques de *S. aureus* résistant à la méticilline (Wagenvoort, 2000). Dans des conditions d'humidité et en présence de matières organiques, la survie est encore plus longue (Jawad *et al.*, 1996). La capacité de sporuler propre à certaines bactéries comme *Clostridium difficile* leur assure une très longue persistance dans l'environnement (CTIN, 2002)

I.4. Contamination de l'environnement par les micro-organismes

L'environnement hospitalier est largement contaminé par des microorganismes d'origine humaine ou spécifiquement environnementaux (Rutala et Weber, 1997). Cette contamination est diffuse et sa maîtrise, qui entraîne des procédures contraignantes, complexes et coûteuses, n'est le plus souvent que partielle et transitoire (Hajjar *et al.*, 2000).

I. 4.1. Contamination de L'eau

Les risques majeurs liés à la consommation de l'eau sont d'ordre infectieux. Ils sont provoqués, principalement au niveau digestif, par la présence de bactéries, de virus et/ou de parasites véhiculés par les canalisations de distribution. Ces micro-organismes peuvent déclencher une infection ou coloniser le malade.

Les bactéries en cause peuvent être : Les bacilles à Gram négative, Entérocoques, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria* ou des bactéries plus spécifiques de l'environnement hospitalier comme *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Clostridium difficile* (Ragon, 2004).

Les causes de contamination microbiologique de l'eau sont nombreuses et souvent liées à :

- Une contamination initiale du réseau de distribution publique, ou à une contamination du réseau interne de l'établissement ;
- Des problèmes de stagnation des eaux dans des bras morts du réseau (formation d'un biofilm), dans les réservoirs, et même dans certains appareillages ;
- Des retours d'eau contaminée dans le réseau, suite à une dépressif (siphonage) ou à une surpression (refoulement) ;
- Des travaux réalisés sur le réseau et un non respect des règles d'hygiène ;
- La concentration de population de sujets malades (Oie *et al.*, 1996) .

I.4.2. Contamination de L'air

Parmi les biocantaminants les fréquemment rencontrés dans l'air , se trouvent les bactéries , les virus ,les champignons

I.4.2. 1-La Flore d'origine environnementale

La flore bactérienne environnementale généralement non photogène est composée de *Bacillus*, *microcoques*, *Staphylocoques coagulase* négative et plus rarement de *Staphylococcus aureus*. Les levures et les champignon filamenteux (*Cladosporium*,

Penicillium, *Aspergillus* et *Alternaria* par exemple) sont bien adaptés à la survie et à la multiplication dans l'environnement (AHO Glélé et al ., 2009) .

I.4.2. 2-La Flore d'origine humaine

La flore d'origine humaine est composée des bactéries émises par l'organisme humain, essentiellement les flores commensales cutanées et naso-oropharyngiennes et éventuellement la flore digestive : Staphylocoques coagulase négative notamment *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylocoques hominis*, *Corynebacterium sp*, *Propionibacterium acnes*, *Micrococcus*, Streptocoques et entérobactéries (Prescott et al ., 2003)

I.4.3. Contamination de Les surfaces

Les surfaces sont contaminées soit par contact, soit par sédimentation des micro-organismes présents dans l'air. La répartition de cette contamination des surfaces se fait le plus souvent de manière hétérogène. L'adhérence des bactéries est possible selon l'état de la surface et elle peut s'accompagner de la création d'un biofilm (Carpentier et cerf, 1993). Du fait de conditions de croissance défavorables, certaines bactéries peuvent se miniaturiser (bactéries naines) (Montfort et Baleux ,1999) et sont alors difficiles à mettre en évidence dans les prélèvements (bactéries viables et non cultivables (Hajjar et al., 2000) D'autres bactéries peuvent prendre une forme sporulée (*Clostridium difficile*) (Fekety et al .,1981)

I.5-Relation entre l'environnement hospitalier et les personnes hospitalières

Au sein d'un hôpital, plusieurs sources jouent un rôle dans l'apparition des transmissions croisées. Outre le patient infecté/colonisé, qui constitue la source la plus importante, et le prestataire de soins porteur transitoire, l'environnement hospitalier peut également être à l'origine de la transmission de micro-organismes.

De nombreuses études ont montré que des bactéries responsables d'infections parmi les quels *Staphylococcus aureus*, les entérocoques résistant à la vancomycine (VRE) (Boyce, 2007), *Acinetobacter baumannii* (Enoch, 2008), et *Clostridium difficile* (Mc Farland, 1989 ; Riggs, 2007) se retrouvent dans l'environnement de patients porteurs de ces bactéries. Dans ce cas, on retrouve principalement ces micro-organismes sur les surfaces et les objets que les travailleurs de la santé touchent fréquemment avec les mains (= surfaces *hightouch*). De nombreux investigateurs ont montré la transmission de pathogènes comme les *S.aureus* résistants à la méthicilline (MRSA), les VRE et les *Clostridium difficile* par les mains nues ou gantées de travailleurs de santé après un contact avec des surfaces contaminées (Boyce, 2007).

Cette contamination des mains peut entraîner le transfert de ces agents infectieux à un autre site aussi efficacement que lorsque les mains sont contaminées après un contact avec le patient (**Denton, 2004 ; Hayden, 2006 ; Drees, 2008**).

Chapitre II

Antibiotiques

II.1-Historique

Les antibiotiques sont un outil majeur de la médecine moderne et la généralisation de leur utilisation dans la première moitié du XXème siècle a permis de lutter contre des infections bactériennes majeures

Les encyclopédies rapportent l'existence en Chine, en Grèce, au Brésil, de recettes ancestrales de pâtes moisisées que l'on appliquait sur les plaies infectées. Plusieurs savants, tels Pasteur et Joubert, en 1877, et Vuillemin, en 1889, ont observé que certains micro-organismes ont la capacité d'inhiber d'autres microorganismes ou combattre telle ou telle maladie (**Murray B.E, 1991**).

En 1928, le médecin britannique Alexander Fleming, fut la découverte qui changea le monde de la thérapeutique lorsqu'il constata que les boîtes de Pétri, où il faisait pousser des staphylocoques, ont été envahies par des colonies cotonneuses d'un blanc verdâtre ; « *Penicillium notatum* (**Gauthier. E, 1993 ; Ablaine . ML, 2004**) Alors qu'il doit désinfecter ces boîtes contaminées, Fleming s'aperçoit qu'autour des colonies de moisissure, il existe une zone circulaire dans laquelle le staphylocoque n'a pas poussé. Il émet l'hypothèse qu'une substance sécrétée par le champignon en est responsable et lui donne le nom de pénicilline (**Milhaud et al., 1982 ; Duval .J et Soussy. C-J,1990**),

La découverte de la pénicilline stimula la recherche d'autres antibiotiques; Selman WAKSMAN annonça en 1944 qu'il avait trouvé un nouvel antibiotique, la Streptomycine, produit par l'actinomycète *Streptomyces griseus* (**Prescott et al ., 2007**) La science médicale a alors utilisé les antibiotiques non seulement pour traiter les maladies, mais aussi pour donner accès à des interventions chirurgicales qui auraient été trop risquées sans la disponibilité d'antibiotiques permettant de combattre le risque accru d'infection. À titre d'exemple, lors de greffes d'organes, on doit supprimer le système immunitaire, mais on se fie aux antibiotiques pour combattre l'infection ,La recherche continue et on découvre de nouvelles thérapies tous les ans .Cependant À la fin du 20ème siècle, après seulement 50 ans d'utilisation, quelques antibiotiques ne réussissaient plus à vaincre certaines bactéries ,qui ont inévitablement développé une résistance aux nouveaux médicaments et ces derniers seront aussi inefficaces tôt ou tard (**Corvalin .A, 2007**)

II.2-Définition

Selon **WAKSMAN (1943)** les antibiotiques sont toutes les substances chimiques produites par des microorganismes capables d'inhiber le développement et de détruire les bactéries et d'autres micro-organismes. Les médicaments produits à partir de ces substances permettent d'agir sur les bactéries responsables des infections chez les êtres vivants dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique (**Philippon A, 2004**)

TURPIN et VELU (1957) définissent *les antibiotiques* comme : tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des microorganismes ou même de certaines êtres pluricellulaire

Les antibiotiques sont caractérisés par leur :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité)
- Toxicité sélective (mode d'action)
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique)
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme (**Morin. Y et al., 2001**)

II.3-classification des antibiotiques

II.3-1-classification des antibiotiques selon l' origine

Les antibiotiques sont fondamentalement des substances naturelles issues du métabolisme azoté de divers micro-organismes dont l' 20 % proviennent de champignons, 70 % proviennent d'actinomycètes ,10 % proviennent des bactéries (non actinomycètes), en particulier des genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. (**Newman et al., 2003 ; Singh et Barrett, 2006**).

Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances initialement extraites de micro-organismes. tant que les antibiotiques semi-synthétique sont issus de la modification en laboratoire de substances produites par un micro-organisme (**Guinoiseau et al., 2010**)

II.3-2-classification des antibiotiques selon la structure chimique

Très variable, elle est basé souvent sur une structure de base comme le cycle β -lactame (famille des Bêtalactamines) sur laquelle il y a hémi synthèse. Elle donne souvent, le nom à la famille (**Gogny. M et al., 2001**).

La classification selon la nature chimique permet de classer les antibiotiques en familles

II.3-3.classification des antibiotiques selon le spectre d'activité

Chaque antibiotique est caractérisé par un spectre qui correspond à l'éventail des germes qui il peut toucher, à dose plus ou moins élevée. Il est différent pour chaque famille d'antibiotiques,. On a ainsi des antibiotiques à spectre très large, large, moyen, ou étroit, (**Maur, 1979**).

- Spectre étroit: n'atteignant que les bactéries à Gram positif ou les bactéries a Gram négatif
- Spectre large: incluant les bactéries Gram positif et Gram négatif l'activité antibactérienne est caractérisée in vitro par :
- La concentration minimale inhibitrice (CMI) : concentration la plus faible d'un antibiotique capable d'empêcher le développement d'un micro-organisme après 18 à 24h d'incubation à 35°C. C'est une valeur indicatrice du pouvoir bactériostatique.
- La concentration minimale létale ou bactéricide (CMB ou CML) : concentration la plus faible capable d'entraîner la mort d'au moins 99,9% des bactéries d'un inoculum standardisé à 10^5 - 10^6 bactéries/mL ($< 0,01\%$ de survivants). C'est une valeur indicatrice du pouvoir bactéricide.

On détermine ainsi l'activité intrinsèque d'un antibiotique selon le rapport

- $CMB/CMI \leq 2$ Antibiotique bactéricide
- $CMB/CMI = 4$ à 16 Antibiotique bactériostatique
- $CMB/CMI > 16$ Bactérie dit "tolérante" à l'antibiotique (**Demoré. B, et al 2012**)

Tableau I: Classification des antibiotiques selon l'effet antibactérien (Vidal.,1997)

| Antibiotiques bactériostatique | Antibiotiques bactéricides |
|---|---|
| <p>Ticaracyclines</p> <p>Sulfamides</p> <p>Triméthoprimes</p> <p>Macrolides</p> <p>Phénicoles</p> <p>Lincosamides</p> <p>Synergestines</p> <p>Acide fusidique</p> <p>Acide nalidixique</p> | <p>Aminosides</p> <p>β-lactamines</p> <p>quinolones</p> <p>glycopeptides</p> <p>Polymyxine</p> <p>Nitrofuranes</p> <p>Nitro-imidazolés</p> <p>Novobiocine</p> <p>Fosfomycine</p> <p>Bactiracine</p> |

II.3-4. Classification selon le mode d'action:

Pour pouvoir être utilisable en pratique clinique, un antibiotique doit se caractériser par une action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules eucaryotes (hôte). Un antibiotique devra donc idéalement affecter une voie métabolique absente ou peu active chez les eucaryotes mais essentielle aux procaryotes, ou atteindre une cible spécifique aux procaryotes (**Corpet D.E,1998**)

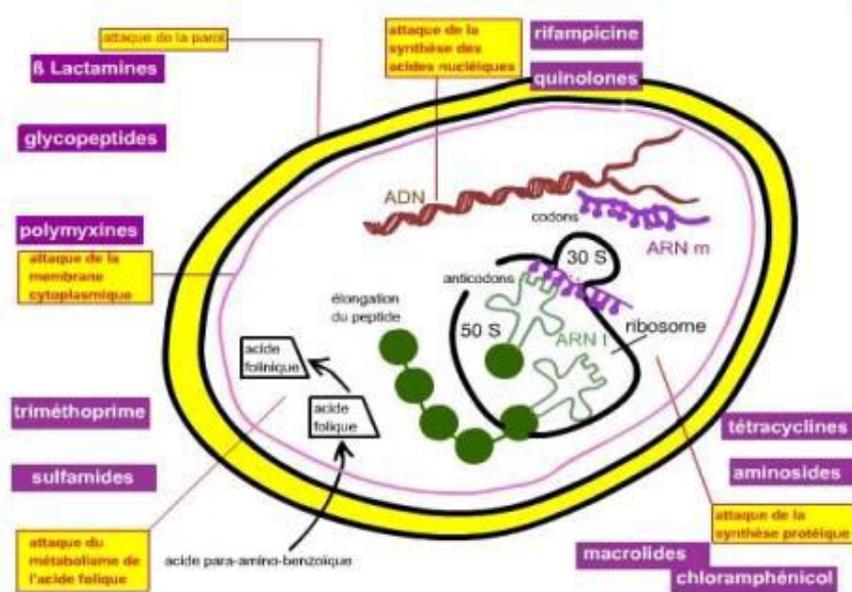


Figure 1: les principales cibles des antibiotiques (**SAADAOU,2008**)

II.3-4.1-Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne

Contrairement aux cellules animales, les bactéries possèdent une enveloppe extérieure rigide : la paroi. C'est elle qui lui donne sa forme, et la protège des perturbations osmotiques que pourrait lui imposer le milieu environnant. Cette structure est tout à fait originale. Ainsi tout antibiotique agissant spécifiquement sur cette paroi, aura une grande sélectivité d'action et sera dépourvu d'effets sur les cellules animales. (Hellali A.K, 1999). La paroi est constituée essentiellement de peptidoglycane, qui est un polymère de sucres réticulé par des ponts de nature peptidique (Bourin et al., 1993)

II.3-4.1-1-Les beta-lactames

Les bêta-lactamines présentent une analogie structurale avec un constituant du PG (peptidoglycane) en formation, le dipeptide D-ala-D-ala qui est le substrat naturel de l'enzyme PLP (les protéines liant les pénicillines) donc ces enzymes lient l'antibiotique au lieu de lier leur substrats par conséquent le PG est dégradé ce qui entraîne finalement la lyse bactérienne (Gaudy et al., 2005)

II. 3-4.1-2-Les glycopeptides

Ce sont des antibiotiques bactéricides de nature glycopeptidiques (Beucler A, 1990 ; Tulkens P, 2009) Il inhibe la synthèse de peptidoglycane en formant un complexe avec dipeptide terminal peptidyl-D-ala-D-ala des précurseurs lorsqu'ils émergent de la membrane cytoplasmique lors de leur transport à travers celle-ci (Gaudy et al., 2005)

II. 3-4.1-3- Quelques molécules d'intérêt mineur

fosfomycine, cyclosérine, bacitracine (inhiber la synthèse des précurseurs du peptidoglycane), La réaction est inactivée de manière irréversible par la Fosfomycine

Tableau II: Antibiotiques et mécanismes inhibition de la synthèse de la paroi.(Tulkens P 2002)

| |
|---|
| 1. Blocage de la synthèse des précurseurs du peptidoglycan |
| - Fosfomycine : inhibe la N-acétylglucosamine-3-o-enolpyruvyltransferase qui catalyse la formation d'acide N-acetylmuramique à partir de N-acetylglucosamine et de phosphoenolpyruvate. |
| - Cyclosérine : analogue structurel de la D-alanine; elle inhibe la D-alanine racémase ainsi que l'enzyme qui dimérise la D-alanine. |
| - Bacitracine : interfère dans le transport transmembranaire des précurseurs du peptidoglycane. |
| 2. Blocage de l'étape de transglycosylation |
| - Vancomycine (glycopeptide) : inhibe la transglycosylation et la transpeptidation en complexant les résidus D-ala-D-ala des disaccharides-pentapeptides présentés à la face externe de la membrane cytoplasmique. |
| 3. Blocage de l'étape de transpeptidation |
| - Beta-lactames : fonctionnent comme substrats suicide de la transpeptidase |

II-3.4.2-Antibiotiques actifs sur la membrane cytoplasmique

Ces antibiotiques agissent même sur les bactéries en phase de repos. Ils exercent une action directe et immédiate sur la membrane cytoplasmique (qui limite le cytoplasme bactérien comme une barrière osmotique semi-perméable). Cette action est comparable à celle des antiseptiques surfactifs (**Philippon, 2006**) on distingue parmi ces antibiotiques, la tyrothricine, les polypeptides cycliques, polymyxines, colistine. (**Maur,1990 ; Burin et al ., 1993 ; Philippon, 2006**)

II-3.4.2.1- les polymyxines

Ces antibiotique sont actifs que sur les bactéries Gram négative (**Tankovic , 2000**) Les polymyxines, dont la colistine est le représentant le plus connu ,sont capable de détruire la membrane cytoplasmique après avoir désorganisé la membrane externe des bactéries Gram négative ce qui entraînant l'éclatement de la bactérie (**Gaudy et al., 2005**).

II-3-4-3-Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique

Ces antibiotiques inhibent la synthèse des protéines bactériennes par action sur les ribosomes, (**Maur, 1979 et 1990**), (**Philippon, 2006**) Les ribosomes procaryotes ne sont pas constitués des mêmes protéines que les ribosomes eucaryotes, et ont d'ailleurs des coefficients de sédimentation différents ,pour les procaryotes 50S pour la sous-unité lourde et 30S pour la

sous-unité légère donc les antibiotique inhibiteur de la synthèse des protéines agissent sur ces deux sous-unité 30s et/ou 50s ce qui entraine l'arrêt de la biosynthèses des protéines **(Hermann ,2005)**

- -De la sous-unité 50S, qui empêchent la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne en croissance (phénicolés) ou le transfert de la chaîne en croissance du site A vers le site P (macrolides, lincosamides, streptogramines).
- De la sous-unité 30S, qui empêchent ou perturbent la liaison des aminoacyl-ARNt aux ribosomes (tétracyclines, aminoglycosides) **(Yala et al.,2001)**.

II-3.4.4-Les antibiotiques inhibant la synthèse ou le fonctionnement de l'ADN

On distingue les antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse des ARN et d'autre part sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs (**Philippon, 2006**) .

a-Les quinolones : Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides qui bloquent la réplication de L'ADN ,Elle se concentrent dans le cytoplasme où elles se lient une topoisomérase (ADNgryase) la quinolones se fixant sur le complexe ADN- topoisomérase (ADN-ADN gyrase) en inhibant son fonctionnement donc empêchant la synthèse de l'ADN de la bactérie en empêchant la réplication et transcription de l'ADN bactérien **(Yala et al.,2001) (Gaudy et al ., 2005)**

b- Les Fluoroquinolones : il s'agit de quinolones classiques auxquels, on ajoutent un atome de fluor ,ils agissent sur deux enzymes impliqués dans la synthèse de l'ADN: l' ADNgryase et et l'ADN topo- isomérase IV **(Auckenthaler R, 1995)**.

c-Nitrofuranes : ils agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases) **(Auckenthaler R, 1995)**.

II-4.Les grande familles d'antibiotique

II-4.1 . les bêtalactamines : BLA

Les β -lactamines représentent la principale famille d'antibiotiques la plus développée et la plus utilisée dans le monde. Cette large utilisation est due à leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité et à leur faible coût pour certaines molécules **(Livmore, 1995)**.

La structure des BLA est construite autour d'un cycle β -lactame, indispensable à leur activité. On distingue plusieurs familles de produits en fonction de la nature du cycle qui lui est accolé:

- Pénème (cycle à 5 sommets dont un soufré): toutes les pénicillines
- Clavame (cycle à 5 sommets dont un oxygéné): inhibiteurs de β -lactamases
- Carbapénème (cycle insaturé à 5 sommets carbonés): imipénème et produits apparentés
- Céphème (cycle insaturé à 6 sommets dont un soufré): céphalosporines
oxacéphème (cycle insaturé à 6 sommets dont un oxygéné): latamoxef.

En outre, on associe aux β -lactamines la famille des monobactames constituées par un cycle azétidine (amine cyclique à 4 pièces), substituée par une fonction SO_3^- qui mime la fonction carboxylique libre des autres molécules. (Van et al., 1993)

La famille des β -lactamines est répartie en quatre principaux groupes : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénème (Bryskier, 1999)

II-4.1.1- Les pénicillines

L'acide 6-aminopénicillanique est le noyau de base des pénicillines. Sur base de la nature des substituants et de ses conséquences pour l'activité antibiotique, on peut distinguer plusieurs classes de produits dont font partie la pénicilline G, la méticilline et les isoxazolylpénicillines (oxacilline et cloxacilline), les amino-benzylpénicillines (ampicilline et amoxicilline), les uréido-pénicillines (pipéracilline), les carboxy-pénicillines (ticarcilline) et les amidino-pénicillines (mécillinam) (Yala et al., 2001)

II-4.1.2- Les carbapénèmes (noyau pénème)

Qui sont les plus efficaces actuellement, exemples : imipénème, méropénème (Cavallo et al., 2004). Ils ont très actifs sur un grand nombre d'espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif (Yala et al., 2001)

II-4.1.3- Les céphalosporines :

Les céphalosporines sont des antibiotiques appartenant à la grande famille des β -lactamines. La mise en évidence de cette famille a été initiée en 1945 par le professeur BROTZU en Sardaigne (Goot, 1990). Il a mis en évidence l'activité antibactérienne du filtrat d'un champignon dénommé *Cephalosporium acremonium*, isolé à partir d'eau de mer prélevée à proximité d'une décharge publique. Ces β -lactamines sont toutes à large spectre et leur intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif (Yala et al., 2001)

II-4-1-4- Les monobactames

Les monobactames sont des β -lactames monocycliques, initialement découvertes dans des surnageants de culture de bactéries plutôt que de levures comme dans le cas des autres β -lactames. Les monobactames sont inactifs sur les Gram (+) et les anaérobies. Par contre, ils sont très actifs sur les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginos*, L'activité anti-Gram (-) de l'aztreonam est globa (Bryskier , 1999)

lement comparable à celle des céphalosporines de 3eme génération et notamment la ceftazidime)

II-4-2-Les aminosides (aminoglycosides)

Ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol. Ce sont des antibiotiques rapidement bactéricides. Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et hémisynthétiques. Elles sont divisées en trois classes :

- Streptomine
- 2 désoxystreptomine
- Streptidine (Yala et al., 2001)

II-4-3-. Les tétracyclines

Les tétracyclines sont bactériostatiques, elles pénètrent bien dans les cellules, ces molécules présentent un e grand e homogénéité. On distingue les cyclines naturelles et les cyclines semi synthétiques (Yala et al., 2001)

II-4.4. Les Phenicoles

II-4.4 -1. Le chloramphénicol

C'est un antibiotique bactériostatique à large spectre., il est réservé au traitement de la fièvre typhoïde (Yala et al., 2001)

II-4.4. 2 Thiamphénicol

Le thiamphénicol est très voisin chimiquement du chloramphénicol, son spectre d'action est similaire (Yala et al., 2001)

II-4.5. Les polypeptides

On distingue 7 groupes : parmi eux :

- ❖ Peptides cycliques représentés par la Capréomycine, la Viomycine.

- ❖ Glycopeptides représentés par la Vancomycine.
- ❖ Glycolipopeptides représentés par la telcoplanine, laramoplanine
- ❖ lipopeptides représentés par la Daptomycine (en développement clinique), la Polymyxine (actif sur BGN) (Yala et al., 2001)

II-4.5.1. La vancomycine

Le chlorhydrate de vancomycine représente le principe actif et est administré par voie intra - veineuse uniquement. Antibiotique à usage hospitalier (Yala et al., 2001)

II-4.5.2. La teicoplanine

La molécule est un acide faible soluble dans l'eau et bien toléré en **IV** et en **IM**. Sa grande lipophilie lui permet une meilleure diffusion tissulaire et un relargage lent. Antibiotique à usage hospitalier (Yala et al., 2001)

II-4.5.3. La Polymyxine

Les lipopeptides se caractérisent par une chaîne peptidique à laquelle est fixée une chaîne lipidique. On distingue : Polymyxine β (Polymyxine®) et la Polymyxine E (Colimycine®) (Yala et al., 2001) Ils possèdent une charge positive et agissent comme des agents tensio-actifs. Ils agissent sur la membrane cellulaire en se fixant sur les phospholipides d'où rupture de la barrière osmotique. (Cavallo et al., 2004)

II-4.6. Les macrolides

Ce sont des antibiotiques fréquemment utilisés en pratique de ville à cause de leur facilité d'emploi. Ils ont un spectre étroit, et sont parfaitement actifs sur les germes intracellulaires. Ils ont une excellente pénétration tissulaire, les macrolides possèdent un noyau lactone central qui est à la base de leur classification, selon le nombre d'atomes de carbone. Ce sont des molécules lipophiles (Yala et al., 2001)

Chapitre III

Résistance bactérienne aux antibiotiques

III.1. résistance bactérienne aux antibiotiques**III.1.1. Définition de la résistance aux antibiotiques**

Une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de cet antibiotique au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou de la tuer (Poole, 2004 ; Schwarz et Chaslus-Dancla, 2001). Autrement, si sa CMI est supérieure à la concentration d'antibiotique (non toxique) obtenue lors du traitement. (Frappier-Davignon L, 1959).

III.1.2. Types de résistance bactérienne**III.1.2.1. résistance naturelle**

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle est due à la présence de gènes chromosomiques communs à toutes les bactéries d'une même espèce et transmise à la descendance (Mayer et al., 2000). Elle n'est donc pas transmissible sur le mode horizontal d'une bactérie à l'autre ou entre espèces différentes (Lozniewski et Rabaud., 2006). Par exemple, les quinolones de première génération sont inactives sur les bactéries à Gram positif (Lozniewski et Rabaud., 2006). La résistance naturelle détermine les phénotypes « Sauvages » des espèces bactériennes vis-à-vis les antibiotiques (Mayer et al., 2000).

III.1.2.2. résistance acquise

Ce terme est utilisé pour désigner des processus permettant à des bactéries appartenant à une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques. Cette résistance acquise peut provenir par une mutation chromosomique (plutôt rare) (Chopra et al., 2003) ou par l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides (plutôt fréquent), de bactériophages ou de transposons (Davies, 1997). Les résistances acquises sont héréditaires et transmises de générations en générations (Gansmandel, 2011).

III.1.3. Mécanismes des résistances bactérienne aux antibiotiques

Les bactéries ont développé au cours du temps des mécanismes variés afin d'inhiber l'action des antibiotiques utilisés en thérapeutique (Gansmandel, 2011; Medqual, 2012).

Les principaux mécanismes souvent impliqués simultanément dans la résistance aux antibiotiques sont :

III.1.3.1. inactivation enzymatique

Certaines bactéries sécrètent des enzymes, spécifiques d'un antibiotique ou d'une famille d'antibiotiques, capables d'inactiver ou de détruire l'antibiotique. L'interaction de l'antibiotique avec sa cible est alors supprimée. C'est un mode de résistance très fréquent qui touche essentiellement deux familles d'antibiotiques, les bêta-lactamines et les aminosides (**Gansmandel, 2011**).

III.1.3.1.1. Les enzymes inactivant les bêta-lactamines

Les β -lactamases sont des enzymes hydrolysant les β -lactamines en ouvrant le cycle bêta-lactame et menant à la perte d'un groupement carboxyle (**Ambler, 1980**). Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries Gram négatif (**Medeiros, 1984**).

On distingue plusieurs types.

III.1.3.1.1.1. Les pénicillinases :

Elles inactivent les pénicillines A et G mais sont sans action sur les pénicillines M (oxacilline et cloxacilline) et les céphalosporines (**Pourriat et Martin, 2005**)

III.1.3.1.1.2. Les céphalosporinases :

Ce sont des β -lactamases chromosomiques produites naturellement à bas niveau par un certain nombre d'espèces. Leur localisation est périplasmique. On les retrouve chez les *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*. Elles rendent ces espèces résistantes aux aminopénicillines et aux C1G mais n'altèrent pas la sensibilité à la plupart des C2G, aux C3G ainsi qu'aux acyluréidopénicillines, monobactames et carbapénèmes (**Calgagno F et Lacroix R., 2011**).

III.1.3.1.1.3. Les β -lactamases à spectre étendu

Ces enzymes correspondent à la mutation de certaines pénicillinases. Elles sont plasmidiques, transférables, et sensibles aux inhibiteurs enzymatiques. Elles hydrolysent toutes les β -lactamines jusqu'aux C3G (**Mammedi , 2007-2008**). Les gènes qui codent pour ces enzymes sont portés par des plasmides et coexistent avec les gènes de résistance à d'autres antibiotiques d'où l'origine de la multirésistance des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) (**Spanu et al., 2002 ;Rawat et Nair., 2010**).

On les trouve surtout chez *Klebsiella pneumoniae* et plus rarement chez *Enterobacter*, ou *Escherichia coli*.

III.1.3.1.1.4-Les carbapénémases

Elles hydrolysent les carbapénèmes, et sont d'origines plasmidiques. On peut les rencontrer notamment chez *Pseudomonas aeruginosa* (**Mammedi , 2007-2008**).

III.1.3.2. Diminution de La perméabilité

La perméabilité membranaire intervient dans le contrôle de la concentration de différentes classes d'antibiotiques comme les β -lactamines ou les quinolones via l'expression des porines ou des transporteurs-pompes (**Hancock, 1997 ; Nikaido, 1996.**), les porines permettant le passage des molécules hydrophiles au travers de la couche lipidique. Toute modification du nombre ou de la structure de ces porines affecte la pénétration passive des antibiotiques et donc leur concentration au site d'action (**Gansmandel , 2011**)

L'altération des porines par mutation est à l'origine de résistances acquises aux β -lactamines, soit par une modification structurale d'une porine essentielle, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente (**Kumar et Schweizer., 2005**).

III.1.3.3.Modification de la cible

Ce mécanisme de résistance se manifeste par une diminution de l'affinité entre l'antibiotique et sa cible, consécutive à une modification de la structure de cette dernière. Il touche plusieurs classes d'antibiotiques, notamment les bêta-lactamines, les quinolones et les macrolides (**Lozniewski et Rabaud., 2010; Gansmandel., 2011; Pourriat et Martin., 2005 ; Kayser et al., 2008**).

La modification peut aussi consister en une modification quantitative de la cible. Une hyperexpression par exemple aura pour conséquence la nécessité d'utiliser une quantité supérieure d'antibiotique pour la même efficacité d'action .

III.1.3.3.1 Modification des PLP :

La résistance aux β -lactamines, conférée par les PLPs, peut avoir lieu par des mutations dans les gènes chromosomiques codant pour les PLPs ou par l'acquisition de gènes étrangers codant pour des nouveaux PLPs ayant une affinité différente aux β -lactamines (**Georgopapadakou, 1993**). Ce mécanisme de résistance est majeur pour les bactéries

pathogènes telles que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* et les entérocoques (Zapun, 2008).

III.1.3.3.2 Modification du précurseur du peptidoglycane

Ce mode de résistance se manifeste chez les entérocoques, leur procurant une résistance aux glycopeptides. La résistance consiste au remplacement de l'acide aminé D-Ala terminal du précurseur du peptidoglycane, par un groupement lactate avec pour conséquence de rendre les glycopeptides moins affins (Medqual, 2012).

III.1.3.4. Efflux actif

Les systèmes d'efflux actifs sont constitués de protéines transmembranaires capables de transporter activement du milieu intracellulaire vers le milieu extérieur une variété de substrats suivant le type de pompe impliquée (Quale, 2006).

La plupart des transporteurs sont capables d'expulser hors de la bactérie des antibiotiques appartenant à des classes différentes, entraînant parfois une multirésistance. Les gènes codant pour les pompes à efflux sont parfois situés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons) potentiellement transférables et posent le problème de la dissémination épidémique de la résistance (Gansmandel, 2011; Aires, 2011).

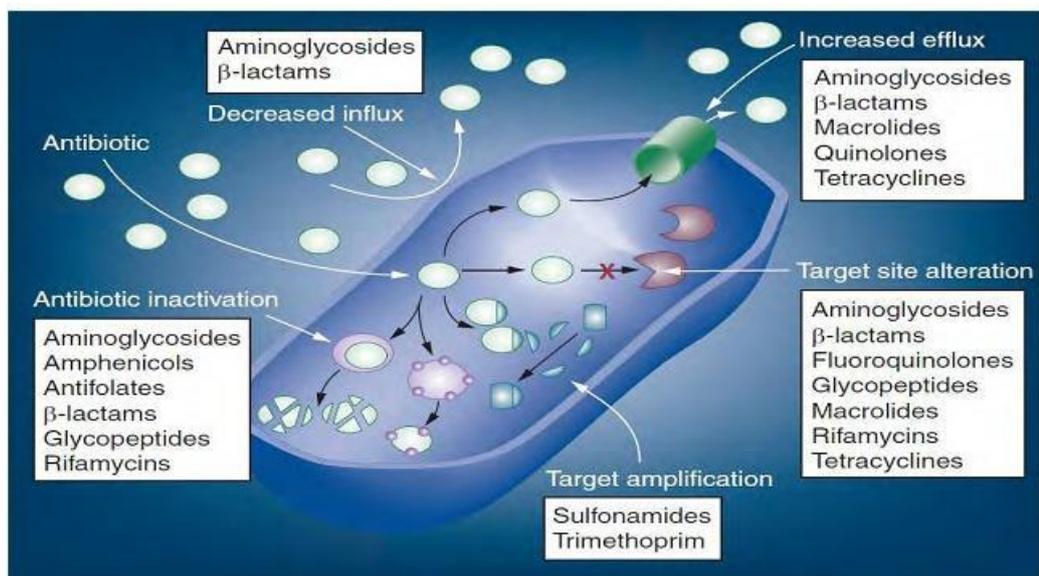


Figure 2: Présentation des mécanismes de résistance aux antibiotiques par les bactéries (Schmieder et al., 2012)

III.2. Les bactéries multirésistantes

III.2.1. Définition de la bactérie multirésistant (BMR)

Les bactéries sont dites multirésistantes aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation des résistances naturelle et acquises elles ne sont sensibles au maximum qu'à un petit nombre qui se situent entre 0 et 3 de familles ou sous-familles d'antibiotiques utilisables en clinique avec une probabilité forte d'inefficacité thérapeutique. (**Andremont , 1997; Vincent .J,2000**).

La multirésistance concerne les bactéries responsables d'infections communautaires (ex:pneumocoques, *bacilles de la tuberculose*) et les bactéries responsables d'infections nosocomiales (IN) ou associées aux soins (**CTIN, 1999**).

III.2.2. Les principales bactéries multirésistantes

III.2.2.1. Bactéries Gram positif

III.2.2.1.1. Les *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM)

Les SARM font partie des premières BMR décrites dans les années 50. Leur prévalence est notée en majorité au sud de l'Europe (**Nastalyp et al., 2010**).

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif qui ont tendance à se regrouper en amas. *Staphylococcus aureus* a pour réservoir naturel l'homme, il peut coloniser la peau et les muqueuses (principalement les fosses nasales) sans causer d'infection. Parfois il réussit à pénétrer la peau par le biais de lésions cutanées et est responsable d'infections cutanées assez banales de type furoncles, abcès et parfois infection des muqueuses. S'il passe dans la circulation sanguine, il peut être à l'origine d'infections graves telles que des endocardites, des arthrites septiques ou encore des infections sur prothèses articulaires (**Pourriat et Martin., 2005**).

Les SARM représentent 5 à 10% des bactéries isolées des IN. Les SARM sont résistants à toutes les β -lactamines et très souvent résistants aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones (**Mainardi et al .,1995**).

Chez les *staphylocoques* la résistance est exprimée par deux grands types de mécanismes qui sont identiques pour les *S.aureus* et les *SCN*: un mécanisme de résistance extrinsèque par production de pénicillinases enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison aux pénicillines

(PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP. (CTIN, 1999; Quincampoix J.C et Mainardi J.L. 2001; Nastaly P et al., 2010).

III.2.2.1.2 L'entérocoque résistant à la vancomycine

Les entérocoques font partie des bactéries qui colonisent le tube digestif de l'homme (Cetinkaya et al., 2000). Il est responsable d'infection humaine, principalement dues à *Enterococcus faecalis* (80 % à 90 % des cas) et à *Enterococcus faecium* (5 à 10 % des cas) tandis que les autres espèces occasionnellement retrouvées sont *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus caseliflavus*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus avium* et *Enterococcus hirae* (Murray BE, 1990).

Neuf types de résistance aux glycopeptides (vancomycine) ont été décrits à ce jour, sur des critères phénotypiques et génotypiques (Courvalin P, 2009 ; Xu X., 2010; Lebreton F., 2010). Huit correspondent à un mécanisme de résistance acquise (VanA, VanB, VanD, VanE, VanG, VanL, VanM et VanN) tandis qu'un seul est une caractéristique intrinsèque d'espèce (VanC chez *E. gallinarum* et *E. casseliflavus*) (Cetinkaya Y., 2000 ; Courvalin P., 2006).

Les types VanA et VanB sont les phénotypes les plus fréquemment retrouvés chez les entérocoques (surtout *E. faecium*) (Courvalin P., 2006)

Ces gènes permettent à la bactérie de synthétiser des précurseurs modifiés du peptidoglycane, cible d'action des glycopeptides, entraînant une diminution de l'affinité des antibiotiques. Le gène vanA est le plus fréquent et confère une résistance de haut niveau aux glycopeptides. Ce gène est localisé sur un transposon rendant son transfert possible à d'autres bactéries. Les autres gènes sont beaucoup plus rares (HCSP., 2010)

III.2.2.2. Bactéries Gram négatif

III.2.2.2.1. Les entérobactéries

Les *entérobactéries* représentent la deuxième cause d'infections graves après les cocci à Gram positif. Elles peuvent aussi devenir multirésistantes, essentiellement par les trois mécanismes qui sont la production d'une bêta-lactamase à spectre élargi, une dérégulation de leur céphalosporinase chromosomique (hyperproduite) ou une production de carbapénémase (Yassine., 2012).

III.2.2.2.1.1 Les entérobactéries sécrétrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE)

La présence de ce -type d'enzyme au sein de souches pathogènes fait peser un risque majeur de transmission d'inadéquation thérapeutique et donc d'échec thérapeutique (Schwaber et Carmeli., 2007).

Au sein des entérobactéries, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont les deux espèces les plus fréquemment porteuses de ces mécanismes de résistance. Toutefois, ces enzymes ont été retrouvées au sein de nombreuses autres espèces bactériennes, entérobactéries et bacilles non fermentants (tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*) (Jacoby et Munoz-Price., 2005).

III.2.2.2.1.2 Les entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC)

Les carbapénèmases constituent un groupe hétérogène d'enzymes dont le spectre d'activité couvre au moins une des carbapénèmes (Grall N et al., 2011).

- *P.aeruginosa* et *A.baumannii*

Les souches de *P.aeruginosa* résistantes aux β -lactamines (ticarcilline, ceftazidime ou imipénème) ont tendance à être résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. Dans les hôpitaux concernés, ces souches doivent faire l'objet d'une stratégie spécifique, notamment une politique de prescription des antibiotiques, et des mesures de contrôle de l'environnement, alors que les souches d'*Acinetobacter baumannii* représentent 2 à 4% des bactéries responsables d'IN, jouent un rôle non négligeable dans certains secteurs hospitaliers (soins intensifs) et sont parfois à l'origine de bouffées épidémiques dans les quelles la contamination de l'environnement des patients porteurs joue un rôle. Certaines souches épidémiques résistantes à l'imipénème conduisent à des impasses thérapeutiques.

Ils sont naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques. Leurs mécanismes de résistances sont variés: production de bêtalactamases, faible perméabilité membranaire et présence de nombreux systèmes d'efflux actifs. Ces bactéries peuvent développer une résistance vis à vis de la céftazidime, du céfépime et de l'aztréonam par hyperproduction d'AmpC qui confère à la bactérie un caractère multirésistant. Elles peuvent également produire une BLSE ou une carbapénèmases (**Strateva T et Yordanov D.,2009, PelegAY et al., 2008**).

L'apparition d'une résistance peut-être plus ou moins stable selon son mécanisme d'acquisition. (**Sidjabat ., et al 2009**).

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

I-Méthodologie

I-1. Présentation du site d'étude

Notre travail expérimental a été réalisé au laboratoire d'analyses de L'EPH « MOHAMED BOUDIEF-Ouargla ». Durant une période de 3 mois allant du mars à mai 2018,

I-1.1. EHSE Ouargla « BOUKHRIS OMAR »

L'établissement hospitalier spécialisé mère et enfant BOUKHRIS OMAR d'Ouargla est un établissement public à caractère administratif, il a la personnalité morale et l'autonomie budgétaire (financière). Il est créé par le décret exécutif n°:07-204 du 30-06-2007. L'établissement a une capacité de 108 lits.

Les services de L'établissement:

L'hôpital contient des services hospitaliers et des services auxiliaires :

1- Services hospitaliers

- service gynécologie
- service grossesse à haut risque (GHR)
- Service maternité (bloc d'accouchement)
- Service suite de couche (S/C)
- Service néonatalogie (NNT)
- Bloc Opératoire

2- Services auxiliaires

- Laboratoire
- Pharmacie
- Biandré et magazines
- L'administration
- La cuisine

I-1.2. l'EPH<< MOHAMED BOUDIEF –OUARGLA>>

C'est un Etablissement Public Hospitalier, il se situe dans le centre ville de la wilaya d'Ouargla. Il a une capacité d'hospitalisation de 625 lits et il comprend 17 services avec 30 lits chacun.

On a deux spécialités dans l'hôpital:**1-Spécialités chirurgicales**

- chirurgie hommes 30 lits
- chirurgie femmes 30 lits
- chirurgie pédiatrie 30lits
- ORL 15lits
- traumatologie 30 lits

2- Spécialités médecine

- médecine interne: *Hommes 30 lits *Femmes 30 lits
- pédiatries 30 lits
- phtisiologie 30 lits
- Post Opératoire (PO) 17 lits
- hémodialyse 15 lits

3-Services techniques

- laboratoire
- service radiologie
- pharmacie

I-2. Prélèvements**I-2.1. Prélèvements à partir de patients****I-2.1.1 Prélèvements du dépistage du portage digestif des EPC et BLSE**

Deux méthodes de prélèvements des selles ont été utilisées dans notre étude :

- **Coproculture** : Pour les malades conscients, on recueille les selles dès leur émission dans un récipient stérile et étiqueté préalablement, puis au niveau du laboratoire, et dans une zone stérile (près du bec bunsen), on choisit un fragment de selle du volume d'une noix avec une abaisse longue stérile et le transférer dans un tube d'eau physiologique (10ml), puis on vortexées pendant 1min)
- **Prélèvement rectal** : Pour les nouveau-nés et les malades inconscients, les prélèvements ont été réalisés par un écouvillonnage rectal.Cette technique consiste à faire poser un écouvillon stérile humidifié avec l'eau physiologique sur le site anal, et après l'échantillon, On place l'écouvillon dans le tube de BHIB(10ml) qui est étiqueté préalablement et le bâtonnet de l'écouvillon est coupé. et ça sera l'étape de pré enrichissement.

I-2.2. Prélèvement à partir de l'environnement

I-2.2.1. Les prélèvements à partir des surfaces

Les prélèvements de surfaces sont effectués par écouvillonnage, l'extrémité d'un écouvillon est humidifiée en le plongeant dans un tube contenant le BHIB, et l'excès de milieu est éliminé en le pressant contre la paroi du tube. A l'aide de l'extrémité de l'écouvillon, des stries parallèles sur la surface à prélever sont tracés en faisant tourner l'écouvillon entre le pouce et l'index. l'échantillonnage de la même zone par des stries perpendiculaires aux premières est répété. l'écouvillon est placé dans le tube de BHIB(10ml)qui est étiqueté préalablement et le bâtonnet de l'écouvillon est coupé. puis les échantillons prélevés sont dirigés vers le laboratoire pour les vortexées (30 sec-1min pour chaque tube) après l'écouvillon est enlevé par un pince stérile devant le bec Bunsen, et ça sera l'étape de pré enrichissement.

I-2.2.2. Les prélèvements à partir de l'air

Les prélèvements de l'air sont effectués par barbotage à l'aide d'une pompe à vide réglée à un débit de 100 L/min, et dans un barboteur on met 60ml de tampon phosphate (pH=7,2), qui est préalablement préparé, ce dernier reçoit les bactéries présente dans le flux d'air aspiré. Après 1 heure d'aspiration, l'échantillon est acheminé rapidement au laboratoire dans son barboteur pour être filtré en utilisant un filtre récupéré à l'aide d'une pince stérile et placé (avec précaution) sur la surface du milieu Mac-Conckey.

I-3. Isolement

Après incubation de 5 heures à 37°C, un enrichissement a été réalisé par ensemencement de 50µl des pré-enrichissements dans 180µl de BHIB additionné de vancomycine (64µg) et de Colistine (4µg) pour la recherche des EBLSE, et dans 180µl de BHIB additionnés de vancomycine (64µg) et d'Ertapénème (1µg) pour la recherche des EPC. Puis on incube à 37°C pendant 24h à 48h.

➤ Pour le dépistage des bactéries des selles et les souches enrichis préalablement dans le BHIB, on utilise la méthode d'ensemencement par stries sur une gélose Mac-Conckey (Conda, Espagne) additionnée d'antibiotiques en poudre:

- Mac plus ertapénème (ERT= 1µg/ml)
- Mac plus colistine (CT=4µg/ml) pour la recherche des EPC

Puis on incube les boîtes à 37°C pendant 24h à 48h.

I-4. Purification, identification et conservation.

Les différentes colonies obtenues sont ré-isolées sur le même milieu d'isolement mais sans antibiotique afin d'obtenir de souches pures.

Nous avons lancé une identification au MALDI-TOF

Pour la conservation, elle a été réalisée à une température de 4°C sur gélose nutritive coulée dans des cryotubes de 2ml par piqure centrale.

I-5. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité des souches identifiées aux antibiotiques est mise en évidence par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton selon les recommandations du comité français de l'antibiogramme de la société française de microbiologie et European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (CASFM_EUCAST_2015).

I-5.1. Inoculum

A partir d'une culture pure de 18h à 24h sur milieu d'isolement, on prélève à l'aide d'une anse de platine 2 à 3 colonies bien isolées qu'on dissocie dans 5ml d'eau physiologique, bien homogénéiser la suspension bactérienne, sa charge doit être équivalente au standard Mc Farland (correspondant à environ 10^8 UFC/ml).

I-5.2. Ensemencement

Après une dilution à 10^{-1} de l'inoculum préparé, l'ensemencement est fait par la méthode d'écouvillonnage ; on trempe l'écouvillon dans la suspension bactérienne, on frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface du milieu gélosé Muller Hinton, de haut en bas, en stries serrées. On répète l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Ensuite on dépose les disques d'antibiotiques et on incube les boîtes à 37°C pendant 24h.

I-5.3. Lecture

On mesure à l'aide d'un pied à coulisse les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques. L'interprétation en sensible (S) intermédiaire (I) ou résistante (R) a été faite selon les critères définis par la société française de microbiologie et European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (CASFM_EUCAST_2015).

Les antibiotiques testés ainsi que leurs charges sont présentés dans le tableau III

Tableau III: Liste des antibiotiques testés (OXOID).

| Antibiotique | Symboles | Familles | |
|--------------------------------------|----------|--------------------|-------------------------------------|
| Amoxicilline +acide .clavulanique | AMC | Amino-pénicillines | Famille des β - lactamines |
| Ceftazidime | CAZ | C3G | |
| Céfotaxime | CTX | | |
| Céfoxitine | CX | C2G | |
| Céfépime | FEP | C4G | |
| Aztréonam | AT | Monobactames | |
| Imipénème | IMP | Carbapénèmes | |
| Ertapénème | ETP | | |
| Tétracycline | TE | | |
| Gentamycine | CN | Aminosides | |
| Amikacine | AK | | |
| Ciprofloxacine | CIP | Fluoroquinolones | |

I-6. Détermination des phénotypes de résistance

I-6.1. Recherche de la production d'une β -lactamase à Spectre Etendu (BLSE) (Jarlier et al, 1988)

- **Principe :** La démonstration phénotypique de la présence de β -lactamase à spectre élargie consiste à mettre en évidence une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamase (l'acide clavulanique) et un disque de C3G.
- **Technique :** Elle consiste à placer des disques de céftazidime, céfotaxime et céfépime (30 μ g chacun) à une distance définie (20mm centre à centre) d'un disque d'AMC (amoxicilline. clavulanique) (20 μ g et 10 μ g, respectivement). Incuber pendant 18 heures à 37°C.
- **Lecture :** L'apparition d'une image de synergie visible entre le disque d'AMC et les disques CAZ, CTX ou FEP indique la production d'une BLSE.

I-6.2. Recherche de la production d'une carbapénèmase par le Carba NP test modifié

Le principe de ce test repose sur la mise en évidence d'une acidification du milieu lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénèmase. Nous avons utilisé le protocole du Carba NP test modifié (**Bakour et al., 2015**).

Un volume de 200µl du tampon de lyse (CTAB 0.02 %) a été dispensé dans un tube Eppendorf. Nous avons dissocié une öse calibrée (10µl) de colonies bactériennes dans le tampon de lyse, ensuite on vortex 1 à 2 min. Nous avons réparti 100µl du lysa bactériens dans 2 tubes Eppendorf numérotés "A" et "B". 100 µL d'une solution de rouge de phénol additionnée de ZnSO₂ à 0.1M à pH ajusté à 7.5 ont été ajoutés au tube « A », et 100µL de la même solution additionnée d'imipénème à 6mg/mL ont été ajoutés au tube « B ». vortexé ensuite incubé à 37°C pendant un maximum de 2h. La lecture visuelle de la couleur a été réalisée dans chaque tube Eppendorf. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une couleur orange/jaune dans le tube "B", tandis que la couleur du tube "A", reste inchangée (Bakour et al. 2015).

Tableau IV: Interprétation des résultats du Carba NP-test modifié.

| | Tube A | Tube B |
|-----------------------------|---------------|---------------|
| Pas de carbapénèmase | Rouge | Rouge |
| Carbapénèmase | Rouge | Orange/Jaune |
| Non Interprétable | Jaune | Jaune |

Chapitre II

Résultats et discussion

II-1- Répartition des prélèvements

Au terme de notre étude qui s'est déroulée au niveau du service de réanimation de l'EPH « MOHAMED BOUDIEF-Ouargla », 132 prélèvements (inerte et vivant), ont été effectués dont 68 prélèvements de surfaces, 40 prélèvements de patients, 12 prélèvements d'air, 05 prélèvements de détergents/désinfectants, 05 prélèvements de personnel et 02 prélèvements de cafards. Aucun résultat positif n'a été signalé pour les patients.

L'objectif était d'identifier les bactéries à Gram négatif (BGN) résistantes aux carbapénèmes en vue de l'amélioration de la prise en charge des patients et de réduire le risque de dissémination des BMR. La répartition des souches isolées par catégorie de prélèvements est représentée dans le **Tableau V**

Tableau V: Répartition des souches isolées par catégorie de prélèvements.

| Catégorie de prélèvements | Nombre de prélèvements | Nombre de souches |
|---------------------------|------------------------|-------------------|
| Surfaces | 68 | 29 |
| Air | 12 | 04 |
| Détergents/ Désinfectants | 05 | 01 |
| Personnel | 05 | 04 |
| Cafards | 02 | 02 |
| Patients | 40 | 00 |
| Total | 132 | 40 |

II-2-Répartition des souches par espèce

L'identification des souches isolées a permis de caractériser 40 souches comme étant des bacilles à Gram négatif. Ces souches sont réparties en trois groupes bactériens à savoir *A.baumannii* qui occupe la première place avec 21(52,5%) souches suivi de *P. aeruginosa* avec 13 (32,5 %) souches et enfin des entérobactéries avec 6 (15%) souches seulement (03 *K.pneumoniae* et 03 *Enerobacter cloacae*). La répartition des souches selon le groupe est présentée dans la **Figure n°3**

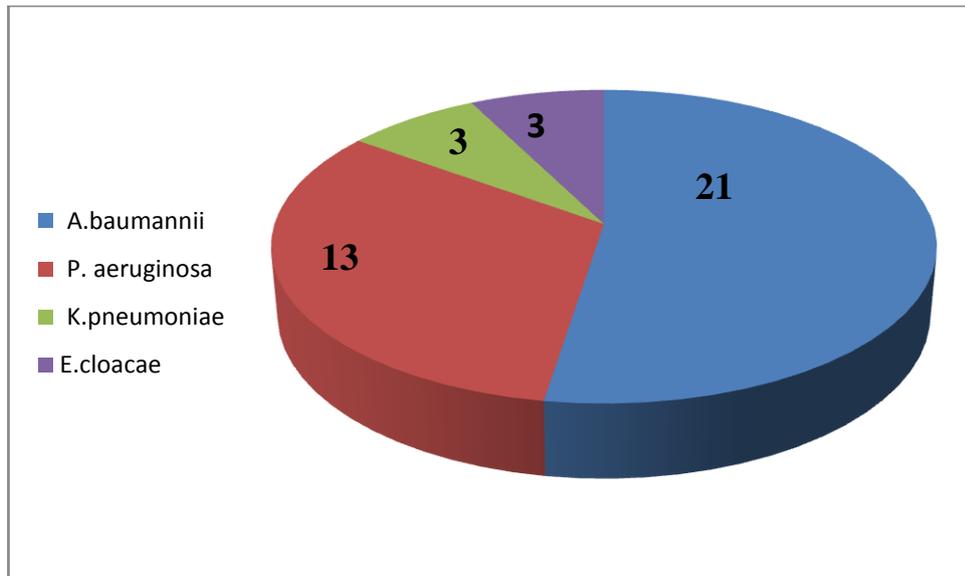


Figure 3: Répartition des BGN par espèce

II-3-Répartition des souches par type de prélèvement

La **figure 4** montre que les souches *A. baumannii* sont les plus isolées à partir des différents prélèvements à savoir des surfaces, de l'air, des cafards et du personnel. Par contre aucune souche n'a été isolée des détergents. Les souches d'entérobactéries sont isolées principalement des surfaces et de l'air.

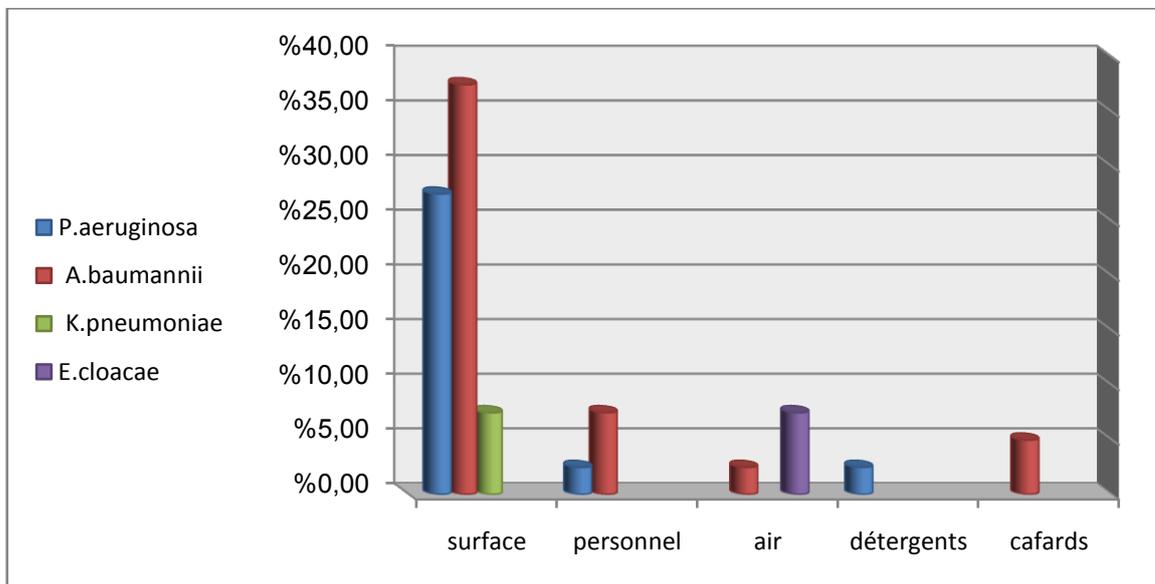


Figure 4: Répartition des souches par type de prélèvement

II-4- Répartition des souches par sites de prélèvement

Le tableau ci-dessous montre la présence des 3 groupes bactériens sur des surfaces à proximité des patients et qui sont isolées principalement à partir des draps et bordures de lits, interrupteur et table de chevet.

La contamination des mains et blouses du personnel soignants ainsi que les agents d'entretiens par des souches *A. baumannii* et de *P. aeruginosa* est également remarqué.

Par contre uniquement des souches de *P. aeruginosa* sont isolés des sanitaires et des détergents. En plus des souches isolées de l'environnement proche du malade, d'autres souches sont isolées à partir des cafards présentent dans la chambre de malade et de la buanderie, du linge ainsi que le matériel utilisés pour son nettoyage.

Tableau VI: Répartition des souches par sites de prélèvements différents

| Sites de prélèvement | | Espèces | Sites de prélèvement | | |
|----------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|
| Salle N°3 | Scope non fonctionnel | <i>K.pneumoniae</i> | Salle N°4 | Scope en marche | <i>K.pneumoniae</i> |
| | Bordure des fenêtres | <i>A. baumannii</i> | | Sonde urinaire | <i>A. baumannii</i> |
| | Bocal d'aspiration | <i>P. aeruginosa</i> | | Respirateur | <i>A. baumannii</i> |
| | Scope | <i>A. baumannii</i> | | Table de chevet | <i>A. baumannii</i> |
| | Respiration | | | Bordure lit | <i>A. baumannii</i> |
| | Bordure lit | <i>A. baumannii</i> | | Bocal d'aspiration | <i>A. baumannii</i> |
| Salle N°6 | interrupteur | <i>A. baumannii</i> | Sanitaire | Robinet | <i>P. aeruginosa</i> |
| | Scope | <i>P. aeruginosa</i> | | Sol toilette | <i>P. aeruginosa</i> |
| | Draps | <i>A. baumannii</i> | | Cuverre | <i>P. aeruginosa</i> |
| | Table de chevet | <i>P. aeruginosa</i> | | Robinet | <i>P. aeruginosa</i> |
| | Cafards | <i>A. baumannii</i> | | | |
| Autre prélèvements | Bureau de personnel | <i>A. baumannii</i> | Buanderie | Machine à lavé | <i>K.pneumoniae</i> |
| | Table des dossiers | <i>A. baumannii</i> | | Casaque | <i>P. aeruginosa</i> |
| | Ecran d'affichage radios | <i>A. baumannii</i> | | Poignée de chariot linge | <i>P. aeruginosa</i> |
| | Sac blanc | <i>P. aeruginosa</i> | | Etagère à linge propre | <i>A. baumannii</i> |
| | Couchage propre | <i>P. aeruginosa</i> | | Cafards | <i>A. baumannii</i> |
| | sanibo | <i>P. aeruginosa</i> | | | |
| Personnel | Médecin | <i>A. baumannii</i> | AIR | Air de la salle de soin | <i>E.cloacae</i> |
| | infirmier | <i>P. aeruginosa</i> | | Air du couloir | <i>E.cloacae</i> |
| | Agent d'entretien | <i>A. baumannii</i> | | Air sanitaire personnel | <i>E.cloacae.</i> |
| | Agent d'entretien | <i>A. baumannii</i> | | Air de la salle N°4 | <i>A. baumannii</i> |

II-5-Etude de la résistance aux antibiotiques

II-5-1- Résistance des souches non fermentaires aux antibiotiques

La figure n°5 montre que la majorité des souches d'*A. baumannii* présentent des taux de résistance très élevés aux β -lactamines (imipénème, aztréonam et céftazédime), aux fluoroquinolones (Ciprofloxacine) et aux Aminosides (Tobramycine). Cependant deux souches seulement présentent un diamètre réduit (13 mm) à la colistine.

31% des souches de *P.aeruginosa* sont résistante à l'imipénème, 15% à la céftazédime et seulement 8 % sont résistantes à la ciprofloxacine, tobramycine et Aztréonam. Tandis qu'aucune souche n'est résistante à la Colistine

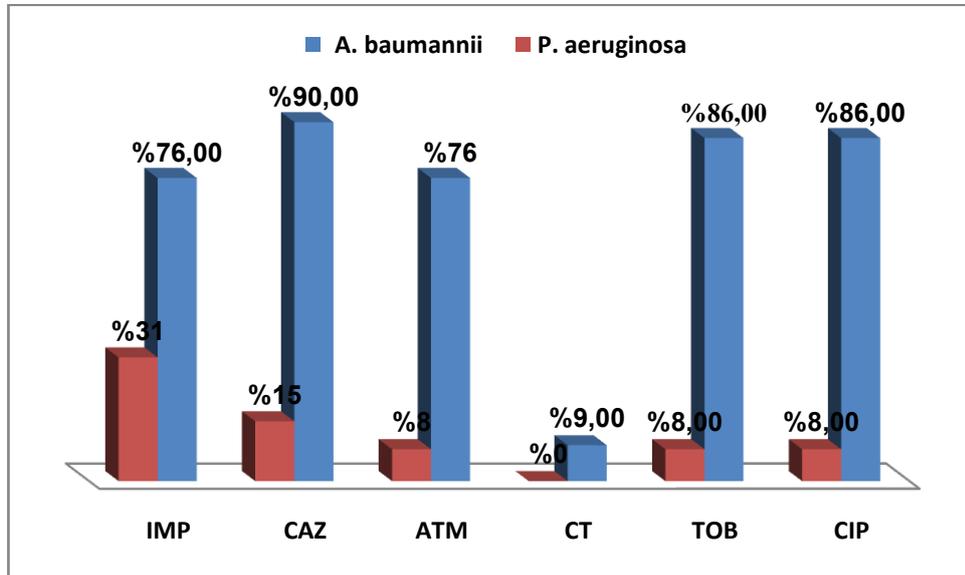


Figure 5: Taux de résistance des souches des BGNnF aux antibiotiques.

II-5-2-Résistance des souches d'entérobactéries aux antibiotiques

La figure n°6 montre que la totalité des souches de *K. pneumoniae* sont résistantes aux β-lactamines ainsi qu'aux aminosides (Tobramycine) et que 2 souches seulement sont résistantes à la Ciprofloxacine.

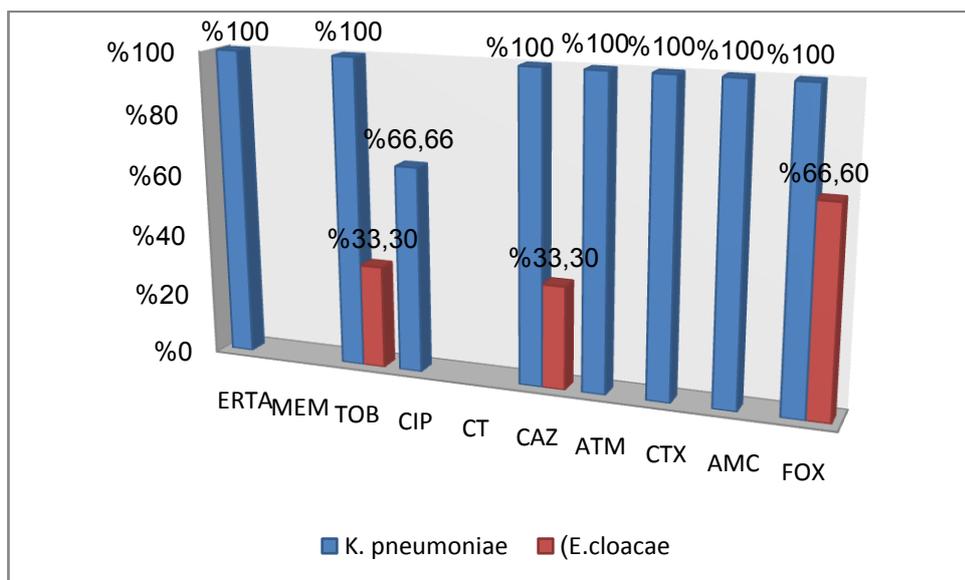


Figure 6: Nombre des souches d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques

II-6-Détermination des phénotypes de résistance aux β-lactamines

II-6-1-Recherche de la production de BLSE par le test de synergie

Le test de synergie réalisé sur les six souches d'entérobactéries n'a révélé aucune image de synergie. Les souches résistantes à la céfoxitine (3 souches de *K. pneumoniae*) sont testées une autre fois par le test de synergie en présence de la cloxacilline à une concentration de 250 µg/ml. Le résultat montre l'absence d'une restauration de l'image de synergie chez les souches testées .

Tableau VII: Le profil de résistance aux antibiotiques des Entérobactéries

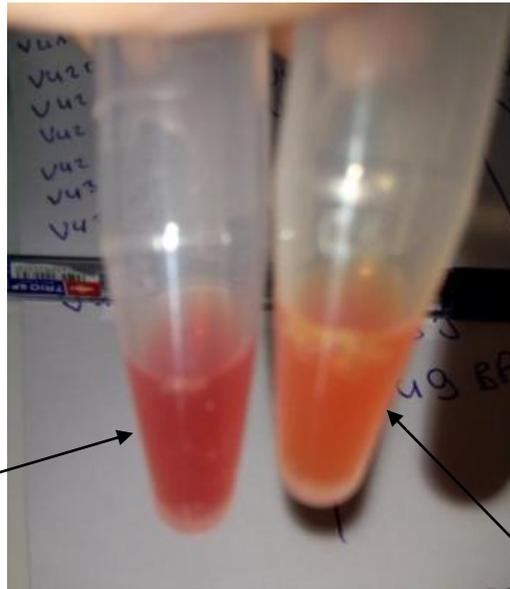
| Code | souches | ERTA | MEM | TOB | CIP | CT | CAZ | ATM CTX | AMC | FOX | BLSE |
|-------------------------------|---------------------|------|------|-------|-------|------|-------|----------------|-------|-------|------|
| BAR02 | <i>K.pneumoniae</i> | I/24 | S31 | R/0,6 | I/20 | S18 | R/0,6 | R/0,6 R/0,5 | R/0,6 | R/0,6 | - |
| BAR16 | <i>K.pneumoniae</i> | R/16 | S/26 | R/11 | S/29 | S/19 | R/0,6 | R/0,6 R/0,6 | R/0,6 | I/16 | - |
| LBAR01 | <i>K.pneumoniae</i> | I/24 | S/29 | R/0,6 | R/0,6 | S/17 | R/0,6 | R/0,6 R/0,6 | R/0,6 | R/0,6 | - |
| Air salle de soin | <i>E.cloacae</i> | S/28 | S/31 | I/17 | S/37 | S/16 | s/23 | S/31 | S/22 | I/18 | - |
| Air sanitaire personnel | <i>E.cloacae</i> | S/30 | S/33 | S20 | S/46 | S/15 | S/25 | S/33 | S/28 | S/22 | - |
| Air couloir | <i>E.cloacae</i> | S/29 | S/31 | S19 | S/37 | S/17 | I/21 | S/30 | S/22 | I/18 | - |

R : Résistante I : Intermédiaire S : Sensible

II-6-2- Recherche de la production de carbapénémases

La recherche d'enzymes ayant une activité de carbapénémases a été systématique chez les souches résistantes et/ou de sensibilité réduite à l'imipénème ou à l'ertapénème, par le test CarbaNPtest.

Le test a été réalisé sur un total de 34 bacilles à Gram négatif, seulement 04 souches d'*A.baumannii* étaient positives pour ce test (**Photo n 1**).



Absence
carbapénémase (-)

Photo 1: Le test CarbaNPtest.

Présence
carbapénémase (+)

Discussion générale

Durant la période d'étude, 40 bacilles à Gram négatif (BGN) ont été collectés, dont 34 souches de BGNnF (21 *Acinetobacter baumannii*(52,5 %) et 13 *Pseudomonas aeruginosa* (32,5%)) avec un taux de 84% ,et 6 souches des entérobactéries avec un taux de tandis que (15 %).

La fréquence élevée d'isolement de ces espèces pourrait être liée à la capacité de survie de ces bactéries sur les surfaces dans l'environnement hospitalier. En effet, de nombreuses espèces Gram-négatives, comme *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* peuvent survivre sur des surfaces inertes, pendant des mois. *Klebsiella* spp.est capable de survivre pendant 2 heures jusqu'à plus de 30 mois, *Pseudomonas aeruginosa* peut survivre 6 heures à 16 mois, et 5 semaines sur des surfaces sèches, *Serratia marcescens* est capable de survivre de 3 jours à deux mois, et 5 semaines sur des surfaces sèches (**Kramer et al., 2006**). En plus, il a été montré que certains antiseptiques tels que la chlorhexidine ou d'hexamidine, ont moins d'efficacité sur *Klebsiella* spp que sur d'autres bactéries, telles que *E.coli* (**Grare et al., 2010**).

Notre étude a montré qu'à partir des prélèvement effectués , *Acinetobacter baumannii* représente 61,7% des souches isolées du groupe des bactéries non fermentantes avec une fréquence d'isolement de 52,5%, ce qui concorde avec les résultats obtenus par l'étude de **Rabhi (2012)** sur la résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants aux antibiotiques : cas de la colistine en réanimation à Tlemcen et **Sefraoui (2011)** sur l'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques des bactéries à gram négatif non hétérofermentaires au niveau du CHU de sidi Bel Abbes avec des fréquences de 61,3% et 65,2% pour *Acinetobacter baumannii*,

De nombreuses études ont rapporté la prédominance des infections dues à *A. baumannii* dans des services de réanimation. Les principaux facteurs de risque dans ces services reconnus dans la littérature sont : la ventilation assistée, l'antibiothérapie à large spectre, la durée de séjour prolongée, le cathétérisme artériel et la sévérité de la pathologie sous-jacente. Par ailleurs, le développement de techniques de réanimation et d'explorations invasives a largement contribué à la recrudescence des infections à *A. baumannii* dans ces services (**Lahsoune et al., 2007**) *Acinetobacter* spp est l'un des agents pathogènes capables de survivre dans des réservoirs hospitaliers et pour lesquels la contamination de l'environnement (**Weber et al., 2010**). *Acinetobacter* spp. peut persister de 3 jours à 5 mois (**Kramer et al.,**

2006). Dans certaines conditions, des espèces d'*Acinetobacter* peuvent survivre pendant 4-5 mois ou plus sur des surfaces sèches (Otter *et al.*, 2011)

P. aeruginosa est une bactérie ubiquiste, saprophyte de l'eau, des matières en décomposition et des végétaux. Ses exigences nutritionnelles modestes lui permettent de survivre et de se multiplier, dans un environnement humide (éviers, siphons, certaines solutions antiseptiques) (Lahlou Amin *et al.*, 2008). Bien qu'il ne fasse pas partie physiologiquement de la flore microbienne commensale de l'homme, il peut coloniser le tube digestif, l'oropharynx et les zones cutanées humides (Richet, 2003)

Dans notre travail, *P. aeruginosa* est parmi les espèces les plus représentées, la fréquence d'isolement est de 32,5%, elle est supérieure à celle trouvée par Jalalpoor (2011) qui était 19,44%. La fréquence élevée de cette espèce pourrait être en partie expliquée par le fait qu'elle peut résister aux désinfectants couramment utilisés en milieu hospitalier (Orji *et al.*, 2005).

Parmi les entérobactéries isolées, dans notre étude 03 souches de *K. pneumoniae* et 3 souches d'*Enterobacter cloacae* avec une fréquence d'isolement de 15%, ce qui diffère complètement aux résultats obtenus par DEBABZA 92,98% des entérobactéries totales. et différentes à (Touati *et al.*, 2010) où les souches EBLSE ont été présentées par seulement deux espèces : *E. cloacae* présentant respectivement 64,29% et *K. pneumoniae* présentant respectivement 35,71% et

Il a été suggéré que les mains du personnel soignant, transitoirement contaminées, constituent la principale voie de transmission des agents pathogènes aux patients, surtout aux malades susceptibles (Kramer *et al.*, 2006), mais des objets contaminés, des surfaces et de l'air peuvent être directement ou indirectement impliqués dans la voie de transmission (Otter *et al.*, 2011)

Dans notre étude, les sites ayant montré des taux de contamination élevés par les BGN sont par ordre décroissant: surfaces, personnel, air, aucune souche n'a été isolée à partir des détergents et des patients (Berthelot *et al.*, 2005),

Relativement peu d'études prospectives ont été menées sur la contamination des surfaces par les Gram négatifs. La fréquence de contamination des surfaces par des bactéries à Gram négatif est d'environ 5% à 10% (Otter *et al.*, 2011) mais dans notre travail, cette fréquence est de 99,59%. Ce taux relativement élevé par rapport à celui rapporté dans la littérature nous laisse à supposer l'excrétion importante des BGN dans l'environnement, mais plutôt à de

grands défauts de désinfection des surfaces. Dans ce dernier cas, il peut s'agir d'une désinfection irrégulière ou des produits peu efficaces

La majorité des sites précédemment cités constituent l'environnement immédiat du patient. Ceci nous a permis de constater d'une part : que la contamination par les 03 groupes bactériens pourrait être le résultat d'une éjection importante de ces bactéries par les patients dans leur proche environnement; et d'une autre part que la présence de telles bactéries multi résistantes dans l'environnement immédiat du patient constituent un risque réel d'acquisition d'infections nosocomiales. En effet, il a été démontré que les sites plus proches au patient sont plus susceptibles de présenter un risque que ceux situés plus loin. Ainsi, la transmission des EBLSE de patient à patient au moyen de surfaces de l'environnement a été rapportée dans plusieurs études (**Guet-Revillet et al., 2012**).

Dans notre étude, Les résultats de l'antibiogramme ont montré que pour la majorité des antibiotiques testés; (IPM, TOB, ATM, CAZ et CIP) les souches isolées ont développé des taux de résistance très élevés sur-tout les souches d'*A. baumannii*. Ce qui leur confère le caractère de multirésistance, Alors que **DEBABZA (2014)** qui étudie l'Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques a constaté que trois antibiotiques (IPM, TOB et CIP) ont conservé une bonne activité sur toutes les souches d'*A. baumannii* étudiées, Cependant **Liaqid (2012)** a enregistré des taux de résistance très élevés, à l'égard de : IPM, TOB et CIP qui ont été respectivement : 80%, 5,71% et 97,14%. Le mécanisme de résistance de cette bactérie peut se référer à la grande diversité des plasmides reçus en lui donnant un grand potentiel d'acquisition des résistances. Aussi, l'utilisation croissante d'antibiotiques à large spectre sélectionne les souches multirésistantes (**Chastre, 2003**). C'est une espèce qui dispose d'un arsenal enzymatique extrêmement vaste et divers pour contrecarrer l'action des antibiotiques (**Mansour et al., 2008**), elle possède des mécanismes de résistances naturelles aux β lactamines, correspondant principalement à la production d'une céphalosporinase (ou β lactamase de type AmpC) chromosomique.

Les isolats des *Pseudomonas aeruginosa* présentent des taux de résistance inférieurs à ceux observés chez *Acinetobacter baumannii* par exemple Le taux de résistance à l'imipénème est de (31%). **Ben Haj Khalifa (2010)** a rapporté un taux de résistance de 18,7. et **Rabhi (2012)**, un taux de résistance de 76,5%, Alors que une étude tunisienne effectuée par (**Benjemaa et al., 2004**) sur Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux antibiotiques des bactéries en cause dans la région de Sfax a enregistré un taux de résistance de 23% à l'imipénème chez *Pseudomonas aeruginosa*.

La résistance à l'imipénème, pourrait être due à un défaut de pénétration suite à une perte de la porine ou d'une hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique (AmpC) (**Decré, 2012**) et peut être expliquée par la forte consommation de l'imipénème dans l'hôpital, où ce composé est prescrit pour le traitement des infections à *Pseudomonas aeruginosa* (**Drissi et al., 2008**). Dans notre étude, les bacilles pyocyaniques ne présentent aucun taux de résistance à la colistine (0%). Ce même constat a été rapporté dans une étude réalisée par (**Boukhatem Louiza, 2013**) sur l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen.

Notre étude montre que la totalité des souches de *K. pneumoniae* sont résistantes aux β -lactamines ainsi qu'aux aminosides (Tobramycine) et à la Ciprofloxacine. Toutefois, le méropénème reste l'antibiotique le plus actif contre ces souches. Ce même constat a été rapporté dans une étude réalisée par **MILOUDI S et KHELIFA S (2017)** sur la Caractérisation de la résistance aux carbapénèmes des souches de bacilles à Gram négatif isolées des résidences universitaires Targa Ouzemour et Ireyahen. mais dans notre étude la colistine aussi reste l'antibiotique le plus actif contre ces souches alors que dans l'étude de **MILOUDI S** *K. pneumoniae* révèle des taux de résistance pour la colistine.

Ce résultat est similaire à celui rapporté par **SOUNA Djahida (2011)** sur l'Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. Cependant, nos souches ont montré des taux de résistance supérieurs à ceux rapportés par (**Abid et al., 2007**) sur *Klebsiella pneumoniae* productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville de Annaba, en ce qui concerne les antibiotiques : AMC (100% contre 52,4%), CTX (100 contre 37%),

Dans notre étude, aucune souche productrice de BLSE n'a été mise évidence par le test de synergie, Dans l'étude de **DEBABZA (2014)**, le taux de contamination environnementale par les entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) était de 12,87% (108 / 839). De même, un taux de 4% (19/ 470) a été rapporté dans une étude américaine prospective (**GuetRevillet et al., 2012**).

Dans notre étude, Le CARBA NP TEST a été réalisé sur un total de 34 bacilles à Gram négatif, nous avons obtenu un résultat positif pour quatre souches d'*A.baumannii*, L'interprétation des CARBA NP TEST est basé sur la mise en évidence de l'hydrolyse d'un carbapénème par les bactéries productrices de carbapénémase. Cette hydrolyse se traduit par

l'acidification du milieu réactionnel entraînant le virage d'un indicateur de pH : le rouge de phénol (Tijet N et *al.*, 2013).

Conclusion

Conclusion

Actuellement, on assiste à l'émergence dans nos structures hospitalières des bactéries Gram négatives multi résistantes aux antibiotiques. La dissémination de ces souches dépend d'une part des « réservoirs » les patients eux-mêmes, le personnel soignant, le matériel médical et l'environnement et d'autre part de la transmission entre germes; car ces agents peuvent bien survivre ou persister sur des surfaces pour des mois et peuvent ainsi être une source de transmission en continu en l'absence de désinfection régulière préventive des surfaces.

Le rôle particulier de l'environnement dans la propagation des bactéries multi résistantes dans les hôpitaux a été longtemps considéré comme négligeable. A l'échelle nationale, très peu d'études ont été faites dans ce contexte, et les données épidémiologiques concernant la fréquence des bacilles Gram négatifs dans l'environnement hospitalier font défaut.

Les résultats de l'identification ont permis de caractériser 40 souches de BGN, dont 15% appartiennent aux entérobactéries, 52,5% aux BGNnf,. La répartition en fonction des espèces a montré que les espèces prédominantes sont : *A.baumannii* ,et *Pseudomonas aeruginosa*. En revanche, de rares entérobactéries ont été isolées : 03 *K.pneumoniae* et 03 *Enerobacter cloacae* .En fonction des services, le laboratoire, les unités des soins et la réanimation ont présenté des fréquences élevées de BGN. Les sites les plus contaminés ont été les surfaces du proche environnement des patients et précisément ceux couramment touchés comme les bords des lits, les lavabos, les tables et les oreillers.

Notre étude montre que l'environnement hospitalier dans l'EPH « MOHAMED BOUDIEF-Ouargla », fréquemment contaminé par les bactéries Gram négatives multirésistances en particulier les bactéries productrices de carbapénémases , et qu'il peut être une source potentielle de ces bactéries. Ces résultats nous incitent à proposer des recommandations au sein des structures sanitaires. Il s'agit particulièrement du renforcement de l'application des mesures générales d'hygiène, et plus précisément l'hygiène des malades et de l'environnement hospitalier, de la sensibilisation du personnel hospitalier concernant ce risque sous-estimé et de la nécessité d'une surveillance adéquate des souches BMR dans l'environnement des hôpitaux algériens.

Références Bibliographiques

-A-

Ablaine ML (2004) Les antibiotiques. Med Sci (Paris), 2004, 26, 11, pp. 960-968 .

Abid F, Boutefnouchet N, Dekhil M, Bouzerna N.(2007) Klebsiella pneumoniae productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville de Annaba, Algérie. Scientific study & Research 2007; VII (2) : 199-214.

Al-Masaudi S.B., Day M.J., Russell A.D. Antimicrobial resistance and gene transfer in Staphylococcus aureus. *Journal of Applied Bacteriology*, 1991, 70:279-290

Aires J. 2011 Les systèmes d'efflux actifs bactériens : caractérisation et modélisation pour quelles perspectives ? tome 164. Bull. Acad. Vét. France

Aggoune-Khinache N., Bensorsa D., Henniche F.Z., Daoudi M., Abdouni M.A., Chabani A., Tiouit D. et Naim M. 2009. Pseudomonas aeruginosa producteurs de métallo-lactamases en Algérie. Médecine et maladies infectieuses; 39: 413-414.

Aminzadeh Z, Sadat-Kashi M, Sha'bani M. 2008. Bacteriuria by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae: isolates in a governmental hospital in South of Tehran. Iran J. Kidney Dis., 2:197-200.

Ambler, R.P. 1980. The structure of β -lactamases. Phil Trans R Soc Lond Biol Sci. 289: 321-331.

Anderson K., Lonsway D.R., Rasheed J.K., Biddle J., Jensen B., McDougal L.K., et al. 2007. Evaluation of Methods to Identify the Klebsiella pneumoniae Carbapenemase in Enterobacteriaceae. J. Clin. Microbiol; 45(8): 2723-2725.

Andersson, D. I., and D. Hughes. 2010. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? Nat Rev Microbiol 8:260-71.

Andrernont, (1997) Laboratoire de Bactériologie, Groupe Hospitalier Bichat-Claude-Bernard et CHU Xavier-Bichat, Université Paris VII, 46, rue Henri- Huchard, 75018 Paris, France

-B-

Ben Haj Khalifa, Khedher M. (2010). Fréquence et profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des hémocultures au CHU de Mahdia. Revue Tunisienne d'Infectiologie. 3 : 92 – 95.

- Beucler A.** Maladies infectieuses : Les antibiotiques, Infectiologie, L'objectif médical, publication Médicafrique, 1990, n° Spécial et hors série. p. 3-16
- Bonilla HF, Zervos MJ, Kauffman CA.** Long-term survival of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on a contaminated surface (letter). *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996; 17 (12): 770-2.
- Boyce JM, Potter-Bynoe G, Chenevert C, King T.** Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : possible infection control implications. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997; 18: 622-9
- Ben Haj Khalifa, Khedher M. (2010).** Fréquence et profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des hémocultures au chu de mahdia. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*. 3 : 92 – 95.
- Benjemaa Z, Mahjoubi F, Ben Haj Hemida Y. (2004).** Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux antibiotiques des bactéries en cause dans la région de Sfax (1993–1998). *Pathol Biol* 52 : 82-8.
- Boukhatem Louiza.,(2013).** Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen. Mémoire de master en microbiologie. Université d'Abou Bekr Belkaid- Tlemcen
- Bryskier A. 1999.** Antibiotiques. Agent antibactériens et antifongiques. Ellipses ; Paris.p : 54- 436-445.
- C-**
- Calgagno F., Lacroix R. (2011).** Pharma-memo Infectiologie. Paris, France : Editions Vernazobres-Greco. 246 p.
- Cavallo J.D.,Fabre R.,Jehl F .,Rapp C.,Garrabé E.,2004.** Bétalactamines.EMC-Maladies infectieuses,1:129-202.
- Cetinkaya, Y., Falk, P. &Mayhall, C., 2000.**Vancomycin-Resistant Enterococci.*Clinical Microbiology Reviews*, Volume 13, pp. 686- 707.
- Chastre J.(2003)** Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU. *Semin Respir Crit Car Med* 2003; 24(1): 069-078.707
- Chopra, I., O'Neill, A., and Miller, K. 2003.** The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bacteria. *Drug Resist Updates*. 6: 137-145.

Comité technique national des infections nosocomiales (CTIN). Maîtrise de la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques– Recommandations pour les établissements de santé. Paris: Ministère de l'Emploi et de la Solidarité; 1999. 23p.

Corpet D.E,1998 Stratégie intégrée d'analyse qualitative et quantitative des résidus de substances antimicrobiennes dans les denrées alimentaires. P 3, 4

Corvalin .A. Consulté le 24 décembre 2018

www.pasteur.fr/actus/presse/dossier/archives/antibio.htm

Courvalin P. (2009) Glycopeptide and enterococci. In : Courvalin R, Leclercq R, Rice L, eds. Antibigram. Paris : ESKA, 2009 : 285-94.

Courvalin P. (2006) Vancomycin resistance in gram-positive cocci. Clin Infect Dis 2006 ; 42 (suppl 1) : S25-34.

Cuzon G., Naas T. et Nordmann P. 2009. Carbapénèmases de type KPC: quel enjeu en microbiologie clinique ? Pathologie Biologie.

CTIN : Comité Technique national des Infections Nosocomiales. Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé : air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé, 2002; 78p

-D-

Davies, J. 1997. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. 207:15-27.

Demoré B, Grare M, Duval R. Pharmacie clinique et thérapeutique 4ème édition. Chapitre 40 : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. Elsevier Masson; 2012.

Debabza Manel.,(2015). Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire. Présentée en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar-Annaba

Decré Dominique. (2012). Acinetobacter baumannii et résistance aux antibiotiques : un modèle d'adaptation. Revue francophone des laboratoires. 441 : 43-52.

Decoster Anne. Résistance aux antibiotiques. [En ligne]. Disponible sur <http://anne.decoster.free.fr/atb/resab.htm> (**Consulté le 30/04/2018**)

Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte SPILF 2014 Mise au point Texte court Diagnostic

http://www.infectiologie.com/site/medias/Recos/2014-infections_urinaires-court.

Drissi M, Poirel L, Mugnier P-D, Baba Ahmed Z, Nordmann P. (2010). Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii*, Algeria. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. DOI: 10/1007/s 10096-010-1011-2. Letter to the Editor.

Dr Mammedi H. (2007-2008). Mode d'action des antibiotiques. [En ligne]. Disponible sur <http://www.upicardie.fr/servlet/com.univ.utils.LectureFichierJoint?CODE=1253972874925&LANGUE=0> (Consulté le 30/04/2014)

Drees M, Snyderman DR, Schmid CH, Barefoot L, Hansjosten K, Vue PM, et al. Prior environmental contamination increases the risk of acquisition of vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 2008; 46(5):678-85.

Duval. J et Souny. C-J (1990)

Antibiothérapie (4^{ème} édition), page 3-58. 1

-E-

Euzéby J.P. Sites et modes d'action des antibiotiques. Abrégé de bactériologie générale et médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2006-2007

Eugenie bergogne -Berezin Antibiotiques antibactériens. Classification, principe et règle d'utilisation. *Revue du praticien* 2001.numero :8 pages 903 à 909

-F-

Farrington M, Brenwald N, Haines D, Walpole E. Resistance to desiccation and skin fatty acids in outbreak strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 1992; 36 (1) : 56-60

Frappier-Davignon L., Frappier A. St-Pierre J. (1959) Staphylococcal infection in hospital nurseries: influence of three different nursing techniques. *Journal of the Canadian Medical Association*, 1959, 81:531-536.

-G-

Galani I., Rekatsina P. D. Hatzaki D., Plachouras D., Souli M. et Giamarellou H. 2008. Evaluation of different laboratory tests for the detection of Metallo-lactamase production in Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*; 61: 548-553.

Gansmadel T. (2006) Etude épidémiologique des résistances d'Escherichia Coli BLSE au centre hospitalier de Valenciennes en 2006. Mémoire pour le DES de biologie médicale. Lille : Université de Lille 2, 2011, 145 p.

Gauthier.E (1993) Les antibiotiques: l'envers du miracle, *L'Agora*, vol. 1, no 3

Georgopapadakou, N.H. 1993. Penicillin-binding proteins and bacterial resistance to β -lactams. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37: 2045-2053.

Gogny. M, Puyt. J-D, Pellerin. J-L (2001) Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire, page 165-168. Editions le point vétérinaire

Grare M, Dibama HM, Lafosse S, Ribon A, Mourer M, Regnouf-de-Vains JB, et al. Cationic compounds with activity against multidrug-resistant bacteria: interest of a new compound compared with two older antiseptics, hexamidine and chlorhexidine. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 432-8

Grall N, Andremont A, Armand-Lefèvre L. (juin 2011) Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? *JAnti-Infect.* juin 2011;13(2):87-102

Guét-Revillet H, Le Monnier A, Breton N, Descamps P, Lecuyer H, Alaabouche I, Bureau C, Nassif X, Zahar JR.(2012) Environmental contamination with extended-spectrum β lactamases : Is there any difference between Escherichia coli and Klebsiella spp ? *American Journal of Infection Control* 2012; 40: 845-8.

-H-

Hajjar H, Hartemann P, Luu-Duc D, Nicolle MC, Perraud M, Bertrou A, Cetre JC, Chapuis C, Guignement S, Fabry J. Vigilance environnementale : Contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier. *HYGIENES* 2000; VIII(3) : 139-179

Hancock, R. E. 1997. The bacterial outer membrane as a drug barrier. *Trends Microbiol* 5:37,42.

Hayden MK, Blom DW, Lyle EA, Moore CG, Weistein RA. Risk of hand or glove contamination after contact with vancomycinresistant enterococcus or the colonized patients' environment. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29(2):149-54

HCSP (Haut Conseil De Santé Publique)(2010) . Rapport relatif à la maîtrise de l'émergence et de la diffusion des entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) dans les établissements de santé français, mars 2010.

Hellalia. K (1999) Pharmacologie fondamentale et clinique a l'usage des étudiant en médecine. ENAG édition. p 135

-J-

Jacoby, G.A., and Munoz-Price, L.S. 2005. The new β -lactamases. *N Engl J Med.* 352: 380-391

Jalalpoor S. Study of the antibiotic resistance pattern among the bacterial isolated from the hospital environment of Azzahra Hospital, Isfahan, Iran. *African Journal of Microbiology Research* 2011; 5 (20): 3317-3320.

Jaques tankovic Antibiotiques antibactériens : Donnée générales sur les modes d'action et les mécanismes de résistance. *Revue du praticien* 2000 N° 4

Jarlier, V., Nicolas, M.H., Fournier, G., and Philippon, A. 1988. Extended-broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis.* 10: 867–878.

Jawad A, Heritage J, Snelling AM, Gascoyne-Binzi DM, Hawkey PM. Influence of relative humidity and suspending menstrua on survival of *Acinetobacter* spp.on dry surfaces. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2881-7.

-K-

Kayser F., Boottger E., Zinkernagel R., Haller O., Eckert J., Deplazes P.(2008) Manuel de poche de microbiologie médicale - 11ème édition Flammarion Ed. Paris, 2008, 800 p.

Knudsen, E., Brown, D. & Rolinson, G., 1962. A new orally effective penicillinase-stable penicillin. *The lancet*, Volume 2, pp. 632-634.

Kramer A, Schwebke I et Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces ? A systematic review. *BMC Infectious Diseases* 2006; 6 (130): 8p

Kumar, A., and Schweizer, H.P. 2005. Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Adv Drug Delivery Rev.* 57: 1486-1513.

-L-

Lahsoune M, Boutayeb H, Zerouali K, Belabbes H, El Mdaghri N. Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii* dans un CHU marocain. *Médecine et maladies infectieuses* 2007; 37: 828-831

Lahlou Amin I, Salord H, Gille Y, Roure C, Tigaud S, Bajou T, Ratbi N, Kassmi H-L. (2008). Pseudomonas aeruginosa et résistance isolée à l'imipénème : clone émergent en milieu hospitalier. *Les techniques de laboratoire.* 11 : 4-9

Lebreton F, Depardieu F, Bourdon N, et al. VanN,(2010) a novel type of transferable vancomycin resistance in *Enterococcus faecium* 08-174. Vienne : European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 10-13 avril 2010 : abstract 926.

Liaïd A. (2012) Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de magister. Option : Maitrise de la qualité microbiologique et du développement microbien. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, 2012, 95 p.

Lozniewski A., Raboud C. (2010) Résistance bactérienne aux antibiotiques. Nancy: CCLIN Sud-Est – juillet 2010

-M-

Mainardi J.L., Shlaes D.M., Goering R.V., Shlaes J.H., Acar J.F., Goldstein F.W.(1995) Decreased teicoplanin susceptibility of methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *J. Infect. Dis.* 1995 ; 171 : 1646-50.

Maîtrise de la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. Ministère de l'Emploi et de la Solidarité. Secrétariat d'Etat à la Santé et à l'action sociale. 1999.

Mansour W, Bouallegue O, Dahmen S, Boujaafar N.(2005) Caractérisation des mécanismes enzymatiques de résistance aux β -lactamines chez des souches de *Acinetobacter baumannii* isolées à l'hôpital universitaire Sahloul, Sousse en Tunisie (2005). *Pathologie Biologie* 2008; 56 (3) : 116-120

Maur. Neuman (1990) Vade-mecum des antibiotiques, 5^{ème} édition.

- Mayer, K., Opal, S., and Medeiros, A. 2000.** Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5 th edition, Churchill Livingstone. 2: 236-253.
- Medeiros, A.A. 1984.** β -lactamases. Bnt. Med. Buli. 40: 18-27.
- Medqual. (2012).** Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. [En ligne].
<http://www.medqual.fr/pro/Marie/RESSOURCES%20ET%20INFORMATIONS/2-THERA/Antibiotique%20Resistance/824-MECANISME-R-ATB-2012.pdf> (Consulté le 06/05/2018)
- Milhaud .G (1978)** L'utilisation rationnelle des médicaments vétérinaire et le temps d'attente, recueil médecine vétérinaire Tome 154/N° 02/p177-185.
- Milhaud .G et Pinault. L (1999)** Législation de la pharmacie vétérinaire. Chapitre III : évaluation des médicaments vétérinaires : Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), limites maximales de résidus (LMR), page 25-40. Editions L
- Miloudi Sabrina et Khelifa Sonia.,(2017).** Caractérisation de la résistance aux carbapénèmes des souches de bacilles à Gram négatif isolées des résidences universitaires Targa Ouzemour et Ireyahen. Mémoire de master en microbiologie en secteur Biomédical et Vétérinaire. Université A. MIRA - Bejaia
- Ministère français de l'Emploi et de la Solidarité.** Comité Technique des Infections Nosocomiales-1999. Maîtrise de la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques.
- Moya B, Juan C, AlbertíS, Pérez JL, Oliver A.(2008)** Benefit of Having Multiple ampD Genes for Acquiring β -Lactam Resistance without Losing Fitness and Virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 1 oct 2008;52(10):3694-700.
- Morin Y., Gillot C.** Larousse médical. Édition / VUEF 2001 **Murray B.E.** New aspects of antimicrobial resistance and the resulting therapeutic dilemmas. *The Journal of Infectious Diseases*, 1991, 163: 1185-1194
- Murray BE. (1990)**The life and times of the Enterococcus.ClinMicrobiol Rev 1990 ; 3 : 46-65.

-N-

Nastaly P, Grinholc M, Bielawski P.(2010) Molecular characteristics of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains for clinical medicine. *Archives of Microbiology*, 2010, vol. 192, n° 8, p.603-617.

Newman DJ, Cragg GM, Snader KM (2003) Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J. Nat. Prod.* **66**: 1022-103

Nikaido, H. 1996.Outer membrane. In: Neidhardt FC, ed. *Escherichia coli and Salmonella. . Cellular and molecular biology* Washington DC: ASM Press.:29-47.

Nordmann P., Carrer A.(2010) Les carbapénèmes des entérobactéries. *Archives de pédiatrie*, vol 17, 2010, pp. 154-162.

Noskin GA, Stosor V, Cooper I, Peterson LR. Recovery of vancomycin-resistant enterococci on fingertips and environmental surfaces. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16 (10): 577-81

-O-

Oie S, Kamiya A. Survival of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on naturally contaminated dry mops. *J Hosp Infect* 1996; 34: 145-9.

Orji MU, Mbata TI, Kalu OU. Isolation of pathogenic bacteria from hospital staff apparel in Nigeria. *Malawi Medical Journal* 2005; 17(4): 128-130

Otter, J.A., French, G.L., 2010, Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet Infect Dis* 10, 227-239.

-P-

Philippon A. Antibiotique I, cour de bactériologie générale. Mise à jour 2004 [http:// www-santé.ujf grenoble.fr/SANTE/pharma/site.fac/antibipc/ANTIBIOT/INDEX.HTM](http://www-santé.ujf-grenoble.fr/SANTE/pharma/site.fac/antibipc/ANTIBIOT/INDEX.HTM).

Prescott LM, Harley JP, Klein DA. Microbiologie. 2ème édition française. De Boeck & Larcier s.a, 2003, 1137p.

Pourriat J-L., Martin C.(2005) Principes de réanimation chirurgicale.- 2ème édition. Arnette groupe liaisons Ed. Rueil-Malmaison, 2005, 1437 p.

Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. (2008) *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *ClinMicrobiol Rev.* 1 juill 2008;21(3):538-82.

Poole, K. 2004."Resistance to beta-lactam antibiotics." *Cell Mol Life Sci.* 61(17): 2200-2223.

Puyt J.D. (2004) Chimiothérapie générale. ENV, Nantes, P 1-38.

http://ww.vet-nantes.fr/html/cours_en_ligne/ (Consulté le 12/01/2018)

Puyt. J-D et Guerin-Fauble. V (2006) Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire. Bases de l'antibiothérapie. Ed 2006, page 1-27.

-Q-

Quale, J., S. Bratu, J. Gupta, and D. Landman. 2006. Interplay of efflux system, ampC, and oprD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 50:1633-41.

Quincampoix J.C.,Mainardi J.L. (2001) Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation* 2001;10:267-75.

-R-

Rabhi F. (2012). Contribution à l'étude de la résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants aux antibiotiques : cas de la colistine en réanimation. Mémoire de master en microbiologie. Université d'Abou Bekr Belkaid- Tlemcen.

Rampling A, Wiseman S, Davis L, Hyett AP, Walbridge AN, Payne GC, Cornaby AJ. Evidence that hospital hygiene is important in the control of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp infect* 2001; 49: 109-16

Rawat D, Nair D. 2010. Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria. *J. Glob. Infect. Dis.*, 2(3): 263–274.

Réseau national de santé publique (RNSP). Proposition pour un plan national d'actions pour la maîtrise de la résistance aux antibiotiques. Saint-Maurice: Réseau National de Santé Publique ; janvier 1999. 93 p. [consulté le 10/01/2012] Disponible sur :http://www.invs.sante.fr/surveillance/resistance/rnsp_janvier1999.pdf

Recommandations relatives aux mesures à mettre en œuvre pour prévenir l'émergence des entérobactéries BLSE et lutter contre leur dissémination HCSP février 2010 Haut Conseil de la santé publique

Richet H. (2003). Prise en charge d'une épidémie à *Pseudomonas aeruginosa*. *Annals Françaises d'Anesthésie et Réanimation.* 2 : 544-547

Rodriguez-Bano J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, Cueto M, Galvez J et al.(2008) Risk-factors for emerging bloodstream infections caused by extended-spectrum

beta-lactamase-producing Escherichia coli. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2008;14(2):180-183.

-S-

SAADAOU,2008 La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassanii de Settat université mouhammed v faculté de médecine et de pharmacie –Rabat.

Schwaber, M.J, and Carmeli, Y. 2007. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteria ceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. J Antimicrob Chemother. 60: 913-920.

Schwarz, S.,and Chaslus-Dancla, E. 2001."Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance."VetRes. 32(3-4): 201-225.

SCHWARZ et al ., 2001

Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. In J Antimicrob Agents 17 (6): 431-7...

Schmieder et al., 2012. Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches. Future Microbiol 7:73-89.

Sefraoui I. (2011). Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques des bactéries à gram négatif non hétérofermentaires au niveau du CHU de sidi Bel Abbas. Mémoire de magister. Université Abou Bekr Belkaïd- Tlemcen

Severin, A., Wei Wu, S., Tabei, K. & Tomasz, A., 2005. High-Level beta-Lactam resistance and cell wall synthesis catalyzed by the mecA homologue of Staphylococcus sciuri introduced into Staphylococcus aureus. Journal of bacteriology, Volume 187, p. 6651–6658.

Singh SB, Barrett JF (2006) Empirical antibacterial drug discovery – foundation in natural products. *Biochem. Pharmacol.* **71**: 1006-1015

Sidjabat HE, Silveira FP, Potoski BA, Abu-Elmagd KM, Adams-Haduch JM, Paterson DL, et al.(2009) Interspecies Spread of Klebsiella pneumonia Carbapenemase Gene in a Single Patient. Clin Infect Dis. 1 déc 2009;49(11):1736-8.

Société de Réanimation de Langue Française. Prévention des infections à bactéries multirésistantes en Réanimation. XVIe Conférence de Consensus en Réanimation et Médecine d'Urgence. Réan. Urg. 1997 ; 6 (2bis).

SOUNA Djahida.,(2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes, Mémoire de Magister en Biologie Option : Biochimie appliquée. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen

Soussy JC., 2008. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Communiqué, disponible à <http://www.sfm.asso.fr>. (Consulté le 22/04/2018)

Somily AM, Habib HA, Absar MM, Arshad MZ, Manneh K, Al Subaie SS, Al Hedaithy MA, Sayyed SB, Shakoor Z, Murray TS. 2014. ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at a tertiary care hospital in Saudi Arabia. *J. Infect. Dev. Ctries.*, 8(9):1129-1136.

Smith, T.& Jarvis, W., 1999. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*. *Microbes and Infection*, Volume 1, pp. 795-805.

Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G. 2002. Occurrence of Extended Spectrum β -Lactamases in Members of the Family Enterobacteriaceae in Italy: Implications for Resistance to β -Lactams and Other Antimicrobial Drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 46(1): 196-202.

Strateva T, Yordanov D.(2009) *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. *J Med Microbiol.* 1 sept 2009;58(9):1133-48.

-T-

Talon D. The role of the hospital environment in the epidemiology of multiresistant bacteria. *J Hosp Infect* 1999; 43: 13-17.

Tijet N, Boyd D, Patel SN, et al.(2013) Evaluation of the Carba NP test for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 4578-80.

Touati A, Zenati K, Brasme L, Benallaoua S, de Champs C. Extended-spectrum β -lactamase characterisation and heavy metal resistance of Enterobacteriaceae strains isolated from hospital environmental surfaces. *Letters to the Editor / Journal of Hospital Infection* 2010; 75(1):78-79.

Trémolières F., Bernard L., Cavallo J.D., Sollet J.P. Faut-il développer de nouveaux antibiotiques ?. médecine et maladie infectieuses 35 (2005) S79-S86.

Tulkens P. Cibles bactériennes des antibiotiques. Pharmacologie générale, Pharmacologie et pharmacothérapie des anti-infectieux, Université Catholique de Louvain, 2002.

-V-

Vernaz N, Huttner B, Muscicono D, Salomon JL, Bonnabry P, Lopez-Lozano JM et al.(2011) Modelling the impact of antibiotic use on antibiotic-resistant Escherichia coli using population-based data from a large hospital and its surrounding community. The Journal of antimicrobial chemotherapy 2011;66(4):928-935.

Vidal. Interactions médicamenteuses. édition Vidal 1997

Vincent. J.(2000). Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français : bilan en 2000 et perspectives de surveillance nationale dans le cadre du Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN)

-W-

Wagenvoort JHT, Sluijsmans W and Penders RJR. Better environmental survival of outbreak vs sporadic MRSA isolates. *J Hosp Infect* 2000; 45: 231-4.

Weber DJ, Rutala WA, Miller MB, Huslage K, Sickbert-Bennett E. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: Norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. *American Journal of Infection Control* 2010; 38(5) (Suppl 1): S25-33

Wei Wu, S., De Lencastre , H. & Tomasz, A., 2001. Recruitment of the mecA gene homologue of *Staphylococcus sciuri* into a resistance determinant and expression of the resistant phenotype in *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacteriology*, Volume 183, pp.2417-2424.

Wendt C, Wiesenthal B, Dietz E, Ruden H. Survival of vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococci on dry surfaces. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3734-6.

-X-

Xu X, Lin D, Guo Y, et al.(2010) vanM gene cluster: a new glycopeptide resistance gene cluster found in a clinical isolate of *Enterococcus faecium*. Vienne : European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 10-13 avril 2010 : abstract 925.

-Y-

Yala. D, Merad A.S, Mohamedi. D, Our korich. N (2001) Classification et mode d'action des antibiotiques, Médecine du Maghreb n°91

Yassine eddayab 2012,Detection des bactéries multirésistantes au laboratoire de bactériologie du chu de limoges,these pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie

-Z-

Zapun, A., C. Contreras-Martel, and T. Vernet.2008. Penicillin-binding proteins and betalactam resistance. FEMS Microbiol Rev 32:361-85.

Annexes

Annexe 1 : Matériels

Anse de platine ;
 Autoclave ;
 Boite Pétri ;
 Bec Bunsen ;
 Bain marie ;
 Écouvillons ;
 Pince ;
 Portoir ;
 Réfrigérateur ;
 Tubes à essai ;
 Micropipette ;
 TubeEppendorf ;
 Vortex.

2. Milieux de culture

| Milieux de culture solides | Milieux de culture liquide |
|--|---------------------------------------|
| Gélose Mac Conkey Gélose Mueller Hinton Gélose Nutritive | Bouillon Infusion cœur cerveau (BHIB) |

3. Antibiotique**a. Antibiotique en poudre :**

- Vancomycine
- Imipénème
- Ertapénème
- Colistine

b. Antibiotiques en disque

| Antibiotique | Symboles | Familles | |
|--------------------------------------|----------|--------------------|--------------------------------------|
| Amoxicilline +acide .clavulanique | AMC | Amino-pénicillines | Famille des β - lactamines |
| Ceftazidime | CAZ | C3G | |
| Céfotaxime | CTX | | |
| Céfoxitine | CX | C2G | |
| Céfépime | FEP | C4G | |
| Aztréonam | AT | Monobactames | |
| Imipénème | IMP | Carbapénèmes | |
| Ertapénème | ETP | | |
| Tétracycline | TE | | Autres familles d'antibiotique |
| Gentamycine | CN | Aminosides | |
| Amikacine | AK | | |
| Ciprofloxacine | CIP | Fluoroquinolones | |

Annexe 2 : Les compositions des milieux de cultures utilisées :

GÉLOSE MAC CONCKEY**COMPOSITION** : en grammes par litre d'eau distillée

| | |
|-------------------------|-------|
| Peptone de caséine..... | 17 |
| Peptone de viande..... | 03 |
| Sels biliaires..... | 1.5 |
| Cristal violet..... | 0.001 |
| Lactose..... | 10 |
| Rouge neutre..... | 0.03 |
| Na Cl..... | 5 |
| Agar..... | 13.5 |
| pH final =7.1 | |

GELOSE MUELLER-HINTON (MH)**COMPOSITION** : en grammes par litre d'eau distillée

| | |
|---------------------------------|-------|
| Infusion de viande de bœuf..... | 300mL |
| Peptone de caséine..... | 17.5 |
| Amidon de maïs..... | 1.5 |
| Agar..... | 17 |
| pH final= 7,4 | |

BHIB en grammes par litre d'eau distillée)

| | |
|------------------------------|-------|
| Porcine Heart Infusion..... | 10.00 |
| Sodium Chloride..... | 5.00 |
| Gelatin Peptone | 10,00 |
| Disodium Phosphate | 2,50 |
| Porcine Brain Infusion | 7,50 |
| Dextrose | 2,00 |
| Final pH 7.4 ± 0,2 | |

Tampon phosphate salin (TPS)

| | |
|--|--------|
| NaCl | 137 mM |
| KCL | 2,7mM |
| Na ₂ HPO ₄ | 10mM |
| KH ₂ PO ₄ | 1,76mM |
| pH=7,4 | |

Annexe 3 : Formulaire:

Date d'isolement : Code :
 Date d'hospitalisation :
 Service d'hospitalisation :
 Motif d'hospitalisation : Sexe : Age :
 Mode d'admission : (direct, mutation, transfert)
 Hospitalisation antérieure :
 Chirurgie antérieure :
 Dispositif invasif :
 Antibiothérapie préalable: oui/non
 Date de début : Antibiotiques administrés :
 Prélèvement (type) : Souche identifiée :
 Milieu d'isolement :
 Méthode d'identification :
 Matériel prothétique :
 Statut immunitaire (immunodépression) : Durée de séjour à l'hôpital :
 Date d'isolement

Antibiogramme réalisé :

| | | | | | | | | | |
|--------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| ATB | | | | | | | | | |
| Diamètre (mm) | | | | | | | | | |
| Catégorie R/S/I | | | | | | | | | |

Annexe 4 : Photo de la méthodologie



Photo 2: Les différents sites du prélèvement de la surface (Originale).



Photo 3: Etapes de prélèvement de la surface et le pré-enrichissement (Originale).



Photo 4: Etapes L'enrichissement (Originale).



Photo 5: Etapes d'isolement (Originale).



Photo 6: Etapes de la Purification (Originale).

1- Préparation d'une suspension inoculum



2. Application des disques et incubation



Photo 7: Etapes d'antibiogramme selon la technique de diffusion en milieu gélosé.
(Originale).

Annexe 5 : Photo les résultats



Photo 8: Enrichissement dans un bouillon B.H.I.B (Originale).



Photo 9: Aspect des colonies des Entérobactéries après isolement dans le milieu MAC CONCKY+CAZ (Originale).



Photo 10: Aspect des colonies des bactérie non fermentaire après isolement dans le milieu MAC CONCKY+CAZ (Originale).



Photo 11: la purification sur milieu MH (Originale).



Photo 12: résultat de la purification (Originale).



Photo 13: résultat de l'antibiogramme (Originale).

Résumé :

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème complexe qui nécessite une attention particulière. Le travail présenté consiste à la recherche des bactéries à Gram négatif (BGN) résistantes aux carbapénèmes isolées des patient et des leur environnement à L' EPH et L'AHSE de Ouargla pour en vue de l'amélioration de la prise en charge des patients et de réduire le risque de dissémination des BMR.

L'identification des souches isolées a permis de caractériser 40 souches comme étant des BGN. *A.baumannii* occupe la première place avec 21 (52,5%) souches suivi de *P. aeruginosa* avec 13 (32,5 %) souches et enfin des entérobactéries avec 6 (15%)

La résistance vis-à-vis des antibiotiques par la méthode de diffusion des disques, montre que la majorité des souches d'*A. baumannii* et de *K.pneumoniae* présentent des taux de résistante très élevés aux β - lactamines et aux aminosides.

L'analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines et aux carbapénèmes a permis de détecter 04 souches d'*A.baumannii* productrices des carbapénémases. l'environnement hospitalier joue un rôle dans l'acquisition de la résistance aux ATB, par l'utilisation excessive ou inappropriée de ces molécules dans les hôpitaux.

Mots clés: BGN, Résistance, ATB, BMR, carbapénèmes, l'environnement hospitalier

Abstract:

Antibiotic resistance has become a complex threat requiring a special attention

The presented work aims to isolate carbapenem-resistant Gram-negative bacteria from patients and their environment at the EPH and AHSE of Ouargla in order to improve patient care and reduce the risk of spread of these MDR.

Identification of isolated Strains has allowed characterizing 40 strains as Gram-negative bacilli (GNB). *A.baumannii* is ranked first with 21strains (52,5%), followed by *P. aeruginosa* with 13strains (32,5 %)and enterobacteria with 6strains (15%)

The results of antibiotic susceptibility testing by the disk diffusion method in agar medium showed that the majority of the isolates of *A. baumannii* and *K.pneumoniae* were highly resistant to β -lactams and to aminosids

The analysis of phenotypic study of resistance to β -lactams, has detected 4 carbapenemase-producing *A. baumannii* strains. The hospital environment plays a role in the acquisition of resistance to antibiotic, through excessive or inappropriate use of these molecules in hospitals.

Key words: hospital environment, Gram-negative bacilli, MDR, antibiotics, carbapenam, resistance

ملخص:

مقاومة المضادات الحيوية أصبحت مشكلة معقدة تتطلب اهتماما خاصا جدا

يهدف هذا العمل إلى البحث عن البكتيريا السالبة لصبغة غرام متعددة المقاومة من المرضى ومحيطهم الاستشفائي من مستشفى محمد بوضياف و مستشفى الام والطفل من اجل تحسين مقاومة المريض و التقليل من مخاطر انتشار البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية.

دراسة السلالات المعزولة سمحت بتحديد 40 سلالة من عصيات سالبة للصبغة غرام *A.baumannii* . تحتل المرتبة الأولى: 21 (52,5%) , ثم تليها *P.aeruginosa* ب: 13 (32,5 %) و في الأخير entérobactéries 6 (15%) .

الحساسية إلى المضاد الحيوي عن طريق انتشار الأقراص في وسط هلامي , تبين أن سائر السلالات اسينيتوبكتار بوماني و كليسيلا بنومونيا أظهرت معدل المقاومة جد عالية لل β لاكتامين و للامينوزيد

تحليل الأنماط الظاهرية المقاومة لل β -لكتامين سمحت بالكشف على 4 سلالة اسينيتوبكتار بوماني منتجة للكربابينيماز

تحليل الأنماط الظاهرية المقاومة ل β لكتامين سمحت بالكشف على 4 سلالة اسينيتوبكتار بوماني منتجة للكربابينيماز , بيقة المستشفى تلعب دورا هاما في اكتساب المقاومة للمضادات الحيوية عن طريق الاستخدام المفرط أو غير المناسب للمضادات الحيوية في المستشفى

الكلمات المفتاحية: المحيط الاستشفائي, عصيات سالبة للصبغة غرام, المقاومة, بكتيريا متعددة المقاومة, مضاد حيوي , كاربابينام