



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Echahid Cheikh Larbi Tebessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de **Master**
En : Sciences biologiques
Option : Microbiologie appliquée

Par :

M^{elle}.Remili Amal Zaara M^{elle}.Gassar khawla M^{elle} .Benkhedir Rayéne

Intitulé :

**Caractérisation phénotypique et évaluation de la
résistance aux agents antimicrobiens de différentes
souches d'origine clinique**

Devant le jury :

M. BOUKOUCHA Mourad	M.C.A	<i>Université de TEBESSA</i>	Président
Mm. TOUMI Nassima	MCB	<i>Université de TEBESSA</i>	Examinatrice
Mm. BENHEDJ Mabrouka	M.A.A	<i>Université de TEBESSA</i>	Rapporteuse
Mm. TOUAITIA Rahima	Docteur	<i>Université de TEBESSA</i>	Co-rapporteuse

Date de soutenance : 08/ 06 / 2023

Remerciement

La présentation de ce modeste travail m'offre l'occasion d'exprimer ma profonde gratitude à madame **Benhadj Mabrouka**, qui a bien voulu diriger ce travail pendant toute la durée de l'expérimentation et la mise en forme du document final.

Ses nombreux conseils ne m'ont jamais fait défaut. Je suis heureux de lui exprimer ici ma respectueuse reconnaissance.

Je remercie également Madame **Touaitia Rahima** pour m'avoir offert l'opportunité de réaliser la plus importante partie de ma mémoire dans son service. J'ai pu bénéficier de ses précieux conseils, de son sens critique et de sa rigueur dans le travail, et son mari **Dr. Boussahia Riadh** il a été très bien accueillant et nous a ouvert son laboratoire **El Nour** pour accomplir notre travail.

Je remercie également monsieur **Boukoucha Mourad**, d'avoir bien voulu accepter de présider le jury de thèse.

Que madame **Toumi Nassima**, trouvent ici l'expression de notre respectueuse gratitude. Nous ne saurions assez les remercier du grand honneur qu'ils nous font en jugeant ce travail.

Je tiens tout particulièrement à remercier tout le personnel du laboratoire.

Dédicace

Je remercie avant tous, Dieu le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il m'a donné durant toutes les longues années d'études afin que je puisse arriver là.

Je dédie ce travail

A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ci que je suis aujourd'hui

a mes parents " Samira & Nadir Benkhedir "

Quoi que je dise ou que je fasse, je n'arrivai jamais à vous remercier comme il se doit. C'est grâce à vos encouragements, vos bienveillances et votre présence à mes côtés, que j'ai réussi ce respectueux parcours. Je souhaite que vous soyez fière de moi, et que j'ai pu répondre aux espoirs que vous avez fondé en moi.

A la joie et le partenaire de ma vie, a mon modèle dans la réussite, a ma source de courage mon fiancé " Djedouani Taha El Amine ".

A mes chers frères Dherar , Taha et soeur Douaa et Habiba

Merci pour vos soutiens moral, vos confiances et vos conseils précieux, qui m'ont aidé dans les moments difficiles.

Je vous souhaite le bonheur et la réussite dans vos vies.

A toute ma famille, ma belle famille et mes amis.

À travers ses lignes je ne peux pas vous décrire tous mes sentiments d'amour, le seul mot que je peux dire est merci, vraiment merci beaucoup à toute personne qui a contribué à la réalisation de ce mémoire

Benkhedir Rayéne .

Dédicace

Je dédie ce travail :

A ma chérie maman Kouka Gassar , mon amie, ma confidente, ma force, qui m'encourage toujours dans ma vie et son soutien tout au long des années d'étude.

Tu représentes beaucoup pour moi, Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi.

Que dieu te donne longue vie et te protège pour moi

Mon père, Mesbah Gassar qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu

faire en sorte que ce travail porte son fruit; Merci pour les valeurs nobles,

l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

J'espère être la fille que vous aviez voulu que je sois, et je m'efforcerai d'être digne de ce que vous auriez souhaité que je sois.

À mes très chers frère, Saif eddin ,Aymen, Zakaria et tout mes sœurs Aya, Ritadj,

Soujoud et Imen Que cette dédicace soit l'expression de mon affection et ma reconnaissance de l'aide précieuse que vous m'avez apporté.

Un merci spécial a mon fiancé Nour Eddin

Ce travail n'est que le fruit de vos conseils, Précieux et de vos encouragements.

Puisse die vous accorde santé, bonheur et longue vie.

À tous mes professeurs: Leur générosité et leur soutien m'oblige de leurs témoigner mon profond respect et ma loyale considération.

À mes amies: Khadidja, Bouthaina, Wassila, Chayma et Marwa avec laquelle j'ai partagé de très bons moments à l'université

Guassar Khawla

Dédicace

Je dédie ce travail

A Dieu Le Tout Miséricordieux, ton amour, ta miséricorde et Tes grâces à mon endroit m'ont fortifiée dans la persévérance et l'ardeur au travail. A ma famille, elle qui m'adoté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis

Aujourd'hui :

A ma très chère mère : Remili Fatiha

Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie.

A mon très chère père : Remili Tidjani

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.

Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur,

quiétude de l'esprit et te protège de tout mal .A mes frères : Saddam ,Bilel et Ahmed

Merci pour m'avoir toujours supporté dans mes décisions. Merci pour tout votre amour et votre confiance, pour avoir aidé à ranger mon éternel désordre et pour votre énorme support pendant la période de mes études Je vous aime beaucoup la joie et le partenaire de vie a le modèle de réussite a mon fiancé Remili Elayachi

Remili amal zaara

Sommaire :

Liste de l'abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

Partie 1 : partie bibliographique

Chapiter1 : les bactéries responsables des infections

1. Les bactéries à Gram négatif3

1.1 .Les entérobactéries.....3

1.1.1.*Escherichia coli*3

1.1.2.*Klebsiella.sp*4

1.1.3.*Prouteus mirabilis*.....5

1.1.4.*Serratia marcescens*.....6

1.2 .Les bactéries Gram négatif non entérobactéries7

1.2.1 *Pseudomonas aeruginosa*7

2. Les bactéries à Gram positif.....8

2.1. *Staphylococcus aureus*.....8

2.2. *Streptococcus.sp*9

2.3.*Enterococcus.sp*.....10

Chapitre 2 : La résistance aux antibiotiques

1. Historique.....12

1. : La résistance aux antibiotiques.....13

1.1. Emergence.....13

1.2. Les bactéries multirésistantes (BMR)14

2.2.1. Les types de BMR.....14

. BLSE (entérobactéries productrices de B-lactamases à spectre étude)14

.SARM (*S.aureus* résistant à la méthicilline).....15

.SARV (*S.aureus* résistant à la vancomycine).....15

.ERV (Enterocoques résistant à la vancomycine).....	15
---	----

Partie expérimentale.

Cadre et objective d'étude.....	16
1. Recherche directe des bactéries.....	16
1.1 Examen macroscopique.....	16
1.2 Examen microscopique	17
1.3 Examen à l'état frais.....	17
1.4 Recherche des bactéries à gram négatif.....	17
1.4.1 Recherche des entérobactéries.....	17
1.4.2 Recherche des bactéries à gram négatifs non <i>enterobactéries</i>	17
1.5 Recherche des bactéries à positif	18
2. conservation	18
3. Identification	18
3.1 Etude des caractères culturaux.....	18
3.2 Coloration de gram	18
3.3 Etude des caractères biochimiques	19
3.3.1 Test catalase.....	19
3.3.2 Recherche des pigments spécifiques de <i>Pseudomonas</i>	19
3.3.3 Test de coagulase.....	20
3.3.4 La galerie miniaturisée API.....	20
3.3.4.1 API 20 E.....	20
3.3.4.2 API NE 20	21
4. Etude de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques.....	22
4.1 Etude de la sensibilité du gram négatif	22
4.2 Etude de la sensibilité du gram positif	23
5. détection des BMR	24
5.1 Recherche des BLSE (test de synergie).....	24
5.2 Détection des SARM.....	25
5.3 Détection des SARV et ERV (test de screening à la vancomycine).....	26

6. Recherche indirecte des bactéries	26
6.1 Mycoplasme	26
6.2 Chlamydia.....	27
3.6 Brucellose.....	28
6.4 Helicobacter pylori (HP).....	30
1. Recherche directe des bactéries.....	32
1.1 résultats d'isolement.....	32
1.2 Identification des souches.....	33
1.2.1 Caractérisation par caractères cultureux.....	33
1.2.2 Caractérisation par test biochimiques.....	36
1.2.2.1 Résultats de l'identification des <i>Entérobactéries</i>	36
1.2.1.2 Résultats de l'identification des souches des <i>Pseudomonas</i>	37
1.2.1.3 Résultats de l'identification des staphylocoques (test coagulas).....	37
2. description de la population d'étude.....	38
2.1 Répartition des souches selon l'origine du prélèvement	38
2.2 Répartition des souches isolées selon l'espèce	40
2.3 Répartition des prélèvements selon le sexe.....	42
2.4 Répartition des prélèvements selon l'âge	43
3. Recherche indirect des bactéries	44
3.1 Résultat de recherche de la brucellose	44
3.2 Résultat de recherche de <i>Helicobacter pylori</i> (HP).....	45
3.3 Résultat de recherche de <i>Chlamydia</i>	45
3.4 Résultat de recherche de <i>Mycoplasme</i>	46
4. Etude de résistance bactérienne aux antibiotiques.....	46
4.1 Etude de résistance bactérienne aux antibiotiques chez les gram négatif.....	46
4.1.1 Les entérobactéries.....	46
4.1.1.1 Taux d'antibiorésistance chez <i>E. coli</i>	46
4.1.1.2 Taux d'antibiorésistance chez <i>klebsiella sp.</i>	47
4.1.1.3 Taux d'antibiorésistance chez <i>Proteus</i>	49
4.1.2 Taux d'antibiorésistance chez les bactéries non entérobactéries (<i>Pseudomonase</i>).....	50
4.2 Taux d'antibiorésistance chez les bactéries gram positive.....	51
4.2.1 Taux d'antibiorésistance chez staphylococcus aureus	51
4.2.2 Taux d'antibiorésistance chez <i>streptococcus sp.</i>	53

4.2.3 Taux d'antibiorésistance chez <i>Enterococcus sp</i>	54
5 Détections de bactérie multi résistance (BMR).....	55
5.1 Recherche des BLSE.....	55
5.2 Détection des SARM.....	56
5.3 Détection des SARV	57
5.4 Détection des ERV.....	58
Conclusion	60
Références bibliographiques	62

Résumé

Annexe

Liste des abréviations

% : Pourcent

°C : Degré Celsius

ADH : Arginine dihydrolase

AK : Amikacine

AMC: Amoxicilline + Acide clavulanique

AML : Amoxicilline

API 20E : Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries)

API 20NE : Analytical profile index 20 Non Entérobactéries

ARA : L-arabinose

ATB : Antibiotique

AZM : Azithromycine

BGN : Bactérie à Gram négatif

BGNnF : Bactérie à Gram négatif non fermentaire

BLSE : β -lactamase à spectre élargi

BMR : Bactérie multirésistante

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

CAZ : Ceftazidine

CFM : Céfixime

CIP : Ciprofloxacine

CLSI : Clinical And Laboratory Standards Institute

CN : Gentamicine

CXM : Céfuroxime

DA : Clindamycine

E. coli : *Escherichia coli*

EBLSE : Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

ERV : Enterococcus résistants à la vancomycine

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FA : Acide fusidique

FF : Fosfomycine

Liste des abréviations

FOT : Céfotaxime

FOX : Céfoxitine

GC : Gélose au cétrimide

GEL : Gélatinase

GLU : Glucose

HP : Helicobacter pylori

IND : Indole

INO : Inositol

K. pneumoniae : Klebsiella pneumoniae

KZ : Céfazoline

LCR : liquide céphalorachidien

LDC: Lysine décarboxylase

LEV :Lévofloxacine

MAN: D-mannitol

MC: Gélose Mac Conkey

MEL: D-melibiose

MH: Mueller Hinton

ml : millilitre

mm : millimètre

Mn : minute

NO₃: Nitrates

NOR : Norfloxacine

OMS: L'Organisation mondiale de la Santé

ONPG: Ortho-Nitrophényl-β-galactoside

ORL : Un oto-rhino-laryngologiste

PRL : Pipéracilline

PV : prélèvement vaginale

R: Résistant

S : Sensible

S300 : streptomycine

Liste des abréviations

SARM: *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SARV : *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine

SASM : *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline

SOR : D-sorbitol

SXT : Triméthoprime-Sulfaméthoxazole

TDA: Tryptophane désaminase

TDA: Tryptophane désaminase

TE : Tétracycline

TRP : L-tryptophane

TTC ; ticracillin+acide clavulanique

UFC : Unités formant colonie

URE : Uréase

VP: VogesProskauer

µg : Microgramme

µl : Microlitre

Liste des figures

N°	Titre de la figure	Page
01	Cellules <i>d'E.coli</i> en phase exponentielle	3
02	<i>Klebsiella pneumoniae</i> sous microscope électronique	4
03	<i>Proteus mirabilis</i> observée au microscope électronique	5
04	<i>Serratia marcescens</i> sur MacConkey	6
05	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> au microscope électronique à balayage	7
06	Colonies de <i>S.aureus</i> sous microscope électronique à balayage	9
07	<i>Streptococcus pyogenes</i> avec fimbriae entourant la paroi cellulaire sous microscope électronique	10
08	<i>Enterococcus faecalis</i> sous microscopie électronique à balayage	11
09	Photographie de la plaque de culture originale du champignon <i>Penicillium notatum</i> faite par Sir Alexander Fleming	13
10	Chronologie de la découverte des principaux antibiotiques	14
11	Test de synergie	25
12	Méthode d'ensemencement de galerie de mycoplasme	27
13	Lecture du test Bioline™ Chlamydia	28
14	Résultat négatif de chlamydia	28
15	Les dilutions du sérum à tester	29
16	Le test rapide On Site <i>H. pylori</i>	30
17	Image illustrative de résultats de test (OnSite <i>H. pylori</i> Ag Rapid Test - Cassette	31
18	aspect des colonies sur Chromagar 148- 108 : <i>Pseudomonas</i> , 151 : <i>Klebsiella</i> , 154 : <i>E.coli</i>	33
19	Aspect de <i>Staphylococcus</i> sur Chromagar	33
20	Aspect d' <i>Enterococcus</i> sur Chromagar	34
21	Aspect des colonies <i>d'E.coli</i> sur MacConkey	34
22	Aspect des colonies de <i>Klebsiella</i> sur MacConkey	34
23	Aspect des colonies d' <i>E.coli</i> sur Hektoen	34
24	Aspect des colonies <i>d'E.coli</i> Sur CLED	35

Liste des figures

25	Aspect des colonies de <i>Pseudomonas</i> sur gélose cétrimide	35
26	Aspect des colonies de <i>Staphylococcus</i> sur chapman	35
27	Aspect des colonies de <i>Staphylococcus</i> sur gélose au sang	36
28	Profil biochimique de la souche <i>Klebsiella oxytoca</i>	36
29	Profil biochimique de la souche <i>Klebsiella Pneumonie</i>	36
30	Profil biochimique de la souche <i>Serratia marcescens</i>	37
31	Profil biochimique de la souche <i>Pseudomonasaeruginosa</i>	37
32	Résultat de recherche des pigments spécifiques de <i>Pseudomonas</i>	37
33	Test coagulase positif d'une souche <i>S.aureus</i>	38
34	Répartition des souches isolées selon l'origine du prélèvement	39
35	Répartition des souches isolées selon la nature du prélèvement	40
36	Répartition des souches isolées selon le Gram	41
37	Répartition des souches isolées selon genres ou espèces bactériens	41
38	Répartition des prélèvements selon le sexe	42
39	Répartition des isolats selon l'âge	44
40	Fréquence des infections a <i>Helicobacter pylori</i>	45
41	Antibiogramme des souches d' <i>E. Coli</i> (photo personnelle)	47
42	Taux de l'antibiorésistance chez souches des <i>E.coli</i>	47
43	Antibiogramme des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (photo personnelle)	48
44	Taux d'antibiorésistance chez des souches <i>Klebsiella sp</i>	48
45	Antibiogramme des souches de <i>Proteus</i> (photo personnelle)	50
46	Taux de l'antibiorésistance chez souches des <i>Proteus</i>	50
47	Antibiogramme des souches de <i>Pseudomonas</i>	51
48	Taux de l'antibiorésistance chez souches des <i>Pseudomonas</i>	51
49	Antibiogramme des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	52
50	Taux de l'antibiorésistance chez souches des <i>Staphylococcus aureus</i>	52
51	Antibiogramme des souches de <i>Streptococcus</i>	53

Liste des figures

52	Taux de l'antibiorésistance chez souches de <i>Streptococcus</i>	54
53	Antibiogramme des souches d' <i>Enterococcus</i>	55
54	Taux de l'antibiorésistance chez souches d' <i>Enterococcus</i>	55
55	Image de synergie BLSE+ des souches de <i>Klebsiella sp</i>	56
56	Image de synergie BLSE des souches d' <i>E.coli</i>	56
57	Test de screening de <i>Staphylococcus aureus</i>	57
58	Test de screening à la vancomycine d' <i>Enterococcus Sp</i>	58

Liste des tableaux

N°	Titre du tableau	Page
01	Liste des antibiotiques testés pour <i>Klebsiella sp</i> et <i>E .coli</i>	22
02	Liste des antibiotiques testés pour <i>Proteus</i> et <i>Serratia</i>	23
03	Liste des antibiotiques testés pour <i>Pseudomonas</i>	23
04	Listes des antibiotiques testés pour <i>S.aureus</i> et <i>Enterococcus sp</i>	23
05	Listes des antibiotiques testés pour <i>Streptococcus</i>	24
06	Les antibiotiques utilisés pour la détection de BLSE	25
07	les types des bactéries isolées	32
08	Répartition des souches isolées selon l'origine selon l'origine de prélèvement	38
09	Appartenance des souches isolées aux différents genres ou espèces bactériennes	41
10	Répartition des prélèvements en fonction du sexe	42
11	Taux d'antibiorésistance chez <i>E.coli</i>	46
12	Taux d'antibiorésistance chez souches des <i>Kebsiella</i>	47
13	Taux d'antibiorésistance chez <i>Proteus</i>	49
14	Taux d'antibiorésistance chez des souches <i>Pseudomonas</i>	50
15	Taux d'antibiorésistance chez <i>Staphylococcus aureus</i>	52
16	Taux d'antibiorésistance chez <i>Streptococcus sp</i>	53
17	Taux d'antibiorésistance chez <i>Enterococcus</i>	54

Introduction

Depuis longtemps, les infections microbiennes occupent la première place dans les pathologies humaines, ils sont dus à l'action des agents pathogènes qui se développent au sein d'un tissu ou d'un organe. Parmi les inquiétudes soulevées par cette problématique, la résistance des bactéries aux antibiotiques qui exige une attention particulière et nécessite la prise de mesures spécifiques. La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement (Zhang et *al.* 2019). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), la résistance bactérienne est devenue un phénomène mondial et croissant, avec des bactéries de plus en plus résistantes, voire résistantes à tous les antibiotiques.

En devenant insensibles à tout traitement, ces bactéries limitent la gamme d'antibiotiques disponibles en thérapeutique médicale. La situation est d'autant plus alarmante que les infections causées par les bactéries résistantes entraînent souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité. L'acquisition de ces multiples résistances a engendré une perte d'efficacité de l'antibiothérapie pour, finalement, conduire à une impasse thérapeutique (Guinoiseau, 2010).

En effet, les bactéries possèdent une capacité d'acquérir des mécanismes de résistance sous l'influence de la pression de sélection exercée par les antibiotiques (Munita et Arias, 2016). Il existait bien sûr des mécanismes naturels de résistance préexistant à cette introduction, mais des résistances sont apparues de novo, notamment vis-à-vis d'antibiotiques entièrement synthétiques tels que les fluoroquinolones. Lorsque le niveau de résistance augmente, l'information suscite l'inquiétude des prescripteurs, qui élargissent le spectre des thérapeutiques empiriques et sélectionnent toujours davantage de résistances, globalement et pas uniquement chez le micro-organisme visé au départ.

L'émergence des bactéries multirésistantes (BMR) au sein d'un établissement est un phénomène multifactoriel (sévérité de l'état clinique des malades, environnement, non-respect ou absence des protocoles visant à maîtriser la transmission croisée, absence d'une politique rationnelle de prescription des anti-infectieux, ...) (Levent et *al.* 2005).

L'épidémiologie des infections aux BMR et hautement résistantes, varie considérablement d'un service à l'autre, d'un hôpital à un autre et d'une région à l'autre. Actuellement, les bactéries qui font l'objet d'une surveillance très particulière dans ce cadre sont : le *Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline (SARM), le *Pseudomonas aeruginosa*

résistant aux Carbapénèmes (PARC), les entérobactéries sécrétrices de Béta-lactamase à spectre étendu (EBLSE), les entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) (Kac et *al.* 2004).

Par ailleurs, le manque de données en région Africaine, maghrébine et algérienne concernant la consommation des antibiotiques et l'état de résistances des bactéries, ne permet pas, d'une part, d'avoir un constat épidémiologique sur l'ampleur de cette multi résistance et d'en détecter les failles à l'origine de cette décadence, et empêche, d'autre part, une mise en place de politiques d'actions locales, régionales ou même à plus large échelle, visant à contrôler la consommation de ces substances actives et d'évaluer l'efficacité des démarches entreprises.

Cette étude avait pour objectifs :

- Dans un premier temps, d'avoir une idée globale sur la prévalence des infections bactériennes communautaires et hospitalières dans la région de Chéria d'un part et de déterminer les facteurs de risque pouvant influencer leurs prévalence d'autre part. Et cela tout en portant un intérêt particulier à l'isolement des bactéries responsables.
- Une fois isolées, les souches bactériennes, feront l'objet de tests visant à déterminer leurs niveaux de résistance à certains antibiotiques, ce qui permet de dresser le profil de résistance de ces bactéries dans un second temps.

Partie bibliographique

Chapitre I. les bactéries responsables des infections

Les bactéries sont les responsables les plus fréquents des infections communautaires et nosocomiales. Elles peuvent être des bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus* mais on trouve plus souvent les bactéries opportunistes : des Entérobactéries, *Pseudomonas*, *Streptocoques...etc* (Nauciel, 2000). Ces bactéries sont surtout remarquables dans les infections vue leurs résistances aux antibiotiques, les mécanismes de cette antibiorésistance sont très nombreux, liés à la pression de sélection qui existe en milieu hospitalier.

1. Les bactéries à Gram négatif

1.1. Les entérobactéries

1.1.1. *Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* ne comporte qu'une seule espèce *Escherichia coli* (*E.coli*) intéressante en bactériologie médicale et qui est l'espèce la plus fréquemment isolée dans le laboratoire d'analyses médicales de bactériologie. *E.coli* (colibacille), est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole. Ce colibacille (figure 01) est l'hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud; c'est un coliforme fécal, germe indicateur de contamination fécale dans les eaux et les aliments (Delarras, 2007).

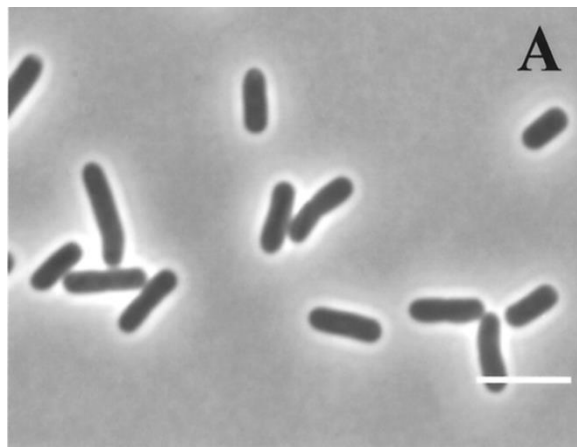


Figure 01. Cellules d'*E.coli* en phase exponentielle (Mañas et ackey, 2004)

Habitat

Concernant l'habitat, on trouve *E. coli* en abondance dans la flore commensale, en particulier dans le tube digestif. Par ailleurs, elle est très répandue dans l'environnement : eau, sols, et aliments (De Champset *al.* 2004).

Pouvoir pathogène

Les colibacilles, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Cependant ils possèdent un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances

(pathogènes opportunistes) (Chagneau et al. 2022). Chez l'homme, la colonisation par *E. coli* est précoce, et peut être responsable d'un nombre varié de pathologies. Toutefois, trois types de syndromes majeurs résultent de l'infection par des souches d'*E.coli* pathogènes: les infections urinaires (impliqué dans 80 % des infections urinaires), les infections digestives (diarrhées, infections hépatobiliaires et autres), les méningites néonatales et les septicémies (Jaureguy, 2009).

1.1.2. *Klebsiella sp*

Le genre *Klebsiella* a été nommé par Trevisan en 1887 pour honorer Klebs Edwin, un microbiologiste Allemand du 19ème siècle. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*, connue autre fois sous le nom de pneumo-bacille de Friedlander. Ce dernier avait décrit cette bactérie dans les poumons d'un patient décédé d'une pneumonie (Freney et al. 2000). Les bactéries appartenant au genre *Klebsiella* sont des bacilles à Gram négatif (figure02), immobiles, diplobacilles généralement capsulées, non sporulées, anaérobies facultatifs (El Fertas-Aissani et al. 2012) .

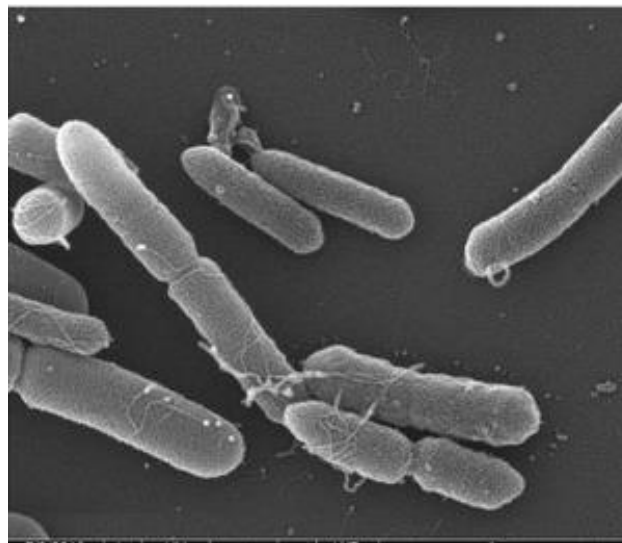


Figure 02. *Klebsiella pneumoniae* sous microscope électronique
(Sharma et al. 2019)

Habitat

Klebsiella est répandue dans la nature on peut l'isoler de l'eau, de végétaux, sol et d'aliments divers. Cette espèce est rencontrée dans la flore fécale de 30 à 40% des animaux et de l'homme (bactérie ubiquitaire présente dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des hommes et des animaux en tant que bactérie commensale), elle végète sur la peau, les muqueuses et les vois respiratoires supérieures. Fréquente dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale (Avril et al. 2000)

Pouvoir pathogène

Chez l'homme, *K. oxytoca* et *K. pneumoniae subsp. pneumoniae* sont responsables d'infections diverses : infections suppuratives, infections biliaires, infections hépatiques, infections intra-abdominales. Certaines souches de *K. pneumoniae subsp. pneumoniae* sont responsables des diarrhées chez le jeune enfant (Yarza et al. 2010).

K. pneumoniae subsp. ozaenae est responsable d'une rhinite chronique atrophique décrite sous le nom d'ozène. Cette infection se manifeste par une ulcération chronique de la muqueuse nasale pouvant aboutir à une perforation du cartilage nasal, accompagnée de décharges nasales purulentes (Podschn et Ullmann 1998).

1.1.3. *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis (*P. mirabilis*) est un bacille très polymorphe (figure 03). Dans une culture jeune, il peut exister des formes courtes et des formes longues. Sont des souches très mobiles pourvues de longs flagelles (Avril et al. 1992).

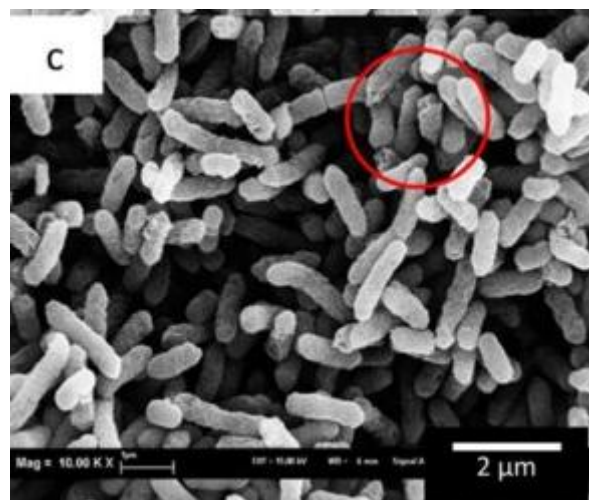


Figure 03. *Proteus mirabilis* observée sous microscope électronique (Jalil et al. 2020)

Habitat

Le genre *Proteus* fait partie des bactéries de la flore intestinale humaine normale, il est également rencontré partout dans l'environnement (le sol, les eaux de surface et les eaux d'égout), en milieu hospitalier, où il colonise à la fois la peau et la muqueuse buccale des patients et du personnel hospitalier. L'infection se produit principalement à partir de ces réservoirs. (Nauciel et Vildé, 2005; Frenod, 2006).

Pouvoir pathogène

P. mirabilis est responsable de 90% des infections acquises dans la communauté. Ces bactéries sont avant tout responsables d'infections urinaires. Une anomalie de l'appareil

urinaire ou un diabète sont des circonstances favorisant la survenue de ces infections qui peuvent être à l'origine de septicémies. Ces bactéries sont aussi isolées de produits pathologiques variés: sécrétions trachéobronchiques, brûlures, pus divers. Des méningites à *Proteus* ont été décrites chez le nourrisson. Ces espèces sont souvent présentes en grande quantité dans les selles lors des diarrhées par dysmicrobisme intestinal (Avril et *al.* 2000; Frenod, 2006).

1.1.3. *Serratia marcescens*

Les espèces de *Serratia* sont des bactéries anaérobies chimio-organotrophes conditionnellement hypotrophes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. (Grimont, 1992). C'est un bacille Gram négatif d'une longueur de 0,9-2 µm et d'un diamètre de 0,5-0,8 µm. (Van Houdt et *al.* 2007). Ils ont des flagelles qui leur permettent de nager et de se déplacer avec différenciation et sont omniprésents dans le sol, l'eau et les surfaces végétales. De nombreuses espèces produisent un pigment rouge à rose appelé prodigiosine (figure 03), qui est plus facile à détecter lorsqu'il est incubé à 30 °C qu'en milieu sans phosphate à 37 °C (Grimont, 1992).



Figure 04. *Serratia marcescens* sur MacConkey (Basam Basim Mohammed et *al.* 2020)

Habitat

Serratia se développe dans des environnements humides et se trouve dans le sol, l'eau, les plantes, les animaux et les intestins humains et colonise souvent dans les hôpitaux avec le port prolongé de dispositifs médicaux tels que les bronchoscopes, les cathéters urinaires et les approvisionnements en eau. Les signatures du personnel médical ont également été rapportées (Katri et *al.* 2010).

Pouvoir pathogène

Ils provoquent un large éventail d'infections, y compris la bactériémie, la pneumonie, les infections liées aux cathéters IV, l'ostéomyélite, l'endocardite et rarement l'endophtalmie endogène et exogène. (Marinella et Warwar, 1998). Les symptômes de l'endophtalmie apparaissent peu après l'infection et peuvent inclure de la fièvre, un érythème, des douleurs oculaires, un gonflement périorbitaire et une sinusite (pus dans l'œil). La mortalité due à la bactériémie causée par *Serratia spp* augmenté à 37% après 6 mois d'infection (Engel et al. 2009). L'infection à *Serratia* du nouveau-né est fréquente (11 à 15 % des nouveau-nés en réanimation) et variable : infection du sang (42 %), conjonctivite (26 %), pneumonie (13 %), infection urinaire (8 %) et méningite. (7%) et infection de la plaie chirurgicale (Dessi et al. 2009).

1.2. Les bactéries Gram négatif non entérobactéries

1.2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) est une bactérie aérobie stricte, mobile, produisant souvent des pigments diffusibles et naturellement résistante à de très nombreux antibiotiques (Chagneau et al. 2022). Il possède souvent des granulations plus fortement colorées (Hafiane et Ravaoarino, 2008). *P. aeruginosa*, bacille pyocyanique, du grec *puon* (pus) et *kuanos* (bleu foncé), et du latin *aeruginosus* (couvert de rouille). Isolé en 1882 par Gessard. C'est l'espèce la plus connue et la plus répandue du genre *Pseudomonas*. Elle est également la plus pathogène, elle constitue l'espèce-type du genre (Avril et al. 1992).



Figure 05. *Pseudomonas aeruginosa* sous microscope électronique à balayage.

(Gellen, 2007).

Habitat

C'est une bactérie ubiquiste qui vit normalement à l'état saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Elle résiste mal à la dessiccation. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux. Le bacille pyocyanique peut survivre et se multiplier dans une infinie variété de liquides et de milieux, de supports et de matériels, surtout s'ils sont humides (Nauciel et Vildé, 2005). Par ailleurs, ces bactéries sont souvent présentes en milieu hospitalier dans des habitats liés à la présence humaine (malades, visiteurs, personnel), aux activités du personnel médical et aux produits liquides utilisés (Delarras, 2007).

Pouvoir pathogène

Considéré comme une bactérie pathogène opportuniste c'est le germe type des infections hospitalières ou nosocomiales (Nauciel et Vildé, 2005). La bactérie n'est pas pathogène pour le sujet normal, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques (en particulier chez les sujets atteints de mucoviscidose), pulmonaire (chez les immunodéprimés ou les malades ventilés), oculaires (kératite ou endophtalmie) et ostéo-articulaires. Elle peut aussi surinfecter des lésions cutanées (brûlures), les plaies traumatiques ou postopératoires; provoquer des otites externes (pouvant évoluer de manière invasive chez les sujets âgés et diabétiques), des septicémies (en particulier chez les neutropéniques) ainsi que des endocardites (chez les toxicomanes) (Nauciel et Vildé, 2005).

2. Les bactéries à Gram positif**2.1. *Staphylococcus aureus***

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif qui tendent à se regrouper en amas (figure 06). L'espèce, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), aussi appelé le Staphylocoque doré, tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales (Nauciel et Vildé, 2005). *Staphylococcus aureus* est l'espèce majeure, qui peut être d'origine humaine, animale (volaille, bovin, ovin, caprin...etc), environnementale ou non spécifique (Delarras, 2007).

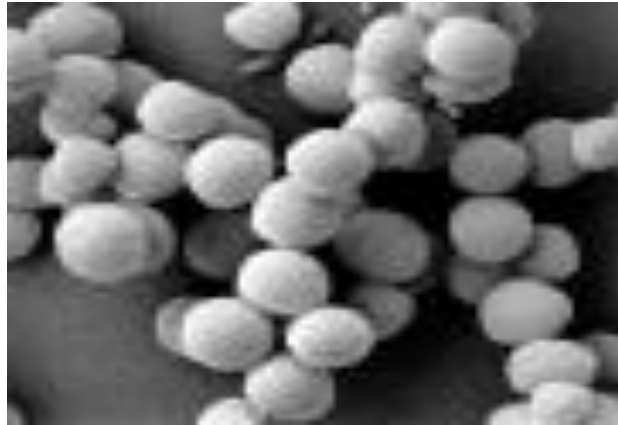


Figure 06. Colonies de *S.aureus* sous microscope électronique à balayage (Masters et *al.* 2021).

Habitat

Les staphylocoques sont des germes ubiquistes qui peuvent vivre en bactéries saprophytes dans la nature (sols, air, eaux...*etc*) et en bactéries commensales sur la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux (mammifères). Chez l'homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses (principalement les fosses nasales) et des zones cutanées humides (périnée, aisselles) (Nauciel et Vildé, 2005), en bactéries pathogènes, agents responsable d'infections humaines ou animales qui peuvent être redoutables. Cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement (Werckenthin et *al.* 2001).

Pouvoir pathogène

S. aureus, une bactérie à coagulase positive, est fréquemment rencontrée chez l'homme. Elle peut être responsable d'infections cutanées (impétigo, furoncles...*etc*), infections de la sphère ORL (sinusites, otites...*etc*), infections septicémiques redoutables, d'infections nosocomiales, ainsi que les intoxications alimentaires individuelles ou collectives (Delarras, 2007).

2.2. *Streptococcus sp*

Les bactéries des genres *Streptococcus* et *Enterococcus* sont des cocci à Gram positif (figure07), catalase négative, à métabolisme anaérobie. Le genre *streptococcus* rassemble les streptocoques *sensu stricto* et le pneumocoque. Le genre *enterococcus* regroupe les streptocoques du groupe D, sauf *Streptococcus bovis* (Prescott 2018).

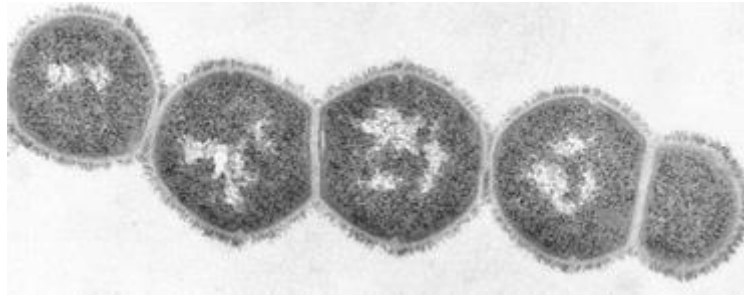


Figure 07. *Streptococcus pyogenes* avec fimbriae entourant la paroi cellulaire sous microscope électronique (Hossain, 2014).

Habitat

Les streptocoques regroupent de nombreuses espèces. Certaines sont des parasites de l'espèce humaine (streptocoques des groupes A, C et G de LANCEFIELD), d'autres des commensaux de la muqueuse buccale (streptocoques du groupe B et streptocoques non groupables et non hémolytiques) ou de la muqueuse génitale (groupe B) ou de l'intestin (anciens streptocoques du groupe D ou entérocoques considérés maintenant comme faisant partie d'un genre à part, le genre *Enterococcus*). D'autres encore sont des commensaux des animaux ou des saprophytes (Prescott 2018).

Pouvoir pathogène

Les streptocoques sont, après les staphylocoques, les bactéries pyogènes n° 2. Le plus pathogène d'entre eux est le streptocoque bêta-hémolytique du groupe A de LANCEFIELD, appelé *Streptococcus pyogenes*, qui est responsable de la majorité des affections provoquées par les streptocoques. Les réactions immunologiques de l'hôte infecté par *S.pyogenes* sont beaucoup plus complexes que celles qui s'observent lorsqu'il est infecté par *S.aureus* et peuvent conduire à la formation d'anticorps spécifiques à un taux élevé et d'auto-anticorps (Plainvert, 2013).

2.3. *Enterococcus*

Les entérocoques sont des bactéries à Gram positif, immobiles (sauf *E. casseliflavus* et *E. gallinarum* qui sont mobiles à 30°C), non capsulés, non sporulés qui se présentent sous forme de coques isolés ou arrangés en paires ou en chaînettes et dont le génome contient un faible pourcentage en G+C (37,5 à 44 %). Les entérocoques sont des organismes anaérobies aérotolestants, oxydase et catalase négatives (Lancefield 1933). Ces bactéries sont également utilisées dans l'industrie agro-alimentaire et rentrent dans la composition de certains probiotiques du fait de la production de bactériocines par certaines espèces (Celiberto et al. 2017; Franz et al. 1999).

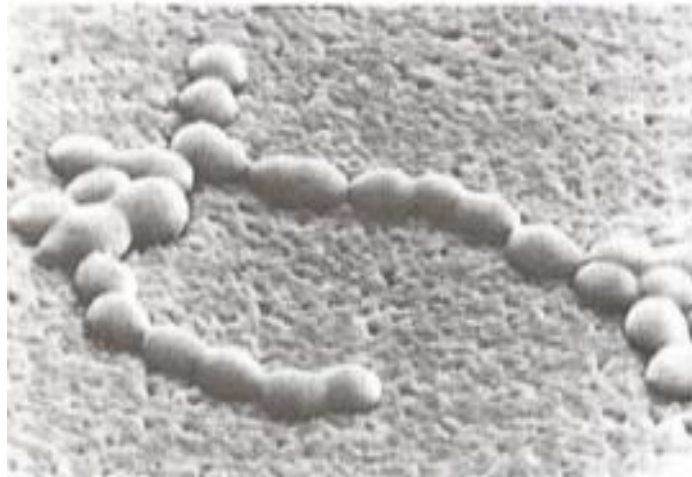


Figure 08. *Enterococcus faecalis* sous microscopie électronique à balayage (Singleton, 2005).

Habitat

Les entérocoques sont des germes ubiquistes (Delarras, 2007). Ils sont caractérisés par des propriétés intrinsèques qui leur permettent de se répondre un peu partout dans la nature. Ils sont largement répartis entre le tube digestif de l'homme, les autres mammifères, les oiseaux, les plantes, le sol et l'eau (Klein, 2003).

Les entérocoques appartiennent à la microflore commensale du tractus gastro-intestinal des animaux. De ce fait, il existe de fortes probabilités qu'ils contaminent la viande au cours de l'abattage (Franz et al. 2004). Leur adaptabilité à différents écosystèmes a permis de retrouver trois clones d'*E. faecalis* et d'*E. casseliflavus* dans du lait, dans du fromage ou dans des matières fécales humaines (Gelsomino et al. 2002), avec une concentration de 10^5 à 10^7 ufc/g (Kayser, 2003). Les entérocoques les plus fréquemment isolés dans les fèces de l'homme sont *E. faecalis*, *E. faecium* et *E. durans* (Murray, 1990 ; Leclerc et al. 1996).

Pouvoir pathogène

Les entérocoques sont des germes opportunistes qui peuvent être responsables d'infections chez les patients fragilisés (Boisson et Mimoz, 2018). Il peut être pathogène opportuniste et causer des auto-infections, ainsi que des infections d'origine exogène. Ce sont des bactéries commensales des muqueuses génito-urinaires (urètre). Les espèces les plus pathogènes pour l'homme restent *E. faecalis* (80% des cas) et *E. faecium* (5-10% des cas). Dans la majorité des cas, les entérocoques sont responsables d'infections urinaires, d'infections abdominales d'origine intestinale, de septicémies, ou encore d'endocardites à porte d'entrée urinaire, génitale ou intestinale (Denis et al. 2010).

Chapitre II : La résistance aux antibiotiques

1. Historique

Il a été rapporté depuis l'antiquité, que les « moisissures » avaient un effet curatif, et étaient ainsi utilisées pour traiter des infections bactériennes. Certaines études, notamment au XIX^{ème} siècle, montraient que la croissance bactérienne était inhibée lorsque la bactérie était co-cultivée avec une « moisissure » (Sebald et Hauser, 1995).

Mais c'est au XX^{ème} siècle que la majorité des antibiotiques ont été découverts, ce qui représente un tournant dans l'histoire des antibiotiques, car on ne va plus se contenter d'observer mais on va chercher à reproduire l'effet antibiotique. Les découvertes se sont enchaînées, des années 20 aux années 70, période communément appelée « *Golden Age* », le premier antibiotique de cette nouvelle pharmacopée étant la pénicilline.

Bien que le médecin major Ernest Duchesne ait été reconnu comme le précurseur de l'étude de « l'action antibiotique du *penicillium* » (Organe Officiel de la Société Française d'Histoire de la Médecine 2002), c'est à Sir Alexander Fleming que l'on doit la découverte de la pénicilline, en 1928. Il avait remarqué que la croissance de ses cultures de staphylocoque était inhibée par la moisissure *Penicillium notatum*, provenant des cultures de son voisin de paille (figure 09). A l'aide d'un chimiste, il parvint à concentrer la pénicilline, mais pas à la stabiliser, ne permettant pas son utilisation comme traitement (Duckett, 1999).

C'est à la fin des années 30, qu'une équipe d'Oxford parvint à synthétiser et stabiliser la pénicilline, en vue d'une utilisation curative. Cependant, Sir Alexander Fleming interpelle et met en garde déjà à l'époque sur le fait qu'une utilisation incorrecte (en petite dose ou sur une période trop courte) de la pénicilline, entraîne le développement de résistances. D'ailleurs, il est rapporté que *Staphylococcus* avait déjà développé une résistance à la pénicilline avant son introduction sur le marché (Hede, 2014). Aussi inquiétant que cela puisse être, depuis les années 2000, très peu de nouveaux antibiotiques ont été découverts. Néanmoins l'espoir renaît avec la découverte de la teixobactine dont le spectre est étendu aux bactéries Gram-positif (Ling et al. 2015), et la darobactine qui vise quant à elle les bactéries à Gram-négatif (Imai et al. 2019).



Figure 09. Photographie de la plaque de culture originale du champignon *Penicillium notatum* faite par Sir Alexander Fleming (Guilfoile, 2007)

1. La résistance aux antibiotiques

Selon l’OMS : la résistance aux antibiotiques se caractérise par le changement de réponse des bactéries suite à l’exposition à ces molécules.

1.1.Émergence

Considérés comme le « remède miracle » depuis la seconde guerre mondiale, les antibiotiques ont été utilisés à outrance depuis leur découverte, aussi bien pour soigner que pour protéger les humains, les animaux ou les végétaux. La surexposition des bactéries aux antibiotiques a contribué à l’apparition de phénotypes résistants à ces molécules. En effet, les bactéries ont deux avantages sur l’espèce humaine : elles se multiplient rapidement et peuvent s’échanger du matériel génétique. Ceci leur permet de répandre les phénotypes résistants. De ce fait, le phénomène de résistance est apparu presque aussi rapidement que les antibiotiques eux-mêmes, et semble s’accélérer au fil des ans (Figure 10).

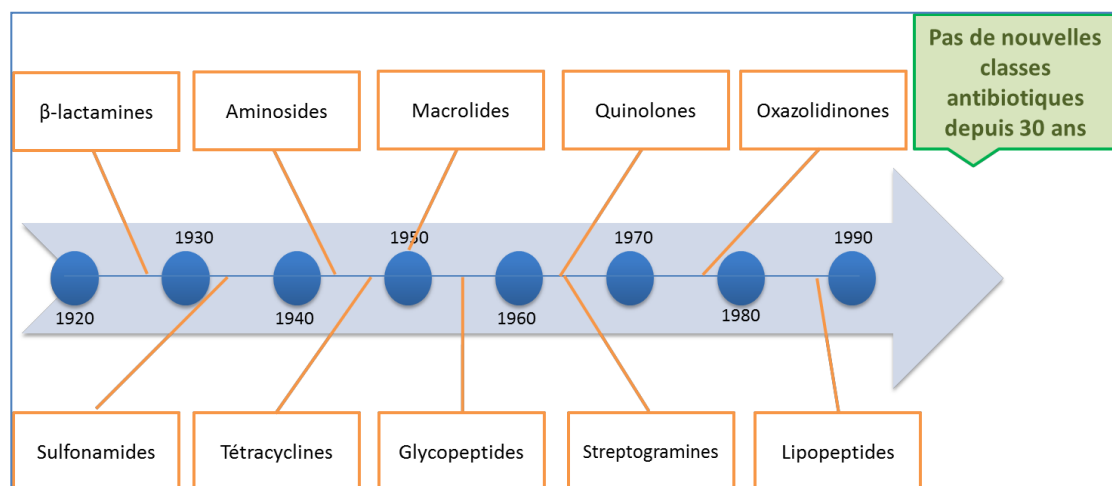


Figure 10. Chronologie de la découverte des principaux antibiotiques (Muller, 2017)

Le Dr Chan, directrice de l’OMS entre 2007 et 2017 a déclaré à ce propos en 2015 « si la situation continue d’évoluer selon la tendance actuelle cela signifiera la fin de la médecine moderne telle que nous la connaissons ». La résistance aux antimicrobiens pourrait devenir la plus importante cause de mortalité d’ici 2050, surpassant ainsi le cancer, le diabète, ...

Il paraît alors presque redondant d’écrire à quel point le combat contre la résistance aux antibiotiques est essentiel.

1.2. Les bactéries multirésistantes (BMR)

Les bactéries sont dites multi résistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l’accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu’à un nombre restreint d’antibiotiques utilisables en thérapeutique. La multirésistance concerne les bactéries responsables d’infections communautaires à l’exemple des pneumocoques ou les bacilles de la tuberculose et les bactéries responsables d’infections nosocomiales ou associées aux soins. Certaines résistances sont particulièrement importantes à prendre en compte, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales susceptibles de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène. C’est le cas des *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) et des entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu (EBLSE) (Maiworé et al. 2021)

2.2.1. Les types de BMR

- **EBLSE (entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu)**

Les entérobactéries dans leur ensemble représentent 35 à 40% des bactéries responsables d’IN. Les BLSE représentent environ 1% des bactéries isolées des IN. La tendance à la

diffusion clonale des EBLSE est bien démontrée. Les souches d'EBLSE principalement *Klebsiellapneumoniae*, *Enterobacteraerogenes* et à un moindre degré *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobactersp* sont résistantes à de nombreuses β -lactamines (sauf imipénème), et souvent céphamycines pour les espèces qui y sont naturellement sensibles, et très souvent résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones (Jacoby et Munoz-Price, 2005).

- **SARM (*S.aureus* résistant à la méthicilline)**

S.aureus est une des deux principales espèces responsables d'infection nosocomiale. Le développement incontrôlé des épidémies de SARM et les preuves répétées de leur diffusion clonale justifient à eux seuls la mise en place d'un programme de lutte contre les BMR. Les SARM représentent 5 à 10% des bactéries isolées des infections nosocomiales (IN), ils sont résistants à toutes les β -lactamines et très souvent résistants aux aminosides, aux macrolides et aux fluoroquinolones (Touaitia 2016)

- **SARV (*S.aureus* résistant à la vancomycine)**

Les glycopeptides (teicoplanine et vancomycines), sont utilisés en alternative aux β -lactamines dans le traitement des infections à staphylocoques dorés méthicillino-résistant. Le mécanisme de résistance à la vancomycine est lié à un épaissement de la paroi bactérienne qui piège les glycopeptides dans les couches superficielles en les empêchant d'atteindre la membrane cytoplasmique où le péptidoglycane est synthétisé. Cette résistance est due à des mutations de *S.aureus*, obtenues après transfert conjugatif de l'opéron de gènes *vanA* codant pour la résistance à la vancomycine (Chaalal, 2013).

- **ERV (*Enterocoques* résistant à la vancomycine)**

Les entérocoques sont des bactéries considérées comme peu virulentes, leur multirésistance aux antibiotiques représente le principal problème en pratique clinique ; c'est particulièrement vrai lors des infections dues à *E. faecium*, souvent résistant à toutes les β -lactamines (Cetinkaya et al. 2000). La famille des glycopeptides (vancomycine, teicoplanine) constitue une option thérapeutique de choix pour le traitement des infections dues à ces germes. Les entérocoques sont naturellement sensibles à la vancomycine et à la teicoplanine (Murray, 2000). Les premières souches d'entérocoques résistantes aux glycopeptides (ERG) ont été décrites à la fin des années 1980 en France et en Angleterre. Depuis, ces souches ont largement diffusé, notamment aux États-Unis où elles représentent un important problème de santé publique (Willems et al. 2007).

Partie expérimentale

Cadre et objective d'étude

Notre étude a été réalisée au sein du laboratoire d'analyses médicales El Nour la daïera de Chéria wilaya de Tébessa sur une période qui s'est étendue sur environ 4 mois (du 1 janvier au 28 avril 2023) et complétée dans le laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences exactes et de la nature à l'université de Echahid Cheikh Larbi Tebessi Tébessa.

Cette étude avait pour objectifs de faire une caractérisation phénotypique et l'étude de la résistance aux antibiotiques des souches d'origine clinique par l'évaluation de la prévalence des infections bactérienne communautaire dans la région de Chéria

Pour répondre à ces objectifs l'étude a porté sur plusieurs étapes :

- Isolement des bactéries responsables des infections communautaires et hospitalières dans la région de Chérai partir de plusieurs prélèvement pathologique
- Caractérisation phénotypiques de l'ensemble des isolats obtenus.
- Détermination de leurs niveaux de résistance aux antibiotiques,
- Dresser le profil de résistance de ces bactéries.
- La recherche des BMR (BLSE, SARM, SARV, ERV)
- Evaluer la prévalence des infections causées par les bactéries non cultivables.

L'étude a concerné tous les prélèvements à visée diagnostique émanant de patients consultants à titre externe : les urines, le pus, les selles, le liquide céphalorachidien (LCR), les prélèvements vaginaux (PV), et le sperme. L'isolement des bactéries a été réalisé sur des milieux sélectifs et non sélectifs, selon la nature du prélèvement.

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignements qui comporte :

- Nom et prénom du malade
- Age et sexe
- Nature de prélèvements
- Date et heure du prélèvement
- Antibiothérapie éventuelle (nature et durée)
- Renseignements cliniques

1. Recherche directe des bactéries

Chaque prélèvement adressé au laboratoire a fait l'objet d'un examen cyto bactériologique.

1.1. Examen macroscopique

Cet examen permet l'estimation de la limpidité, détecter la présence du sang dans les prélèvements, il permet ainsi de déterminer les caractéristiques physiques des prélèvements : l'aspect, la couleur, présence de sédiment.

1.2. Examen microscopique

C'est un examen direct, réalisé par microscope optique, permet d'apprécier de façon quantitative et qualitative les leucocytes et d'autres éléments figurés des prélèvements (hématies, cristaux...etc), comme il permet de détecter la présence des bactéries et ceci par deux examens différents :

1.3. Examen à l'état frais

C'est une technique rapide et facile qui permet de voir la bactérie vivante et d'apprécier sa mobilité, sa morphologie et son mode de groupement, il se fait directement à partir des prélèvements ou des suspensions bactériennes, il permet de détecter la présence ou l'absence d'une flore bactérienne.

1.4. Recherches des bactéries à Gram négatif

Une culture appréciant le nombre de germes ainsi que leur nature, permet une identification exacte des microorganismes qui colonisent le prélèvement.

1.4.1. Recherche des entérobactéries

Pour la recherche des entérobactéries des milieux ordinaires, sélectifs et chromogène sont été ensemencé à fin de dresser leurs profils microbiens

- **Gélose Chromagar orientation** : L'objectif majeur de ce milieu est la détection des agents pathogènes des voies urinaires en donnant des colonies colorées comme *E.coli* (colonies roses), *Klebsiella* (colonies bleues métalliques)

- **Gélose CLED** : est un milieu de culture différentielle, non inhibiteur, utilisée pour l'isolement, la numération et la différenciation des micro-organismes urinaires. Il favorise la croissance des agents pathogènes urinaires.

- **Gélose Mac Conkey** : est une gélose sélective et différentielle qui ne cultive que des espèces bactériennes gram négatives, il peut en outre différencier les organismes à Gram négatives (*Klebsiella* les colonies mucoides, grandes (4 à 6 mm) rose foncé à pâle, *Escherichia coli* les colonies roses à rose foncé).

- **Gélose Hektoen** : est un milieu différentiel modérément sélectif servant à l'isolement et à la culture de microorganismes entériques à Gram négatif, en particulier à l'isolement des espèces *E.coli*.

1.4.2. Recherche des bactéries Gram négatifs non entérobactéries

- **Gélose cetrimide**, ou gélose *Pseudomonas* cetrimide : est un milieu sélectif et différentiel utilisé pour l'isolement et l'identification de *Pseudomonas aeruginosa* à partir d'eau et d'échantillons cliniques.

1.5. Recherches des bactéries à Gram positif

Pour la recherche des bactéries à Gram positif on ensemence les milieux suivants :

- **Gélose Chapman** ou gélose au sel de mannitol : est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement, le dénombrement et la différenciation des *Staphylococcus*) à partir d'échantillons cliniques, alimentaires, antiseptiques et cosmétiques.

- **Gélose au sang** : est un milieu de culture et d'isolement de bactéries non exigeantes n'ayant pas besoin de facteurs particuliers, comme *Streptococcus*.

- **Gélose Chromagar orientation** : permet de donner des colonies d'entérocoques colorées en bleue turquoise.

2. Conservation

Après purification des isolats bactériens deux méthodes de conservation ont été réalisées dans cette étude:

- La conservation de courte durée des isolats purifiés a été réalisée par ensemencement sur gélose inclinée par l'anse de platine. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les tubes ont été conservés au réfrigérateur à 4°C.
- La conservation de longue durée des souches a été réalisée par congélation en présence de glycérol : tout en mettant 500 µl du bouillon nutritif avec culture bactérienne 500µl de glycérol stérilisé et conserver à -80°C.

3. Identification

3.1. Etude des caractères cultureux

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. Cette étude est basée sur des observations à l'œil nu et macroscopiques permettant de différencier les caractéristiques des souches étudiées (l'aspect de colonies caractéristiques de chaque espèce bactérienne est un des premiers critères d'identification). Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées.

L'examen microscopique ou l'état frais est le second examen effectué. Ce test permet de déterminer la forme, l'arrangement et surtout la mobilité des bactéries. Il consiste en l'observation d'une goutte de suspension bactérienne, préparée avec de l'eau physiologique et placée entre lame et lamelle. L'observation se fait sur microscope optique.

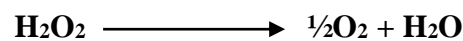
3.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram C'est une double coloration qui nous permet de connaître la forme, l'arrangement (mode d'assemblage), la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées. Cette coloration permet de classer les bactéries selon leur capacité à fixer le cristal violet. Celles qui possèdent une enveloppe externe sont décolorées lors du lavage à l'éthanol (Gram-), alors que celles qui n'en possèdent pas vont retenir le colorant (Gram+). La consistance et la valeur de la coloration de Gram correspond à des différences biochimiques entre la paroi des bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif.

3.3. Etude des caractères biochimiques

3.3.1. Test catalase

C'est une enzyme qui décompose l'eau oxygénée en donnant de l'eau et l'oxygène gazeux.



La méthode consiste à prélever une colonie de la bactérie à étudier à l'aide d'une pipette pasteur que l'on plonge ensuite dans une goutte d'eau oxygénée. Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme.

3.3.2. Recherche des pigments spécifiques de *Pseudomonas*

Cette recherche a été réalisée sur les milieux King A et King B qui permettent de différencier les espèces du genre *Pseudomonas*, par la mise en évidence de la production de pigments spécifiques (Guillaume, 2004)

✓ Principe

L'élaboration des pigments est influencée par la composition du milieu, ce qui justifie l'utilisation de deux milieux différents :

- La production de pyocyanine, due spécifiquement à *P.aeruginosa*, est favorisée par la présence d'ions inorganiques et de certains acides aminés qui composent le milieu King A.
- La production de pyoverdine, caractéristique du groupe fluorescent, dépendant de la nature des peptones, est favorisée par la teneur élevée en phosphate présent dans le milieu King B (Ould Brahim Elkory, 1998; Guillaume, 2004).

✓ Technique

- Ensemencer les milieux King A et King B en faisant une strie médiane ou des stries serrées à la surface de la gélose.

- Fermer le tube sans serer et incuber à 30°C pendant 1 à 4 jours (Delarras, 1998).

✓ **Lecture**

La présence de pigments diffusibles se traduit par l'apparition d'une couleur qui peut diffuser sur toute la pente (Guillaume, 2004).

Sur le milieu King A

Les colonies typiques sur ce milieu sont colorées en bleu vert (pyocyanine), parfois en brun rose (pyorubine). La pyocyanine est extraite par le chloroforme. Verser 0,5 ml de chloroforme à l'aide d'une pipette Pasteur sur la culture, laisser les 10-15 minutes, en position inclinée. La pyocyanine très soluble dans le chloroforme, le colore en bleu (Ould Brahim Elkory, 1998)

Sur le milieu King B

La production de pyoverdine se manifeste par une coloration jaune-verte, avec une fluorescence observée à la table UV. Ce pigment est insoluble dans le chloroforme (Guillaume, 2004).

3.3.3. Test de coagulase

Il est utilisé pour différencier *Staphylococcus aureus* à coagulase positive des autres staphylocoques à coagulase négative.

La propriété de *Staphylococcus aureus* de provoquer la coagulation d'un plasma recueilli sur anticoagulant est un critère important de son identification. Elle est due à la sécrétion d'une enzyme thermostable ; la staphylocoagulase ou coagulase.

Le test consiste à réaliser une culture en bouillon nutritif et étuver 24h à 37°C, puis mettre dans un tube à hémolyse 4 gouttes de bouillon agité et 4 gouttes de plasma de lapin oxalaté. Placer le tube au bain d'eau à 37°C durant 2 à 4h et observer toutes les heures. Une coagulation pourra être observée par une prise en masse du liquide (Joffin and Leyral, 2001).

3.3.4. La galerie miniaturisée API

3.3.4.1. API 20 E

La galerie API20E est une version miniaturisée des tests biochimiques classiques destinée à l'identification des *Enterobacteriaceae*, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés.

✓ **Mode opératoire**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée

–Dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Remplir tubes et cupules des tests encadrés : CIT, VP, GEL, avec la suspension bactérienne. Remplir uniquement les tubes et non cupules des autres tests.

–Créer une anaérobiose dans les tests soulignée : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine. Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37C° pendant 18-24 h (Djebbari et *al.* 2009).

✓ **Lecture**

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées. Si le glucose est positif et/ou si trois tests ou plus sont positifs, révéler les tests nécessitant l'addition de réactif :

Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 min. une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.

Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.

Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kowacs. Un anneau rouge obtenu en 2 min indique une réaction positive (Dolarras, 2007).

✓ **Identification**

Sur la fiche de résultats, les tests sont en groupe de 3 et une valeur (1, 2 ou 4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre de 7 chiffres qui sert de code d'identification. Chercher le code numérique obtenu dans le catalogue analytique de l'API20E ou avec le logiciel d'identification afin de connaître le nom de l'espèce identifiée (Djebbari et *al.* 2009).

3.3.4.2. API NE 20

L'identification biochimique des *Pseudomonas* a été réalisée par la galerie API 20 NE dont les tests d'identifications sont réalisés comme ceux déjà effectués pour les Entérobactéries.

La préparation de l'inoculum Prélever à l'aide d'une pipette pasteur une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé (Cétrimide).

Faire une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans une ampoule API 20 NE Medium (Djebbari et *al.* 2009).

✓ **Inoculation**

Introduire la suspension dans les tubes de la galerie en évitant la formation des bulles. Pour les tests soulignées mettre la suspension dans les tubes et remplir les cupules d'huile de paraffine.

Refermer la boîte et incubé à 37C° pendant 24 heures.

Lecture de la galerie API 20 NE

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire après addition de réactifs aux tests suivants :

Test NO₃ Ajouter une goutte de réactifs NIT1 et NIT2 dans la cupule NO₃. Après 5 mn, une couleur rouge indique une réaction positive, à noter sur la fiche de résultats. Une réaction négative peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) ; ajouter 2-3 mg de réactif Zn dans la cupule NO₃. Après 5 mn, une cupule restée incolore indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule devient rose-rouge, la réaction est négative car les nitrates encore présents dans le tube ont alors été réduits en nitrites par le zinc. La réaction utilisée pour l'identification de la bactérie est la réduction des nitrates ; elle est positive si l'une ou l'autre des deux réactions précédentes (production de NO₂ ou de N₂) est positive. La production de N₂ peut cependant être utilisée seule comme test complémentaire dans le Catalogue Analytique.

Test TRP : Ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive.

✓ Identification

La détermination du code numérique sur la fiche de résultats est obtenue par la même méthode décrite pour l'API 20 E. Chercher le code numérique obtenu dans le catalogue analytique de l'API 20 NE ou avec le logiciel d'identification afin de connaître le nom de l'espèce identifiée.

4. Etude de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion de disque en milieu gélosé Muller-Hinton (Bio-Rad) selon les recommandations décrites par la CA-SFM 2020 et EUCAST 2020. Les antibiotiques testés sont mentionnés dans les tableaux ci-dessous selon les espèces bactériennes.

4.1. Etude de la sensibilité des Gram négatifs

Les antibiotiques testés pour les bactéries à Gram négatif isolées dans cette étude sont mentionnés dans les tableaux 01, 02 et 03

Tableau 01. Liste des antibiotiques testés pour *Klebsiella* sp et *E. Coli*

Abréviations	L'antibiotique	Famille
SXT	Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	Triméthoprime-sulfamides
PRL	Pipéracilline	Pénicillines
FOX	Céfoxitine	Céphalosporine

CXM	Céfuroxime	Céphalosporines
CIP	Ciprofloxacine	Fluoroquinolone
AK	Amikacine	Aminosides
CN	Gentamicine	Aminosides
AMC	Amoxicilline +Acide clavulanique	B-lactamines

Tableau 02. Liste des antibiotiques testés pour *Proteus* et *serratia*

Abréviations	L'antibiotique	Famille
CIP	Ciprofloxacine	Fluoroquinolone
FF	Fosfomycine	Autre
AML	Amoxicilline	Aminopénicilline
PRL	Pipéracilline	Pénicillines

Tableau 03. Liste des antibiotiques testés pour *Pseudomonas*

Abréviations	L'antibiotique	Famille
CIP	Ciprofloxacine	Fluoroquinolone
CN	Gentamicine	Aminosides
CAZ	Ceftazidine	Céphalosporine
PRL	Pipéracilline	Pénicillines

4.2. Etude de la sensibilité des Gram positif

Dans notre étude, les antibiotiques testés pour *S.aureus*, *Enterococcus* et *Streptococcus* sont mentionnés respectivement dans les tableaux 04 et 05.

Tableau 04. Listes des antibiotiques testés pour *S.aureus* et *Enterococcus*

Abréviations	L'antibiotique	Famille
AMC	Amoxicilline +Acide clavulanique	B-lactamines
TTC	Ticarcillin /Acide clavulanique	Carboxypénicillines
FOT	Céfotaxime	Céphalosporine
FOX	Céfoxitine	Céphalosporine
SXT	Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	Triméthoprime-sulfamides
FA	Acide fusidique	Autre
VA	Vancomycine	Glycopeptides

KZ	Céfazoline	Céphalosporine
CIP	Ciprofloxacine	Fluoroquinolone
NOR	Norfloxacine	Fluoroquinolone
AK	Amikacine	Aminosides
CN	Gentamicine	Aminosides

Tableau 05. Listes des antibiotiques testés pour *Streptococcus*

Abréviations	L'antibiotique	Famille
AZM	Azithromycine	Macrolides
DA	Clindamycine	Lincosamides
SXT	Triméthoprine-Sulfaméthoxazole	Triméthoprine-sulfamides
LEV	Lévofloxacine	Fluoroquinolone
KZ	Céfazoline	Céphalosporine
CXM	Céfuroxime	Céphalosporines
AML	Amoxicilline	Aminopénicilline
FOX	Céfoxitine	Céphalosporine
VA	Vancomycine	Glycopeptides
CIP	Ciprofloxacine	Fluoroquinolone
NOR	Norfloxacine	Fluoroquinolone
TE	Tétracycline	Tétracycline

5. Détection des BMR

5.1. Recherche des BLSE (test de synergie)

Les BLSE ont été mises en évidence par la recherche d'une synergie entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de 3^{ème} génération.

Les enzymes sont mises en évidence par la méthode des disques qui consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'ATB qui contient un inhibiteur de β -lactamase et les disques de céphalosporine de 3^{ème} génération (ex : céfotaxime, céftazidine.....). Cette image est appelée « bouchon de champagne ».

✓ Technique

La recherche de la beta-lactamase à spectre élargi se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme.

- déposer un disque d'Amoxicilline + acide Clavulanique (AMC 20/10 µg) un disque de la ceftazidime (CAZ), la céfotaxime (CTX), la céfépime (FEP) est l'aztréonam (ATM) à une distance de 30 mm
- incubé les boîtes 24h à 35° C.

L'apparition d'une image de synergie entre le disque d'AMC et les disques céfotaxime (CTX), indique la production d'une BLSE (El bouamri et *al.*2014).

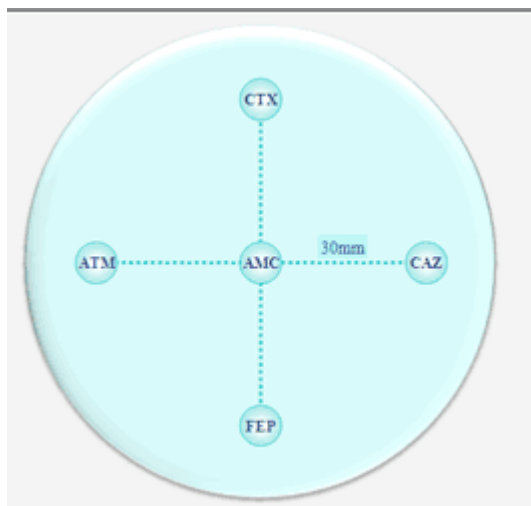


Figure 11. Test de synergie

Dans notre étude, les antibiotiques utilisés sont présentés dans le tableau 06:

Tableau 06. Les antibiotiques utilisés pour la détection de BLSE

Abréviations	L'antibiotique	Famille
AMC	Amoxicilline + Acide clavulanique	B-lactamines
CFM	Céfixime	Céphalosproïne
AZM	Azithromycine	Macrolides
KZ	Céphazoline	Céphalosporine
CAZ	Ceftazidine	Céphalosporine

5.2. Détection des SARM

La détection de la résistance intrinsèque à la méthicilline des souches de *S.aureus* repose sur l'étude de la sensibilité à la céfoxitine dans les conditions usuelles de l'antibiogramme par diffusion (gélose de Mueller-Hinton sans complément, inoculum aux environs de 5×10^6 UFC/ml, incubation de 24 heures à 37°C).

Dans ces conditions toute souche « sensible » à la céfoxitine (diamètre ≥ 27 mm) doit être classée « SASM », alors que toute souche présentant un diamètre inférieur à 27mm (souche non sensible) doit être considérée comme « SARM » (Touaitia et al. 2016).

5.3. Détection des SARV et ERV (Test de *Screening* à la vancomycine)

Le test de screening de la résistance à la vancomycine est recommandé par le CLSI, il représente un test de criblage des souches en présence d'une concentration connue de vancomycine égale à $6\mu\text{g/ml}$ (Tenover et al. 2006 CLSI 2008;).

✓ Technique:

Préparer une solution de vancomycine dans de l'eau distillée stérile à une concentration de $6\mu\text{g/ml}$. Mettre 2 ml de la solution dans une boîte de pétri et ajouter 18 ml de la gélose MH en surfusion en mélangeant par des mouvements rotatoires.

A partir d'une culture pure de 18 h sur milieu solide, repiquer une colonie isolée dans 5 ml de bouillon cœur cerveau. Déposer en spots $10\mu\text{l}$ de la suspension bactérienne et incuber 24 heures à 37°C .

6. Recherche indirecte des bactéries

6.1. Mycoplasme

Le mycoplasme est une petite bactérie qui se reproduit en dehors des cellules. Elle se trouve partout dans la nature, chez les animaux, les insectes, et sur les muqueuses de l'humain.

La technique

- Mélanger bien la suspension bactérienne portée dans l'écouvillon dans le réactif R1
- Ajouter le réactif R2
- Mélanger R1+R2

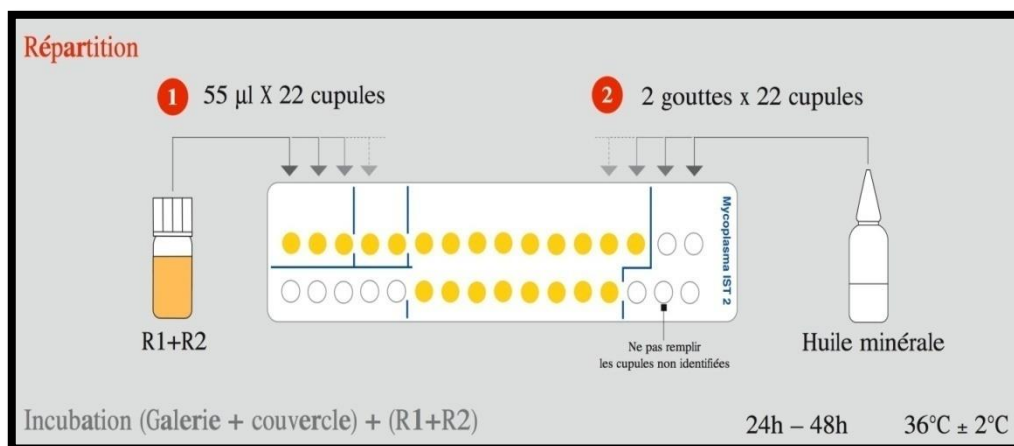


Figure 12. Méthode d'ensemencement de galerie de mycoplasme

Lecture

- La couleur de cupule jaune et jaune foncé : négative
- La couleur de cupule orange, rouge, rouge foncé fuschia , rouge orange : positive. (fiche technique du tes)

6.2.Chlamydia

Le test Bioline™ *Chlamydia* est un test immuno-chromatographique en phase solide pour la détection rapide et qualitative de l'antigène *Chlamydia* directement à partir d'écouvillons endocervicaux, d'échantillons de brosse cytologie.

Technique

- Ajouter 8 gouttes de réactifs A à la pastille d'urine dans la centrifugeuse tube, puis aspirer le liquide de haut en bas avec une pipette pour Mélanger vigoureusement jusqu'à ce que la suspension soit homogène.
- Transférer toute la solution dans le tube de centrifugation vers une extraction tube Laisser reposer 2 minutes.
- Tenez le flacon de réactif B et ajouter 8 gouttes de réactif B dans le tube d'extraction.
- Vortex ou tapoter le fond du tube pour mélanger la solution. Laisser Rester debout pendant 1 minute.
- Placez le dispositif de test sur une surface propre et plane. Ajouter 3 gouttes (environ 100 µL) de la solution extraite au puits (S) de l'échantillon du dispositif d'essai et démarrer la minuterie. éviter de piéger les bulles d'air dans le puits de l'échantillon (S), et N'ajoutez aucune solution à la fenêtre de résultats.Au fur et à mesure que le test commence à fonctionner, la couleur migre à travers le membrane
- Attendez que la ou les lignes colorées apparaissent. Lire les résultats à 10 comptes rendu. Si aucune ligne n'apparaît après 10 minutes, veuillez lire à nouveau à 20 minutes (fiche technique du tes)

Lecture

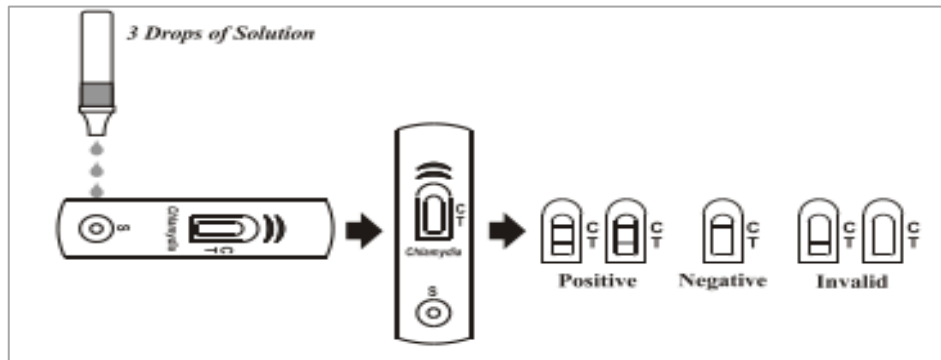


Figure 13. Lecture du test Bioline™ Chlamydia
Deux lignes en rouge : test positif. Une seule ligne en rouge : test négatif



Figure 14 : Résultat négatif de chlamydia (Photo personnelle)

6.3. Brucellose

- Le sérodiagnostic de WRIGHT permet le diagnostic sérologique des formes aiguës de brucellose. Ce test quantitatif se positive précocement, dès le 10^{ème} ou 12^{ème} jour, dans la forme aiguë de la brucellose, mais se négative rapidement car il détecte les IgM. Il est parfois négatif dans la brucellose subaiguë et presque toujours dans les brucelloses chroniques. Il n'est recommandé ni pour les enquêtes épidémiologiques, ni pour les diagnostics de brucellose chronique. (fiche technique du tes)

Technique

Dilution des sérums Les dilutions du sérum à tester sont effectuées directement avec la suspension bactérienne.

- Disposer sur un portoir une série de 9 tubes à hémolyse (de 5 ml de préférence) rigoureusement propres.
- Introduire dans le 1^{er} tube: 1,9 ml de suspension antigénique + 0,1 ml de sérum à étudier. Homogénéiser.

- Introduire 1 ml de suspension antigénique dans chacun des tubes numérotés de 2 à 8 et 250 μ l dans le tube n°9.
- Prélever dans le 1er tube 1 ml du mélange (qui représente la dilution au 1/20 du sérum étudié) et l'introduire dans le tube n°2. Homogénéiser.
- Prélever 1 ml dans ce 2^{ème} tube et le transférer dans le tube n°3. Homogénéiser.
- Procéder de la même façon jusqu'au tube n°8, la quantité de 1 ml prélevée dans ce dernier tube étant jetée.
- Ajouter 750 μ l d'eau physiologique dans le tube n°9 qui sert de témoin de titration.
- Placer les tubes à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures après les avoir bouchés

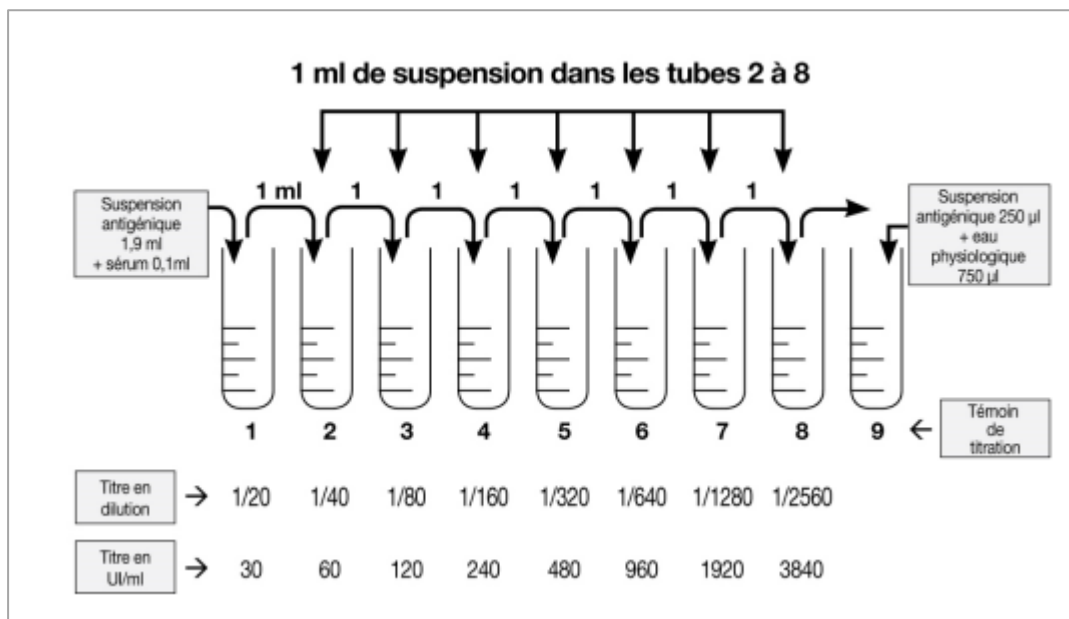


Figure 15. Les dilutions du sérum à tester

Lecture

Examiner les tubes, sans les secouer, sur fond noir, avec une source lumineuse située au-dessous et derrière les tubes.

- Constater, en premier lieu, l'absence d'agglutination dans le tube témoin de titration.
- Plusieurs types d'agglutinats peuvent être observés :
 - agglutinats en crêpe dans le fond du tube avec liquide clair (+++),
 - agglutinats très visibles avec liquide légèrement trouble (++),
 - agglutinats visibles seulement à l'agglutinoscope (+).
- L'absence d'agglutinats traduit une réaction négative (-). (fiche technique du tes)

6.4. *Helicobacter pylori* (HP)

Le test rapide OnSite*H. pylori* Ag est un immuno-essai immunologique par chromatographie à flux latéral pour la détection qualitative de l'antigène de *H. pylori* dans des échantillons fécaux humains. Il est destiné à être utilisé par professionnels comme test de dépistage et fournit un résultat de test préliminaire pour aider au diagnostic d'infection par *H. pylori*.

Technique

✓ Le prélèvement

- Amener l'échantillon et les composants d'essai à température ambiante s'ils sont réfrigérés. Une fois l'échantillon décongelé, mélangez bien avant d'effectuer l'essai.
- Lorsque vous êtes prêt à tester, ouvrez la pochette à l'encoche et retirez le dispositif de test. Lieu le dispositif d'essai sur une surface propre et plane.
- Agiter vigoureusement le dispositif de collecte des selles pour assurer un liquide homogène suspension.
- Tenez le dispositif de collecte des selles verticalement. Retirez le capuchon. Distribuer 2 gouttes (70- 90 μ L) de la solution dans le puits d'échantillonnage de la cassette. Ne surchargez pas la solution
- Configurer la minuterie

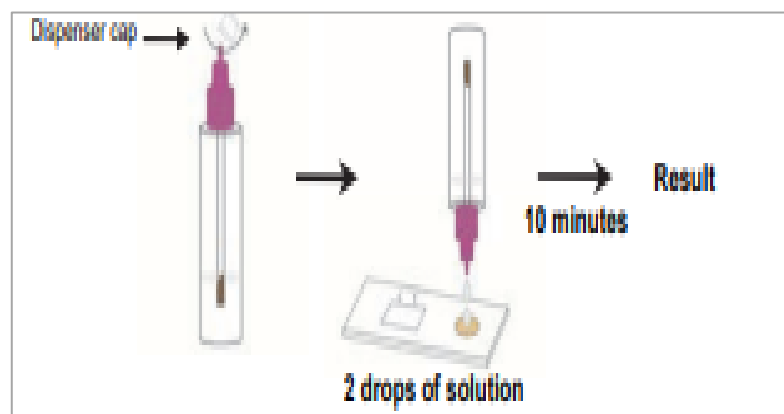


Figure 16. Le test rapide OnSite*H. pylori*

Lecture

Les résultats peuvent être lus à 10 minutes. Les résultats positifs peuvent être visibles en aussi peu que 1 minute. Les résultats négatifs doivent être confirmés à la fin des 15 minutes seulement.

- Cependant, tout résultat interprété en dehors de la fenêtre de 10 à 15 minutes devrait être considéré comme invalide et doit être répété. Jeter l'appareil usagé après interpréter le résultat conformément aux exigences locales régissant l'élimination des appareils. (fiche technique du tes).

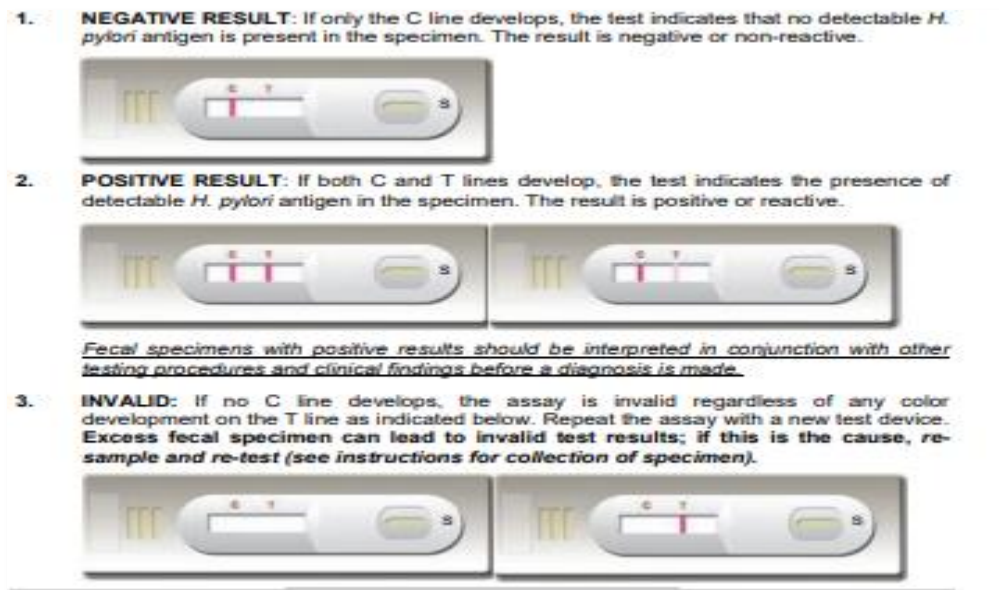


Figure 17. Image illustrative de résultats de test
(OnSite *H. pylori* Ag Rapid Test - Cassette (Fecal Specimen))

1. Recherche directe des bactéries

1.1. Résultats d'isolement

L'isolement à partir de différents prélèvements dans les 04 mois (Janvier, Avril) sur milieux appropriés, a permis d'obtenir les résultats mentionnés dans le tableau 07.

Tableau 07. Les types des bactéries isolées

Recherche des entérobactéries				
La bactérie	Aspect sur MacConkey	Aspect sur chromagar	Coloration de Gram	Test catalase
<i>Klebsiella sp</i>	Des colonies mucoïdes, grandes et rose foncé à pâle	des colonies bombé couleur Bleu métallique	des bacilles en paires à Gram-	Catalase positive
<i>Escherichia coli</i>	petits colonies sont roses à rose foncé, sèches et en forme de beignet et sont entourées d'une zone rose foncé	Des petit colonies rose foncé à rougeâtre	Gram - la couleur rose forme bacille	Catalase positive
<i>Proteus</i>	Des colonies lisses, pâles ou incolores sont petites, avec des tiges.	Halo brun	des petits bacilles à Gram - forme bâtonnets	Catalase positive
<i>Serratiamarcescens</i>	Des colonies rondes rouge pigmenté	Des colonies bleu-vert a bleu	des bacilles a Gram - couleur rouge	Catalase positive
Recherche des bactéries non entérobactéries				
Les bactéries non fermenté	Aspect sur Cétrimide	Aspect sur Chromagar	Coloration de gram	Test king A
<i>Pseudomonas</i>	Colonies bleu ou bleu vert avec virage de couleur de milieu	des colonies bleu-vert intense	bacille a Gram -	un pigment bleu-vert, la pyocyanine (+)
Recherche des Grams positifs				

La bactérie	aspect sur gélose au sang	aspect sur chromagar	Coloration de Gram	Teste catalase
<i>Streptococcus</i>	petites colonies grises, colonie muqueuse	des colonies Bleu clair	cocci a Gram + regroupent en chaînettes	Catalase négatives
<i>Enterococcus</i>	Colonies blanchâtre avec zone claire	des petites colonies bleu turquoise	descocci à Gram positifs diplococoques	Catalase négative
Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>				
Aspect sur chapmane	Aspect sur chromagar	coloration de Gram	Test catalase	Test coagulase
Colonie jaune avec virage de couleur de milieu	De petites colonies opaques doré,	cocci a Gram + regroupé forme de grappes	Catalase positive	Coagulas positive

1.2. Identification des souches

1.2.1. Caractérisation par caractères cultureux

Le repiquage successif utilisé dans le seul but de purifier les souches nous a permis de distinguer les caractères de toutes les colonies sur leurs milieux préférentiels d'isolement. Ces données sont montrées dans les figures ci-dessous.

- Aspect des colonies sur gélose Chromagar

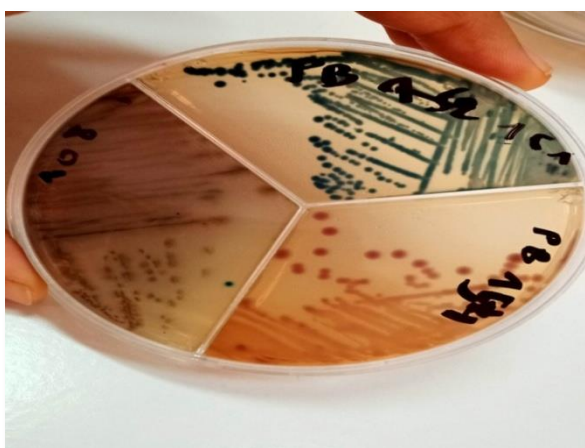


Figure 18. Aspect des colonies sur chromagar 108: *Pseudomonas*, 151: *Klebsiella*,

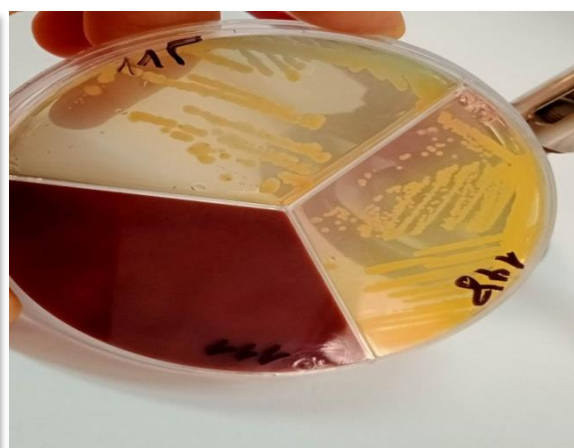


Figure 19. Aspect de colonies sur chromagar de la souche *Staphylococcus aureus* 148

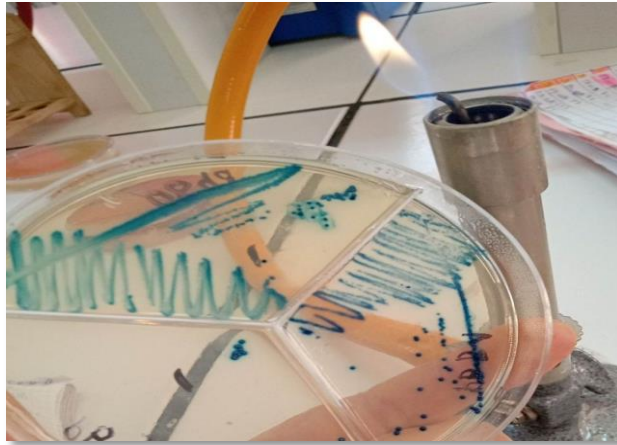


Figure 20. Aspect d'*Enterococcus* sur chromagar

- Aspect des colonies sur gélose Mackonkey

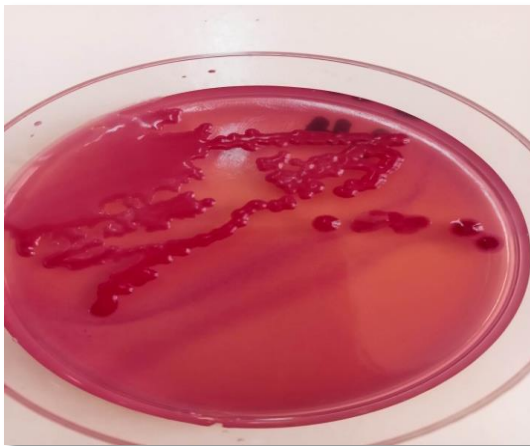


Figure 21. Aspect des colonies de *Klebsiella* sur Mackonkey

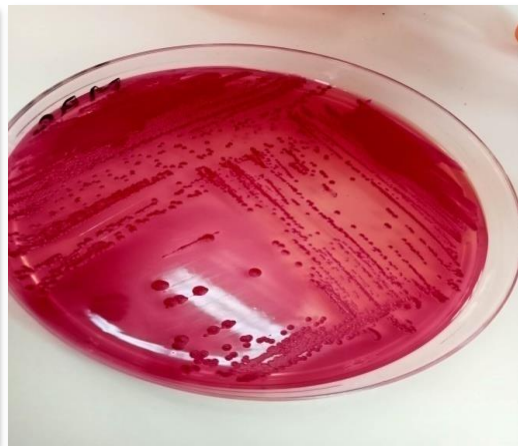


Figure 22. Aspect des colonies d'*E.coli* Sur Mackonkey

- Aspect des colonies sur gélose Hektoen



Figure23. Aspect des colonies d *E.coli* sur milieux Hektoen

- Aspect des colonies sur gélose CLED

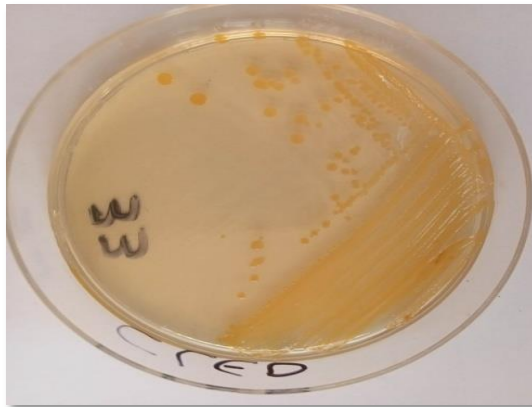


Figure 24. Aspect des colonies d'*E.coli* Sur CLED

- Aspects de colonies de *Pseudomonas* sur gélose Cétrimide



Figure 25. Aspect des colonies de *Pseudomonas* sur gélose cétrimide

- Aspects de colonies sur gélose Chapman

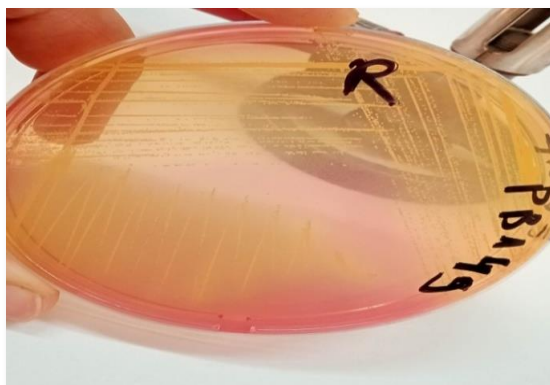


Figure 26. Aspect des colonies de *Staphylococcus aureus* sur chapman

- Aspects de colonies sur gélose au sang



Figure 27. Aspect des colonies de *Staphylococcus aureus* sur gélose au sang

1.2.2. Caractérisation par tests biochimiques

1.2.2.1. Résultats de l'identification des Entérobactéries

L'étude biochimique des Entérobactéries nous a permis d'identifier *Klebsiella pneumoniae* (Figure 28), *Klebsiella oxytoca* (Figure 29) et *Serratia marcescens* (Figure 30) par la galerie API 20 E pour 05 souches d'Entérobactéries.



Figure 28. Profil biochimique de la souche *Klebsiella Pneumonie*



Figure 29. Profil biochimique de la souche *Klebsiella oxytoca*



Figure 30. Profil biochimique de la souche *Serratia marcescens*

1.2.1.2. Résultats des tests d'identification des souches des *Pseudomonas*

Les résultats de l'identification biochimique de *Pseudomonas aeruginosa* sont représentés dans les figures 31 et 32.



Figure 31. Profil biochimique de la souche *Pseudomonas aeruginosa*



Figure 32. Résultat de recherche des pigments spécifiques de *Pseudomonas*

1.2.1.3. Résultats des tests d'identification des Staphylocoques (test coagulase)

Pour les 8 souches de staphylocoques isolées une coagulation du sérum (figure33) a été notée confirmant alors l'appartenance des souches à l'espèce *Staphylococcus aureus*



Figure33. Test coagulase positif d'une souche *S.aureus*

2. Description de la population d'étude

Durant la période d'étude, de janvier à Avril 2023, 118 souches cliniques ont été recueillies de différents produits pathologiques du laboratoire d'analyses médicales Al Nour de Chéria. Parmi ces souches nous avons eu : 102 communautaires et 16 hospitalières.

2.2. Répartition des souches selon l'origine du prélèvement

La répartition des souches selon leur provenance et les résultats illustrés ci-dessous (Tableau 08, Figure 34) montrent une prédominance des souches communautaires par rapport aux souches hospitalières.

Tableau 08. Répartition des souches isolées selon l'origine du prélèvement

Origine	Effectif	Pourcentage %
Communautaires	102	86
Hospitalières	16	14

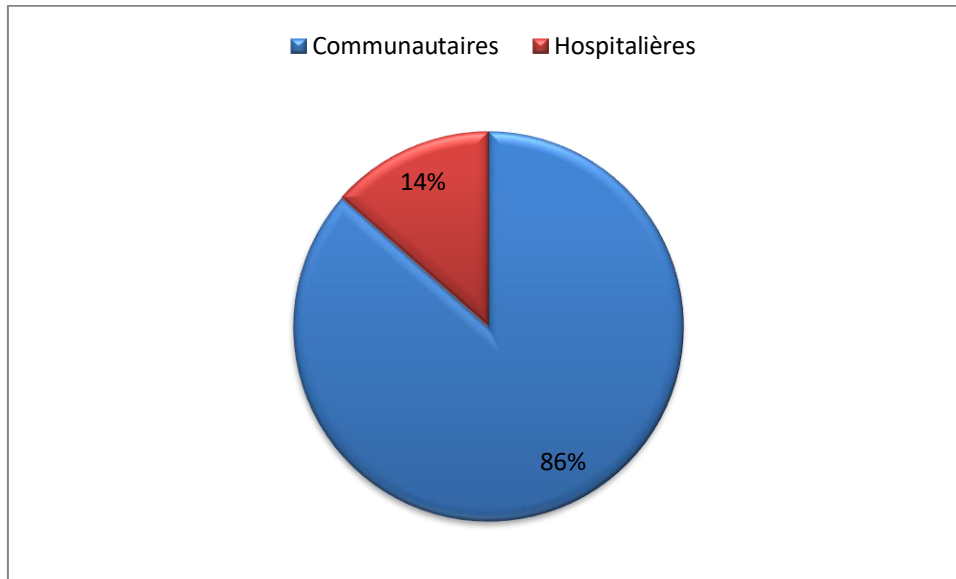


Figure34. Répartition des souches isolées selon l'origine du prélèvement

Notre étude montre une forte prévalence des infections communautaires par rapport aux infections hospitalières contrairement à une étude réalisée au laboratoire dans la ville de Constantine qui a révélé une prédominance des infections hospitalières (Meziani et *al.* 2020)

Les hôpitaux sont des milieux qui représentent le réservoir de différentes maladies. Ils constituent un milieu propice pour la propagation des infections nosocomiales, lorsque les conditions d'hygiène et environnementales ne sont pas favorables. Les patients hospitalisés sont exposés à un risque des infections nosocomiales (Meftah et *al.* 2020)

Dans un total de 118 prélèvements, 95 prélèvements urinaires (78.81%), 9 prélèvements du sperme (7.62%), 7 Prélèvements vaginales (5.93%), 4 prélèvements de pus (3.38%), 3 prélèvements de selles (2.54%) et 2 prélèvements LCR (1.70%) montré dans la figure 29.

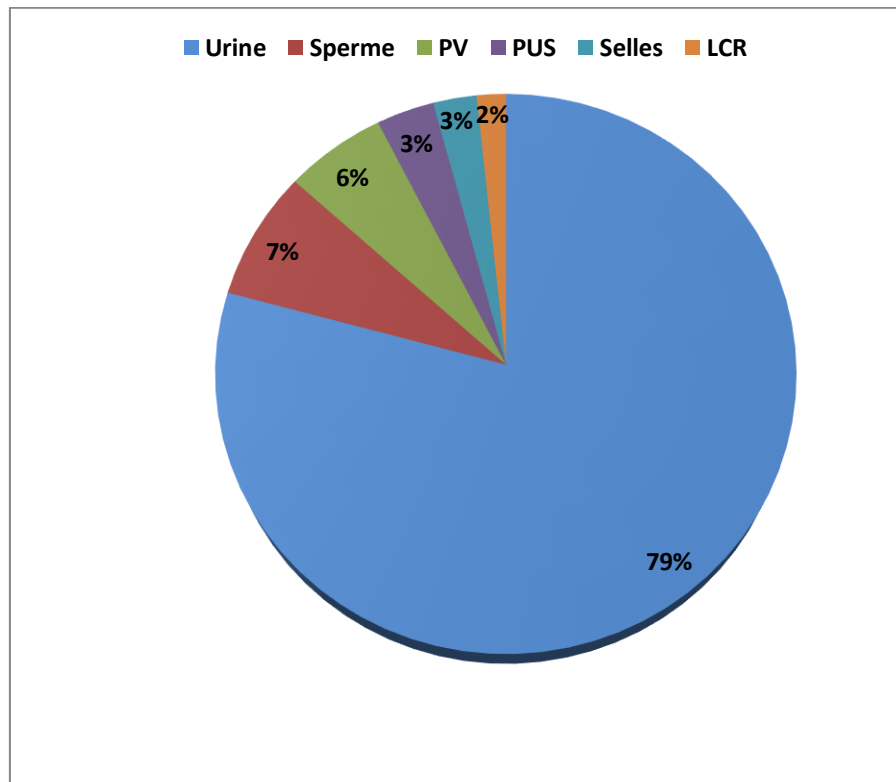


Figure 35. Répartition des souches isolées selon la nature du prélèvement

Nous avons constaté que les infections des voies urinaires sont au premier plan de la liste des infections avec un taux de (78.81%) ce chiffre est remarquablement élevé vu la fréquence de cette infection et la possibilité de surdiagnostic, la mauvaise vidange, la grossesse, le diabète... (Ben Haj Khalifa et *al.*, 2010)

Nos résultats sont plus importants que ceux trouvés dans une étude faite à la ville de Blida qui a mentionné un taux de 30.8% des infections d'origine urinaire (Atif et *al.* 2006).

2.3. Répartition des souches isolées selon l'espèce

Nous avons isolé 118 souches dans la région de Tébessa parmi ces isolats 101 des bactéries à Gram négatives soit (86%) dont 99 souches sont appartenues au groupe des entérobactéries (84%) et 02 souches des bactéries non entérobactéries soit (2%) tandis que les bactéries à Gram positives représentent (14%) de nos isolats.

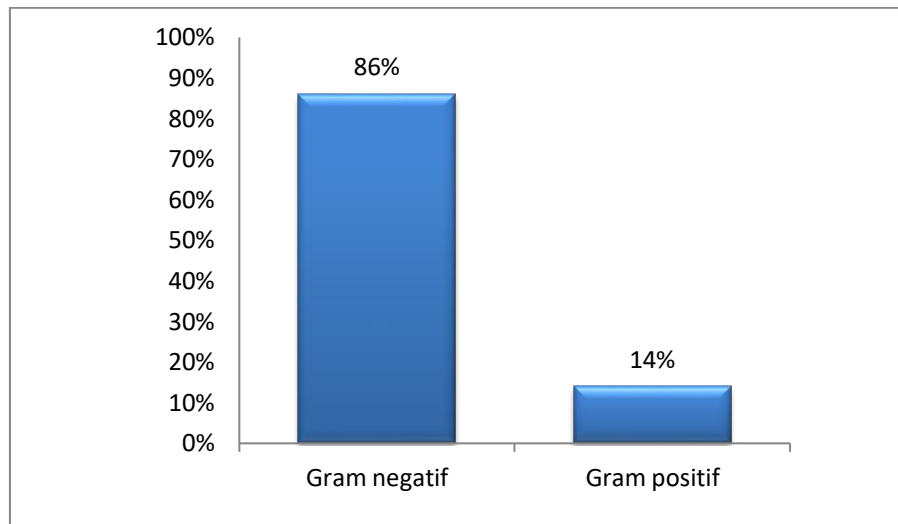


Figure 36. Répartition des souches isolées selon le Gram

Parmi l'ensemble des entérobactéries isolées, *Klebsiella sp.*, largement prédominant, était retrouvé dans 40.7% des cas, venaient ensuite les bactéries des genres *E.coli* (39.83%), puis *Serratia* et *Proteus* avec un taux de (1.70 % chacune). Les 1.70 % restants correspondaient aux autres bacilles Gram négatif (*Pseudomonas*) (Tableau09).

Tableau 09. Appartenance des souches isolées aux différents genres ou espèces bactériens

Bactérie	Nombre de souches	Pourcentage %
<i>Klebsiella sp</i>	48	40.7
<i>Escherichia coli</i>	47	40
<i>Proteus</i>	2	1.70
<i>Serratia marcescens</i>	2	1.70
<i>Pseudomonas</i>	2	1.70
<i>Staphylococcus</i>	8	6.8
<i>Enterococcus</i>	6	5
<i>Streptococcus</i>	3	2.5

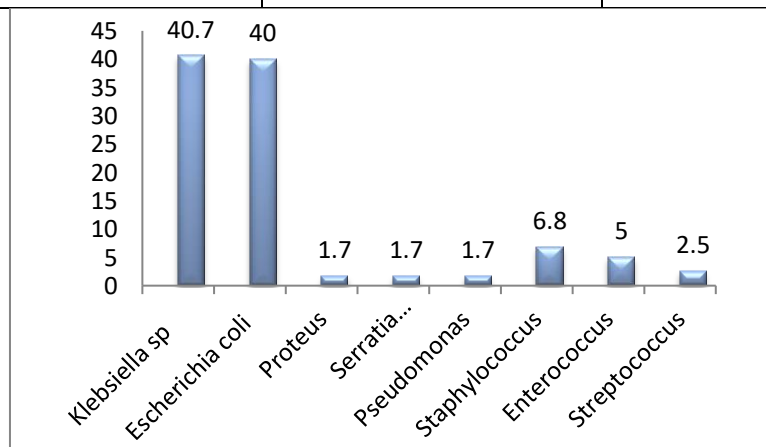


Figure 37. Répartition des souches isolées selon genres ou espèces bactériens

D'après la figure 37, on remarque que *Klebsiella sp* et *E. Coli* sont les espèces les plus fréquemment isolées (40.7%) et (40%). En accord avec nos résultats, trente-huit isolats d'entérobactéries dont dix-sept *Klebsiella pneumoniae*, treize *Escherichia coli* ont été récupérés d'infections urinaires communautaires dans quatre laboratoires privés à Bejaia, en Algérie, entre mars 2007 et mai 2009 (Gharout-Sait et al. 2012).

En comparaison avec nos résultats, dans une étude réalisée au niveau d'un laboratoire d'analyse médicale à Tebessa en 2019 une prédominance d'isolement d'*E.coli* avec 52 % suivi par 33% de *Klebsiella* a été enregistrée (Benhadj, et al. 2019).

2.4. Répartition des prélèvements selon le sexe

Dans ces prélèvements on a trouvé 93prélèvements des urines (femme 56 et homme39) 3 prélèvements des selles (2 hommes et 1 femme) 4 prélèvements des pus (1 homme et 3 femmes) 2 prélèvements LCR (1 femme et 1 homme) la totalité prélèvements du sperme pour homme et le prélèvement vaginale totalité femme

Tableau 10. Répartition des prélèvements en fonction du sexe

Prélèvement	Homme	Femme
Urine	38	55
Selles	2	1
Pus	1	3
PV	/	7
Sperme	9	/

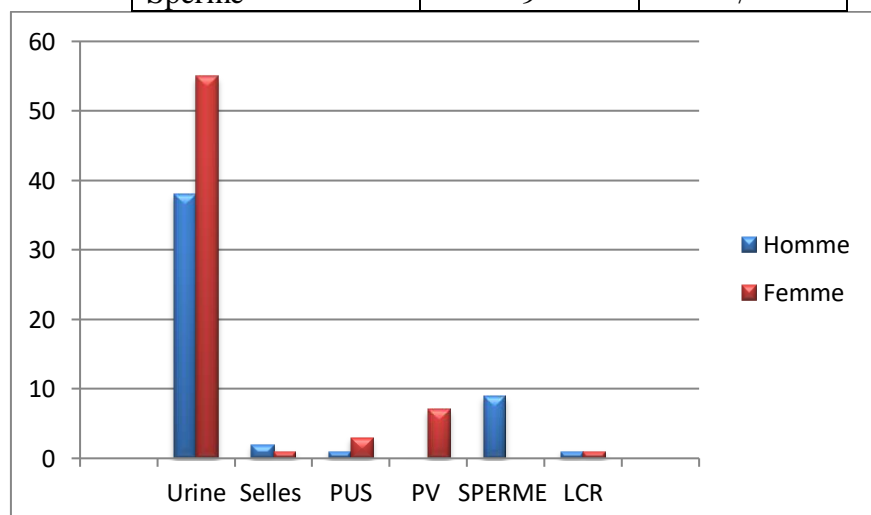


Figure 38. Répartition des prélèvements selon le sexe

Notre étude confirme que les femmes sont plus à risque de développer une infection urinaire. *E. coli* reste l'espèce prédominante comme l'ont démontré de nombreuses études (Bentroki et al. 2012).

Cette prédominance est causée par des facteurs favorisant spécifiques chez la femme tel que :

- Les dimensions de l'urètre féminin (court et large) topographiquement proche du vagin et du périnée qui sont régulièrement colonisés par des bactéries d'origine fécale (Martine et Botto, 1997).
 - Les rapports sexuels (le frottement au niveau du méat urinaire facilite l'entrée dans l'urètre et dans la vessie des microbes normalement présents au niveau du vagin.
 - Le type de contraception (présence d'un diaphragme avec spermicide)(Gilles et Charles, 2015).
 - Facteurs spécifiques à la grossesse (François, 2011).
 - Modifications post- ménopause (le désordre hormonal et spécialement le déficit en œstrogène, la diminution des sécrétions vaginales et l'augmentation du pH vaginal) (Malin, 2002).
- ✓ Hygiène vaginale déficiente ou trop excessive (Gilles et Charles, 2015)

2.5. Répartition des prélèvements selon l'âge

Dans ce travail on peut classer les prélèvements selon l'âge dans ces tranches d'âge

[0_12 ans] :23 (19.49%)

[12_18 ans] :2 (1.69%)

[18_50 ans] :67 (56.77%)

[50_86 ans] :6 (22.03%)

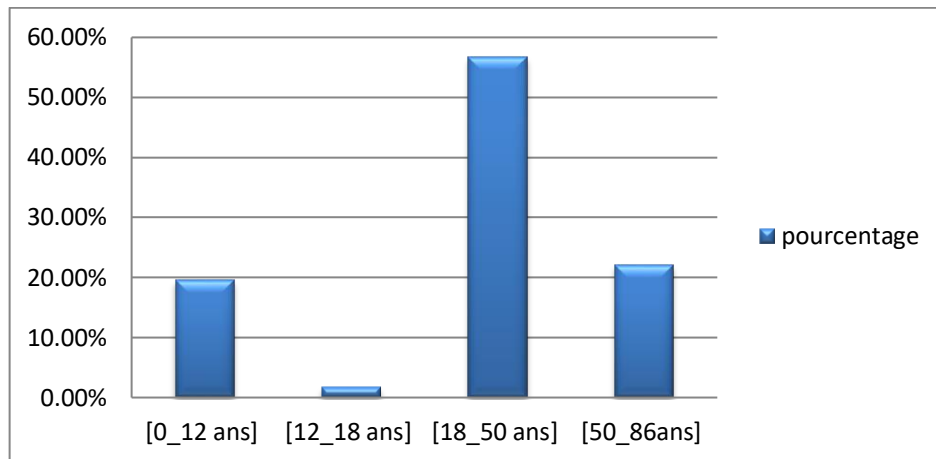


Figure 39. Répartition des isolats selon l'âge

L'étude a révélé que (56.66%) appartenaient au groupe d'âge des 18 à 50 ans Aussi, l'infection est présente chez les sujets âgées plus de $60 \geq$ ans (22%). L'infection urinaire chez les patients âgés est aggravée par la fréquence des formes sévères et compliquées, du fait de l'état d'immunodépression due à l'âge. Cette prévalence élevée peut être expliquée par de nombreux facteurs plus ou moins intriqués, anatomiques, fonctionnels ou immunologiques (Lobel et Soussy 2007). Chez la femme ménopausée, lacarence hormonale modifie la flore vaginale et provoque la disparition des lactobacilles et une alcalinisation du pH favorisant ainsi la colonisation des urines par les souches uropathogènes (Boscia et *al.* 1986).

3. Recherche indirecte des bactéries

3.1. Résultat de recherche de la brucellose

Dans la période du 12 février au 30 avril 2023, 13 patients ont été examinés pour la maladie de brucellose, tous les résultats étaient négatifs (tableau de résultats en annexe).

En comparant nos résultats la wilaya de Tébessa 00 cas avec les résultats de la wilaya de Sidi Bel Abbes depuis janvier 2022, 26 cas de brucellose humaine ont été enregistrés. (Cas humains de brucellose en Algérie, 16 mai 2022)

Nous notons un changement positif dans cette courte période entre les deux études , c'est ce qui indique la prise de conscience du citoyen algérien par sa consommation de lait ; soit par la pasteurisation ou la stérilisation du lait, soit par l'utilisation de lait cru provenant de troupeaux reconnus officiellement indemnes de brucellose , et éviter les produits laitiers non pasteurisés et la viande insuffisamment cuite , et indique la propreté et l'application des mesures de biosécurité et d'hygiène au travail : lavage des mains, port de gants, de masques et de lunettes...*etc*

3.2. Résultat de recherche de *Helicobacter pylori* (HP)

Du 7 janvier au 22 mars, seuls 3 cas de *Helicobacter pylori* ont été examinés et un seul cas était positif

<u>RESULTATS ANALYSE</u>						Editée le : 30/04/2023 12:48:10
<u>Code Analyse : HP AG</u>		Du : 01/01/2023	Au : 30/04/2023	Page 1 sur 1		
<u>Date Saisie</u>	<u>Patient</u>	<u>Né(e)</u>	<u>Texte</u>	<u>Borne INF</u> <u>Borne SUP</u>		
07/01/2023-124	██████████	01/07/1980	Resultat:.....	NEGATIVE		
07/01/2023-124	██████████	01/07/1980	Indice :.....	0.24	COI	
20/02/2023-038	██████████	13/01/1970	Resultat:.....	POSITIVE		
20/02/2023-038	██████████	13/01/1970	Indice :.....	47.42	COI	
22/03/2023-095	██████████	01/07/1964	Resultat:.....	NEGATIVE		
22/03/2023-095	██████████	01/07/1964	Indice :.....	0.11	COI	

Figure 40. Fréquence des infections à *Helicobacter pylori*

En comparant nos résultats avec les résultats d'Institut Pasteur, Maroc, 1998-2007 (Joutei et al. 2008). La grande différence dans la période de comparaison 9ans et 3 mois, cela est du à la rareté des études sur ce type de bactéries, on remarque une grande différence dans le nombre de cas entre les deux pays, le Maroc étant en tête du nombre de cas 755, et l'Algérie (wilaya de Tebessa) 1 cas. Cela indique que les Algériens sont plus conscients de l'hygiène, et sont soucieux de la propreté de leur nourriture la méthode de cuisson, et de l'eau qu'ils utilisent. (Étant donné que cette maladie est liée à l'âge elle touche les personnes âgées, ce qui indique que le peuple algérien contient une plus grande proportion de jeunes).

3.3. Résultat de recherche de *Chlamydia*

Du 5 janvier au 27 avril, 14 cas ont été examinés, tous négatifs (tableau de résultats en annexe). En comparant nos résultats avec les résultats des maladies transmissibles en Europe basé sur les données de 2019 extraites du système de surveillance européen, (*chlamydia-infection-annual-epidemiological-report-2019*)

En 2019 jusqu'à 2021 , 434 184 cas confirmés d'infection à *Chlamydia* équivalent 157 cas pour 100 000 habitants correspond à 00 cas dans 4 moins en Algérie wilaya de Tébessa ,

cette différence est due à l'hygiène personnelle de la personne musulmane par rapport aux autres , l'islam interdit les relations sexuelles multiples avec plusieurs personnes , c'est une protection pour la santé humaine contre les maladies sexuelles .

3.4.Mycoplasme

Du 5 janvier au 29 avril, 19 cas ont été examinés, 2 positifs.

Deux cas en 4 mois est considéré comme un résultat acceptable, c'est ce qui reflète lavage fréquent des mains, l'utilisation de désinfectants, couvrir la bouche lorsque l'on tousse ou lorsque l'on éternue, malgré l'environnement qui favorise la propagation de telles maladies.

4. Etude de résistance bactérienne aux antibiotiques

Après la confirmation des isolats bactériens on a procédé à l'étude d'antibiorésistance.

4.1.Etude de résistance bactérienne aux antibiotiques chez les Gram négatif

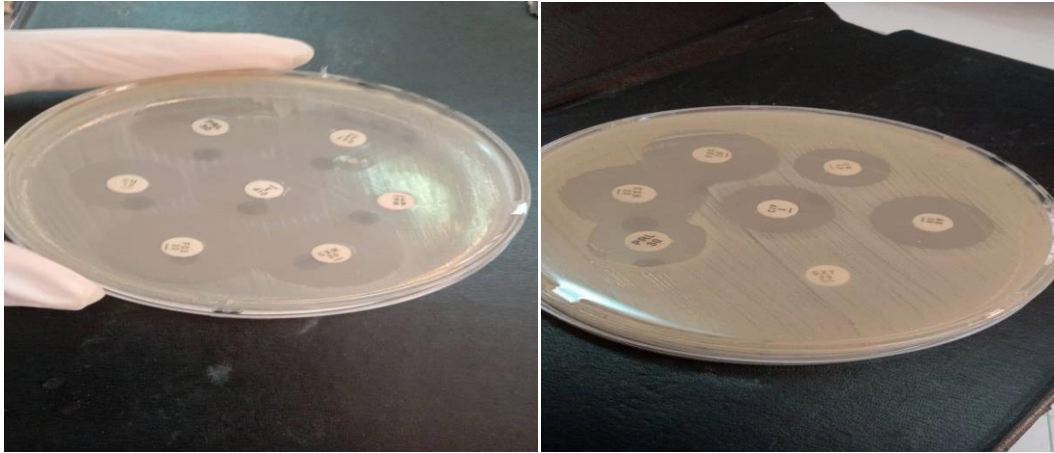
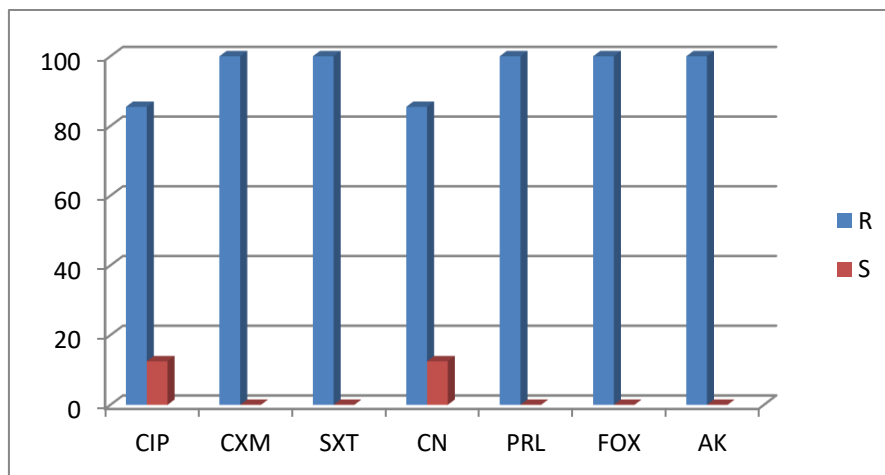
4.1.1. Les entérobactéries

4.1.1.1.Taux d'antibiorésistance chez *E. coli*

Les résultats de l'antibiorésistance chez *E.coli* sont représentés dans le Tableau11, Figure 41 et Figure42

Tableau 11.Taux d'antibiorésistance chez *E .Coli*

Bactérie/ATB	CIP	AK	CXM	SXT	CN	PRL	FOX
<i>E. coli</i> PB191	R	R	R	R	R	R	R
<i>E. coli</i> PB184	R	R	R	R	R	R	R
<i>E. coli</i> PB183	R	R	R	R	R	R	R
<i>E. coli</i> PB179	R	R	R	R	R	R	R
<i>E. coli</i> PB122	R	R	R	R	R	R	R
<i>E. coli</i> PB153	S	R	R	R	S	R	R
<i>E. coli</i> PB109	R	R	R	R	R	R	R
<i>E. coli</i> PB33	R	R	R	R	R	R	R

Figure 41. Antibiogramme des souches d'*E. coli* (photo personnelle)Figure 42. Taux de l'antibiorésistance chez souches des *E. coli*

Les résultats obtenus nous ont permis de constater que les antibiotiques sensibles faibles actifs. En revanche, nous avons enregistré un taux de résistance élevé de CN et AK, CXM, SXT et RRL, FOX et AK. Cependant, pour les antibiotiques testés.

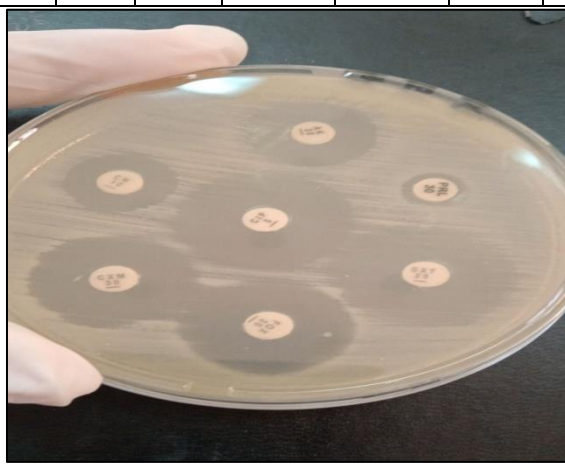
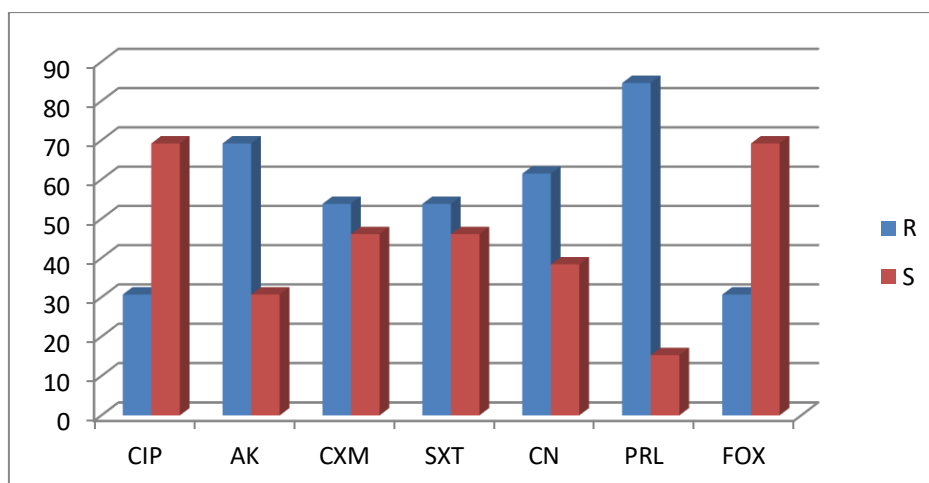
4.1.1.2. Taux d'antibiorésistance chez *Klebsiella sp*

Les résultats de l'antibiorésistance chez *E. coli* sont représentés dans le Tableau 12, Figure 43 et Figure 44

Tableau 12. Taux d'antibiorésistance chez souches des *Klebsiella sp*

Bactérie/ATB	CIP	AK	CXM	SXT	CN	PRL	FOX
KP PB192	S	S	S	S	R	R	R
KP PB186	R	R	S	R	R	R	S

KP PB185	S	R	S	S	R	R	S
KP PB146	S	R	S	S	S	R	S
KP PB107	S	S	S	S	R	S	S
KP PB134	R	S	R	R	S	R	S
KP PB39	R	R	R	R	R	R	R
KP PB151	S	R	R	R	S	R	S
KP PB152	S	R	R	R	S	R	S
KP PB141	S	R	S	S	R	S	S
KP PB40	S	R	R	R	R	R	R
KP PB143	R	R	R	R	R	R	S
KP PB74	S	S	R	S	S	R	R

Figure 43. Antibiogramme des souches de *Klebsiella sp* (photo personnelle)Figure 44. Taux d'antibiorésistance chez *Klebsiella sp*

Selon la figure 44, nous avons observé parmi les 13 souches de *Klebsiella sp* testées, 84,6 % étaient résistantes à Pipéracilline et 69,2% à l'Amikacine et 61,5% à la Gentamicine et 53,8 a la (Céfuroxime et Triméthoprine-Sulfaméthoxazole).

Ces souches présentent une très sensibilité (69,2%) pour la (Ciprofloxacine et Céfoxitine).

Pour *Klebsiella sp* nous résultat enregistrées un taux de résistance plus élevé de Amoxicilline 87 ,5% et pour l'*E. Coli* l'antibiotiques le plus élevé est Amoxicilline 77,7% par contre dans autre résultat on note une résistance plus élevée chez K. pneumonie et E. coli avec un taux de Amoxiciline 93,5% et 100% (Souna, 2010).

Les souches de *Klebsiella* isolées à partir prélèvement présentent un taux de résistance faible aux Ciprofloxacine 26%, des études réalisés en France donnent un taux similaire à notre résultat (Koeck et al. 1996). Les autres souches des *E. coli*, *Proteus* et *Enterobacter* montrent des résistances plus faibles à cet antibiotique avec 10% ,0% 1% respectivement. Les mêmes résultats ont été rapportés par (Souna, 2010). Ces résultats sont similaires a nos résultats sauf que le Ciprofloxacine plus élevé pour l'*E. coli* plus 80%.

Selon (Meradi et al. 2011), la résistance des souches d'*E. Coli* aux ciprofloxacine est expliqué par l'inactivation par une acétylation de cet antibiotique par la présence probable d'un enzyme.

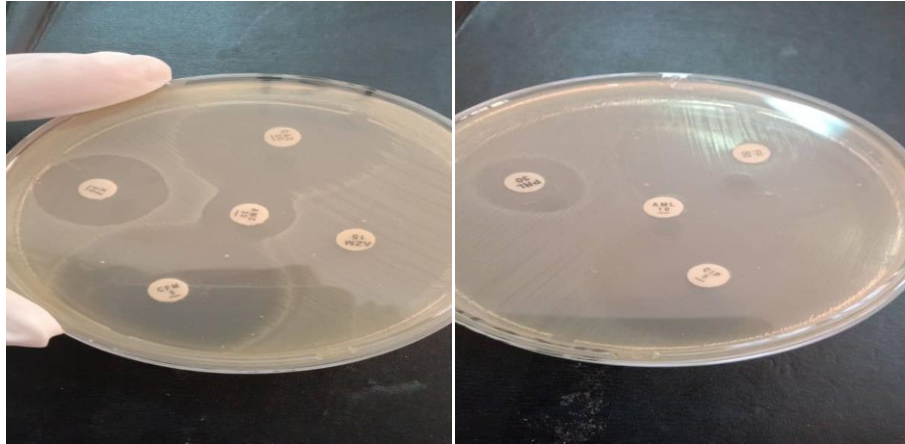
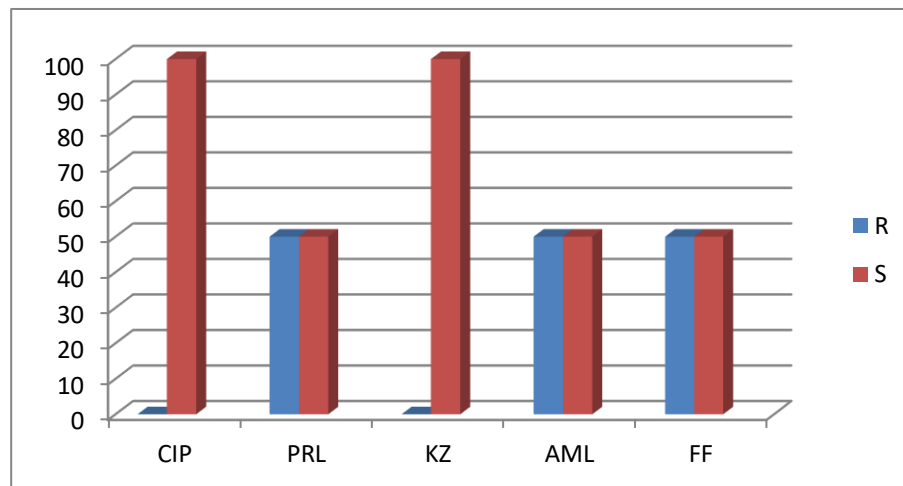
La résistance aux aminosides observée dans notre étude est élevée, 43,8% pour la gentamycine et 61,5% pour l'amikacine et 87,5. Nos résultats identiques a ce qui menées (Mechergui et al.2011). En effet, on observe des taux faible de résistance aux aminosides qui est rapporté par (Koeck et al, 1996).

4.1.1.3.Taux d'antibiorésistance chez *Proteus*

Les taux de résistant aux antibiotiques chez *Proteus* sont représentés dans le tableau 22 et figures45, 46.

Tableau13.Taux d'antibiorésistance chez *Proteus*

Bactérie/ATB	CIP	RRL	KZ	AML	FF
<i>Proteus</i> PB187	S	S	S	S	S
<i>Proteus</i> PB131	S	R	S	R	R

Figure 45. Antibiogramme des souches de *Proteus* (photo personnelle)Figure 46. Taux d'antibiorésistance chez *Proteus*

Selon la figure 46, nous avons observé parmi les 2 souches de *Proteus* testées, ces souches présentent une sensibilité très remarquable pour la Ciprofloxacine et Céfazoline par contre certain souches de *Proteus* étaient résistantes a la PRL (50%) et AML (50%), FF (50%) et pour certains il est sensible pour cette antibiotiques.

4.1.2. Taux d'antibiorésistance chez Les bactérie non entérobactéries (*Pseudomonas*)

Tableau14. Taux d'antibiorésistance chez des souches *Pseudomonas*

Bactérie/ATB	CN	PRL	CIP	CAZ
<i>Pseudomonas</i> PB110	R	R	S	R
<i>Pseudomonas</i> PB108	R	R	S	R

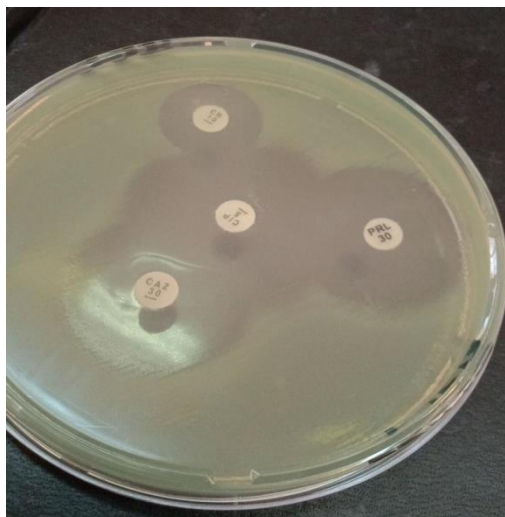


Figure 47. Antibiogramme des souches de *Pseudomonas* (photo personnelle)

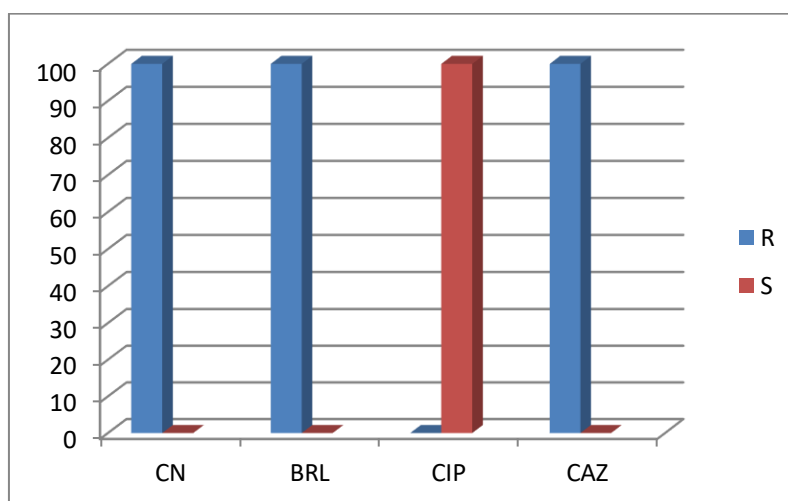


Figure 48. Taux d'antibiorésistance chez *Pseudomonas*

L'étude de la résistance aux antibiotiques a révélé que toutes les souches de *Pseudomonas* ont été sensibles à Ciprofloxacine (CIP) c'est une l'antibiotique le plus actif dans cette étude .par contre, toutes les souches pseudomonase étaient résistantes a la Gentamicine (CN) et Pipéracilline (PRL),Ceftazidine (CAZ).

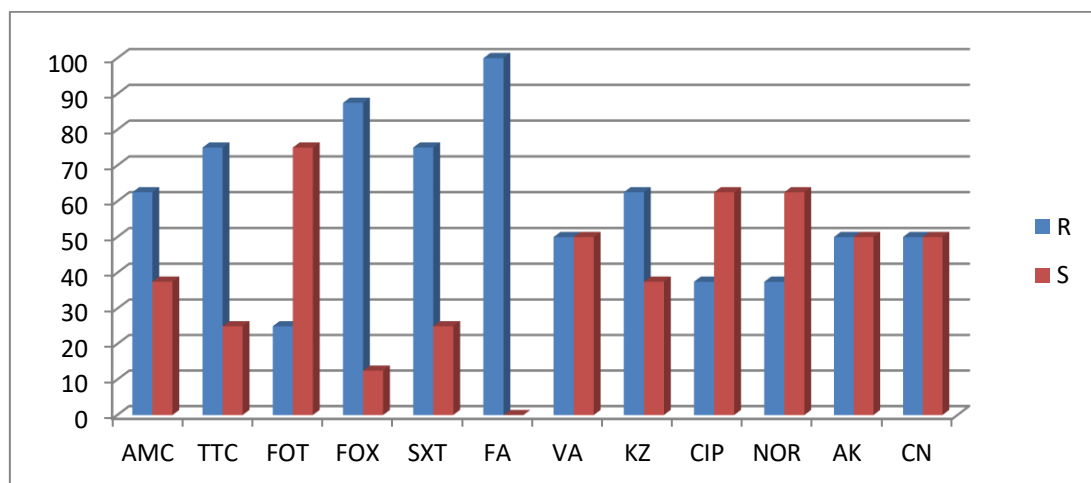
4.2.Etude de résistance bactériennechez les Gram positif

4.2.1. Taux d'antibiorésistance chez *Staphylococcus aureus*

Les taux de sensibilité et des résistants aux antibiotiques chez *S.aureus* sont représentés dans le tableau 24 et figure 49 et figure 50.

Tableau 15 .Taux d'antibiorésistance chez *Staphylocoques aureus*

Bactérie/ATB	AMC	TTC	FOT	FOX	SXT	FA	VA	KZ	CIP	NOR	AK	CN
Staph PB90	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Staph PB126	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S
Saph PB144	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
Saph PB148	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S
Saph PB149	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
Saph PB155	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Saph PB156	R	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S
Saph PB189	R	R	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R

Figure 49. Antibiogramme des souches de *Staphylococcus aureus* (photo personnelle)Figure 50. Taux de l'antibiorésistance chez les souches *Staphylococcus aureus*

D'après la figure 50, on note que les souches *S.aureus* montrent une résistance élevée à Acide fusidique (100%), Céfoxitine (87,5%), Ticarcillin /Acide clavulanique et

Triméthoprime-Sulfaméthoxazole (75%), Amoxicilline et Céphazoline (62,5%). Les autres antibiotiques (FOT et CIP, NOR) ont montrés une activité totale sur les souches de *S.aureus*.

Cependant, pour les antibiotiques testés, des taux de résistance des degrés variables ont été observés.

En effet, nos résultats montrent un taux significatif de résistance à la majorité antibiotiques testés. Que les souches *S.aureus* montrent une très faible résistance de Ciprofloxacine et un taux de résistance de 54% à la ciprofloxacine au niveau de l'hôpital de Namazi et Faghiri (Iran) ce résultat sont similaires aussi par (Touaitia et al. 2015).

Nos résultats pour les souches *S.aureus* obtenus un taux moyenne résistance de Gentamicine et Amikacine qui est (50%) Ces résultats sont similaires au niveau des hôpitaux de Namazi et Faghiri (Iran) et Frantz fanon et amizour (Algérie).

4.2.2. Taux d'antibiorésistance chez *Streptococcus sp*

Tableau 16. Taux d'antibiorésistance chez des souches *Streptococcus sp*

Bactérie/ ATB	KZ	LEV	CXM	TE	DA	AZM	SXT	VA	NOR	AML	FOX	CIP
<i>StrepPB117</i>	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
<i>StrepPB111</i>	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
<i>StrepPB54</i>	S	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R

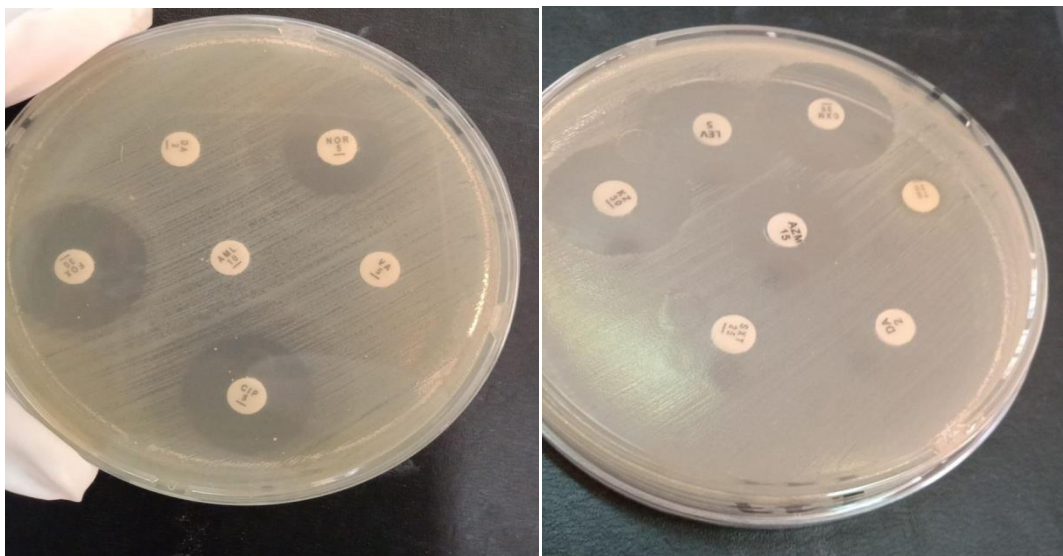


Figure 51. Antibiogramme des souches de *Streptococcus sp* (photo personnelle)

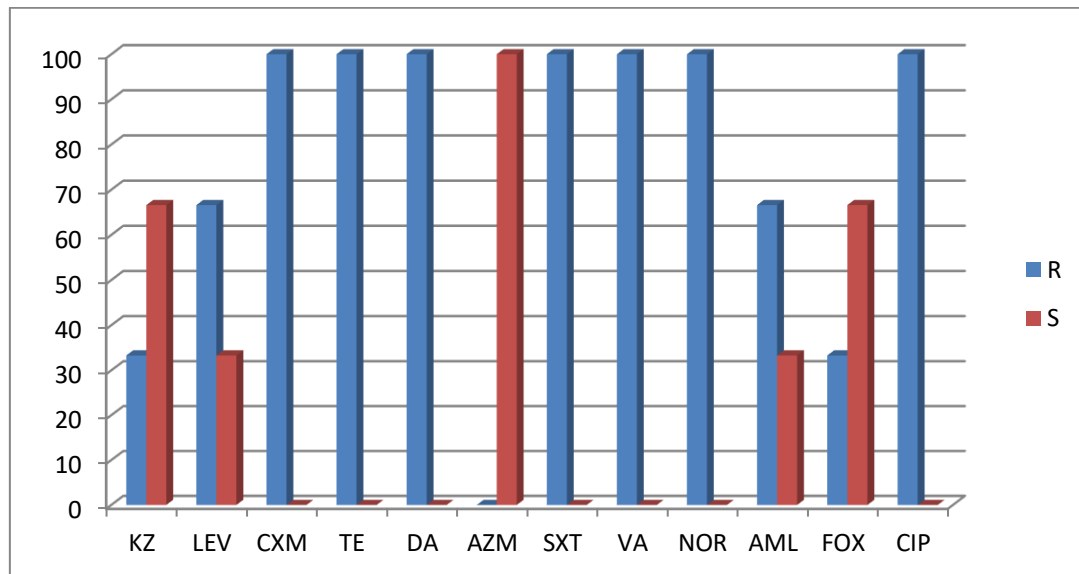


Figure52. Taux d'antibiorésistance chez souches de *Streptococcus* sp

Les résultats obtenus nous ont permis constater que les antibiotiques les plus actifs sur les souches testées sont : AZM (100%), KZ (66,6%), FOX (66,6%).

Nous avons enregistrées tous les souches de *Streptococcus* sp étaient résistance élevé de (CXM et TE, DA, SXT, VA, NOR et CIP) 100% et (LEV, AML) (66,6%).

D'après nos résultats, le taux de résistance des *Streptococcus* sp. À l'amoxicilline et élevé 66,6 %, Il est donc supérieur à celui d'une étude tunisienne qui ne rapporte aucune résistance (SAIDANI M., 2010) L'antibiorésistance en Tunisie (LART).

4.2.3. Taux d'antibiorésistance chez *Enterococcus* sp

Les résultats de l'antibiogramme des 6 souches d'*Enterococcus* sp sont représentés dans le tableau17 et la figure 53.

Tableau 17.Taux de l'antibiorésistance chez d'*Enterococcus* sp

Bactérie/ATB	S300	CN	LEV	AML	VA	NOR
<i>Enterococcus</i> PB80	R	R	R	S	R	R
<i>Enterococcus</i> PB81	R	R	R	R	S	R
<i>Enterococcus</i> PB83	R	R	R	S	R	R
<i>Enterococcus</i> PB36	S	R	R	R	R	R
<i>Enterococcus</i> PB88	S	R	S	S	S	R
<i>Enterococcus</i> PB89	R	R	R	R	S	R

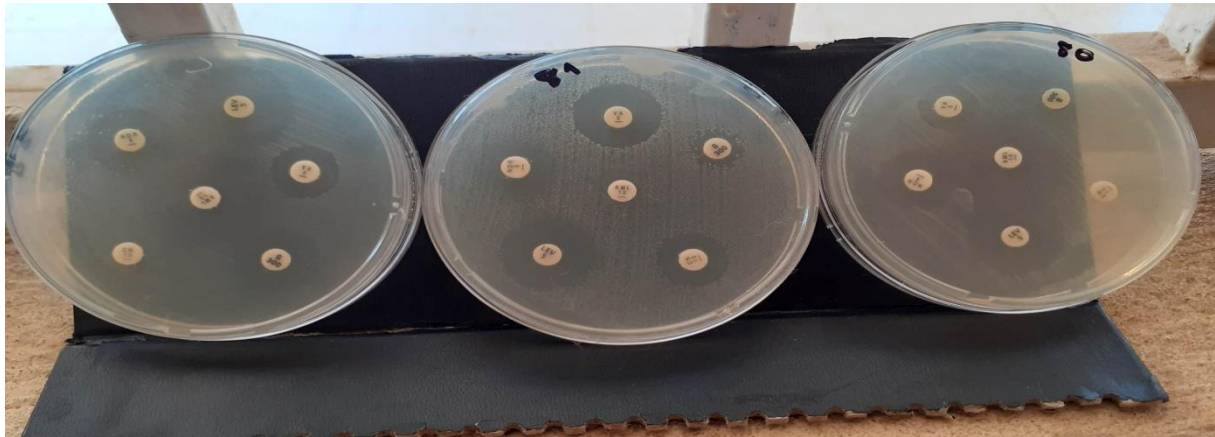


Figure 53. Antibiogramme des souches d'*Enterococcus sp* (photo personnelle)

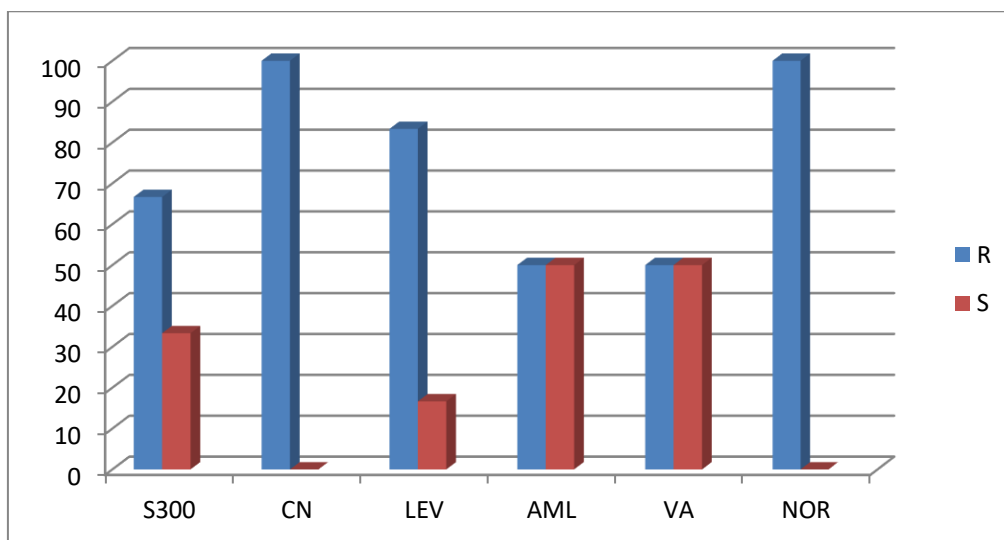


Figure 54. Taux de l'antibiorésistance chez souches d'*Enterococcus sp*

Nous avons enregistré une résistance très élevée de nos souches d'*Enterococcus* aux fluoroquinolones 100% pour Norfloxacin et 80% pour Levofloxacin. Une résistance à 100% a été observée aussi pour la Gentamicine. Cependant, pour les glycopeptides (Vancomycine) on note une résistance à 50%. Ce taux est remarquablement élevé annonçant alors l'émergence d'Entérocoque résistant à la vancomycine dont le premier rapport en Algérie a été publié en 2006 par (Aggoune *et al.* 2008). Notre résultat est similaire à celui (52%) trouvé dans une étude récente en Algérie (Zerrouki *et al.* 2021).

5. Détection des bactéries multi résistance (BMR)

5.1. Recherche de BLSE

Parmi 99 souches d'entérobactéries isolées et en fonction du profil d'antibiorésistance 25 souches (15 *Klebsiella* et 10 *E.coli*) ont été testées pour la production de BLSE en utilisant la méthode de test de synergie.

Le résultat du test nous a permis de détecter 17 souches productrice de BLSE (8 souches *Klebsiella sp* et 9 souches *E.coli*) soit un taux de 68% du total de 25 souches testées. Les figures (55 et 56) représentent l'image de synergie (formation de l'aspect bouchon de champagne) chez quelques souches de *Klebsiella sp* et *E.coli*.

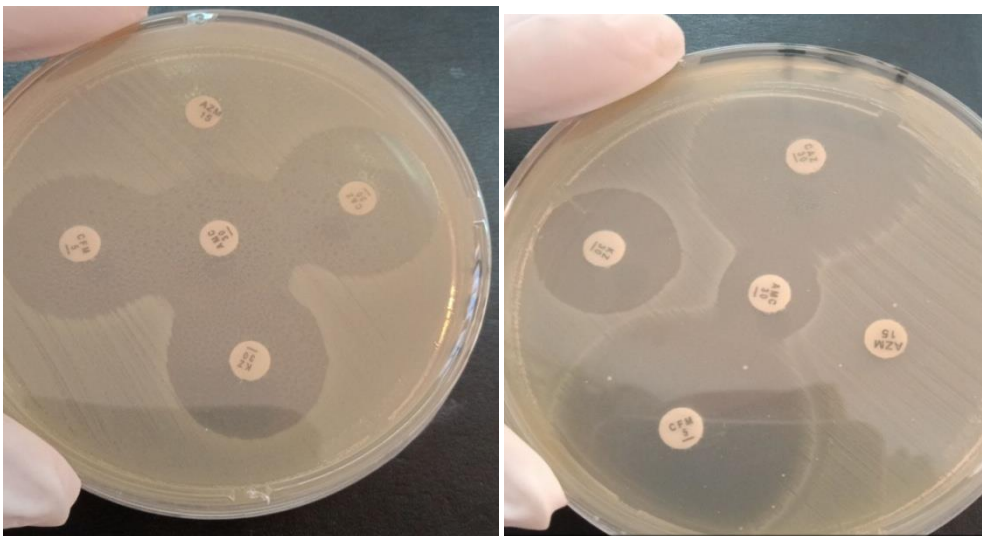


Figure 55. Image de synergie (BLSE+) des souches de *Klebsiella sp* (photo personnelle)

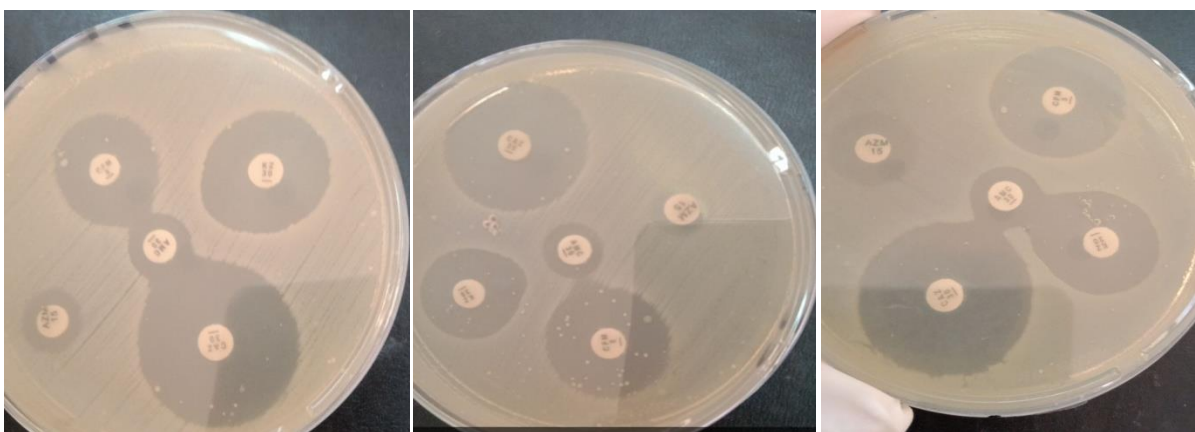


Figure 56. Image de synergie (BLSE+) des souches d'*E.coli* (photo personnelle)

En outre, le problème lié aux BLSE est surtout la présence fréquente de corésistances rendant les souches multirésistantes (Leotard&Negrin, 2010). En effet, les BLSE sont généralement portées par de grands plasmides qui portent aussi des gènes de résistance aux classes d'antibiotiques non β -lactamines tels que les aminoglycosides, les quinolones et le triméthoprim/sulfaméthoxazole ; aussi, l'utilisation de ces antibiotiques contribuent à la sélection des souches productrice de BLSE (Paterson, 2006).L'incidence d'apparition des résistances aux aminosides a augmenté ces dernières années et particulièrement chez les souches productrices de BLSE (Spanu et al, 2002).

Dans notre étude, les souches productrice BLSE positive étaient totalement sensibles à Céfazoline, Ceftazidine, Céfixime, la même constatation à été rapporté dans plusieurs études réalisé auparavant (Gangoué-Piéboji, 2007; Wu et al, 2010).

5.2.Détection des SARM

Sur les 8 *S.aureus* identifiées, 7 souches *S. aureus* résistantes à la céfoxitine soit un taux de 87.5%, cette prévalence est statistiquement plus élevée que celle de 44.6% obtenue par Touaitia et *al.* à la communauté de Annaba (Touaitia et *al.*2015) et plus importante que celle de 62,2% rapportée par Alioua et al au CHU de Annaba (Alioua et *al.* 2014).

5.3.Détection des SARV

Sur les 8 *S.aureus* identifiées, On a testé 6 à screening test à Vancomycine (figure 57) nous ont permis de détecter 2 souches de *S. aureus* résistant à la Vancomycine, soit un taux de 33,3%.



Figure 57. Test de screening de *Staphylococcus aureus* (photo personnelle)

Nous remarquons la présence d'une culture d'une plus de colonie dans les zones des Souches testées sont résistante a la vancomycine.

Une absence de culture dans la zone d'une souche à tester et aussi du témoin négatif est sensible à la vancomycine.

La sensibilité réduite à la vancomycine a rapidement conquis le monde avec des cas signalés aux Etats Unis, en Europe et en Afrique (Tacconelli et *al.* 2007).

5.4.Détection des ERV (*Enterococcus* résistant à la Vancomycine)

Sur les 6 *Entérocooccus*sp identifiées, et selon le résultat du test de sensibilité à la vancomycine par disque, trois souches ont été mises au test de screening à la vancomycine pour confirmer cette résistance.

Une souche de *S.aureus* ATCC 25923(sensible à la vancomycine) a étéensemencée pour le contrôle du test.

Parmi les trois souches testées 2 ont désormais être vanco-résistantes en poussant sur la gélose soit un taux de 66.66 %. Une souche paraît sensible à la vancomycine en comparant avec la zone de la souche de référence (figure 58).

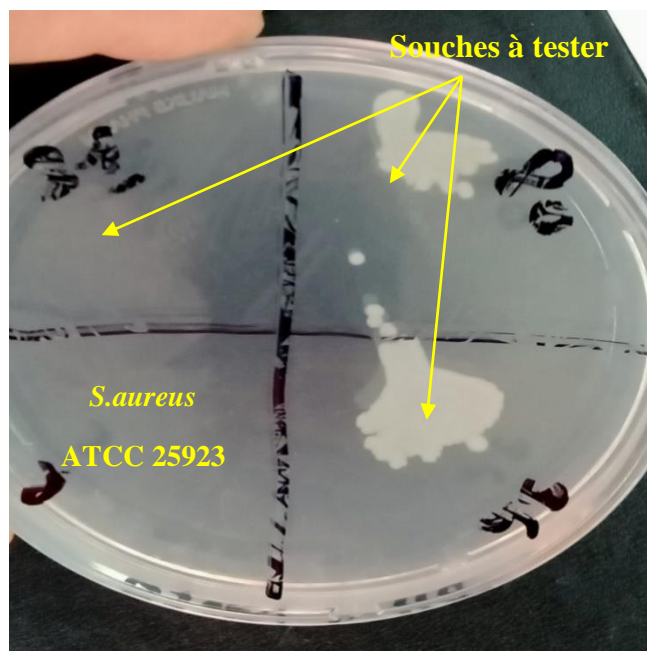


Figure58.Test de screening à la vancomycine d'*Enterococcus* Sp (photo personnelle)

La résistance à la vancomycine chez les *Enterococcus* est souvent acquise par le biais de gènes de résistance qui peuvent être transmis entre les bactéries. La résistance à la vancomycine peut limiter les options de traitement disponibles, nécessitant parfois l'utilisation d'antibiotiques plus puissants et potentiellement plus toxiques (Fisher et *al.* 2019)

Conclusion

Conclusion

Ce travail, réalisé sur une période de quatre mois au niveau du laboratoire d'analyses médical ELNOUR la daiera de Cheria et complétée dans le laboratoire de microbiologie de la faculté Echahid Cheikh Larbi Tebessi, avait pour objectif d'étudier le profil épidémiologique de différentes souches bactériennes d'origine cliniques et l'évaluation de la résistance vis-à-vis de quelques antibiotiques ainsi de rechercher les bactéries multirésistantes.

Durant cette étude, 118 souches ont été isolées des à partir de six types de prélèvements cliniques (urinaire, vaginale, PUS, selles, LCR, sperme). Les souches ont été majoritairement isolées des prélèvements urinaires avec un taux de 80,5%. Les résultats de l'identification ont révélés que la fréquence des bactéries responsables d'infections est dominée par la famille des Enterobacteriaceae avec *Klebsiella sp* au premier rang 40,67%, suivie d'*E. coli* 39,83% , 1,69 % *Proteus*, 1,69 % *Pseudomonas* et 1,69 % *Serratia*. Des cocci Gram positif ont été isolés aussi représentés par 6,77% de *Staphylococcus aureus*, 5,08% d'Enterococcus, 2,5% de *Streptococcus*. L'identification de ces bactéries par les méthodes conventionnelles a permis de confirmer la pureté de ces souches et d'étudier leurs antibiorésistance par la méthode de diffusion sur la gélose Muller Hinton.

L'émergence des BMR (Bactéries Multi-Résistantes) est un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Les BMR émergent lorsque des bactéries développent des mécanismes de résistance à plusieurs classes d'antibiotiques.

La détection des bactéries productrices de BLSE (bêta-lactamases à spectre élargi) est essentielle pour guider le traitement approprié des infections et pour prendre des mesures de contrôle des infections. Les bactéries produisant des BLSE montrent généralement une résistance accrue aux antibiotiques de la famille des pénicillines et des céphalosporines. Les tests de sensibilité aux antibiotiques, tels que la diffusion en gélose ou les tests de dilution, peuvent révéler cette résistance. La Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) fournissent des recommandations et des protocoles pour la réalisation de ces tests.

Dans notre étude une multirésistance importante a été constatée par l'analyse du profil de sensibilité aux antibiotiques des souches isolées et essentiellement des entérobactéries.

Outre les BLSE, les SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline) qui est un pathogène opportuniste qui peut causer une large gamme d'infections, allant des infections

cutanées mineures, telles que les furoncles et les infections de la peau, aux infections plus graves, telles que les pneumonies, les infections sanguines (bactériémies) et les infections des tissus profonds. Le SARM a été largement rapporté dans les hôpitaux (SARM associé aux soins de santé) et dans la communauté (SARM communautaire). Cependant, la prévalence du SARM peut varier d'un pays à l'autre et même au sein des différentes régions d'un même pays. Une prévalence élevée des SARM a été enregistré dans notre étude.

En plus de la résistance à la méthicilline, certaines souches de SARM peuvent développer une résistance à d'autres antibiotiques, y compris la vancomycine, ce qui les rend extrêmement difficiles à traiter. Ces souches de SARM résistantes à la vancomycine sont appelées VRSA (Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*).

L'émergence de la résistance à la vancomycine chez *Enterococcus* et d'autres bactéries est un problème préoccupant en matière de santé publique. L'utilisation généralisée de la vancomycine et d'autres antibiotiques a favorisé l'évolution des souches bactériennes résistantes au fil du temps

Il est crucial de mettre en œuvre des mesures de prévention et de contrôle des infections pour limiter la propagation des BMR. Cela inclut des pratiques d'hygiène rigoureuses, l'utilisation judicieuse des antibiotiques, la promotion de la vaccination, et le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques pour lutter contre les infections résistantes aux antibiotiques.

Notre étude ouvre de nombreuses perspectives :

- Etudier une population plus importante pendant une période plus longue pour décrire le taux des infections aux BMR.
- Evaluation des méthodes plus pratiques et rapides pour la détection des BMR. Il est primordial de conduire des études d'épidémiologie moléculaire afin de comprendre et de contrôler la diffusion et l'augmentation de la résistance aux antibiotiques et pour savoir la clonalité des souches impliquées dans les infections aux BMR en Algérie.
- Des études sont nécessaires également sur la transmission des BLSE et SARM et sur l'efficacité des interventions de lutte contre l'infection, et les résultats des stratégies d'éducation et de lutte contre l'infection pour prévenir et réduire les BMR.

Références bibliographiques

- Alioua MA , Labid A, Amoura K, Bertine M, Gacemi-Kirane D, Dekhil M (2014) Emergence of the European ST80 clone of community-associated methicillin-resistant.
- Atif M.-L., A. Bezzaoucha, S. Mesbah, S. Djellato, N. Boubechou, R. Bellouni, (2006), Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Montiel H, (1992). Bactériologie clinique, 2^{ème} édition Paris. P 168-171.
- Ben Haj Khalifa et al. (2010).Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uropathogènes à l'hôpital universitaire Tahar Sfar De Mehdia.Revue Tunisienne d'Infectiologie .Vol.4 . N°2. p. 60
- Benhadj, M., Touaitia, R., & Ouanadi, Y. (2019). Frequency and antibiotic resistance of Enterobacteriaceae isolated in community urinary tract infections at Tebessa Region. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 12(2), 9098-9101.
- Bentrouki, A. A., Gouri, A., Yakhlef, A., Touaref, A., Gueroudj, A., & Bensouilah, T. (2012). Résistance aux antibiotiques de souches isolées d'infections urinaires communautaires entre 2007 et 2011 à Guelma (Algérie). *Ann Biol Clin*, 70(6), 666-8.
- Boscia, J. A., Kobasa, W. D., Knight, R. A., Abrutyn, E., Levison, M. E., & Kaye, D. (1986). Epidemiology of bacteriuria in an elderly ambulatory population. *The American Journal of medicine*, 80(2), 208-214.
- CASFM et EUCAST recommandations, CASFM de 2010 à 2013 et l'EUCAST CASFM en 2014. 5.
- Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG (2000). Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* ; 13 : 686-707.
- Chagneau C , Floch P, Pasquier C, (2022) Bactériologie et virologie pratique (4^e édition). De Boeck Supérieur
- De Champs, C., Chanal, C., Sirot, D., Baraduc, R., Romaszko, J. P., Bonnet, R., ... & Sirot, J. (2004). Frequency and diversity of class A extended-spectrum β -lactamases in hospitals of the Auvergne, France: a 2 year prospective study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(3), 634-639.
- Delarras, C. (1998). Microbiologie: 90 heures de travaux pratiques: enseignement commun et préparatoire a genie de l'environnement. Gaëtan Morin Editeu
- Delarras, C., 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôles sanitaire. Editions : médicales internationales. Paris : Lavoisier, P 357, 248, 250, 339.
- Dessi, A., Puddu, M., Testa, M., Marcialis, M. A., Pintus, M. C., & Fanos, V. (2009). *Serratia marcescens* infections and outbreaks in neonatal intensive care units. *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)*, 21(5), 493-499.
- Djebbari N., Boudjadi Z. et bensouilah M.(2009). L'infestation de l'anguille *Anguilla anguilla* par le parasite + *Anguillicolacrassus* Kuwahara, Niimi et I tagaki, dans le complexe de Zone

humide d'EL Kala(Nord-Est algérien). Université Badji Mokhtar Annaba, Faculté des sciences, Laboratoire d'écologie des milieux marines et littoraux. Annaba. P : 45-50.

Duckett S. (1999). Ernest Duchesne and the concept of fungal antibiotic therapy. *Lancet* 354 :2068–2071.

El Bouamri, M. C., Arsalane, L., Kamouni, Y., Yahyaoui, H., Bennouar, N., Berraha, M., & Zouhair, S. (2014). Current antibiotic resistance profile of uropathogenic *Escherichia coli* strains and therapeutic consequences. *Progrès en urologie: journal de l'Association française d'urologie et de la Société française d'urologie*, 24(16), 1058-1062.

El Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R. 2012. Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. PATBIO-3048; No. of Pages 8.

Engel, H. J., Collignon, P. J., Whiting, P. T., & Kennedy, K. J. (2009). *Serratia* sp. bacteremia in Canberra, Australia : a population-based study over 10 years. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 28(7), 821-824.

Fisher, L. M., & Phillips, M. E. (2019). The emergence of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(3), e00146-18. doi: 10.1128/CMR.00146-18

Frenoy J, R. F., Hansen W, and Bollet TC. 2000. Précis de bactériologie clinique.

Frenod, E. (2006). Existence result for a model of *Proteus mirabilis* swarm.

Gharout-Sait A, Touati A, Benallaoua S, Guillard T, Brasme I, et al. (2012) CTX-M from community-acquired urinary tract infections in Algeria. *J Microbiol Res* 6(25): 5306-5313

Gilles B, Charles c, 2015- guide du bon usage de médicament, les infections urinaires communautaires de l'adulte, 861p

Grimont, F., & Grimont, P. A. D. (1992). The genus *Serratia*. *The Prokaryotes*, 3, 2822–2848.)

Guilfoile P.G. (2007), Antibiotic-resistant bacteria. Chelsea house.

Guillaume, J. L., & Latapy, M. (2004). Bipartite structure of all complex networks. *Information processing letters*, 90(5), 215-221.

Hafiane, A., & Ravaoarino, M. (2008). Various typing methods of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 38(5), 238-247.

Hanane Zerrouki, Sid-Ahmed Rebiahi, Linda Hadjadj, Fatmi Ahlem, Yamina Elhabiri, Tahar Sedrati, Jean-Marc Rolain, Seydina M. Diene, High frequency and diversity of Vancomycin-resistant Enterococci (VRE) in Algerian healthcare settings, *Infection, Genetics and Evolution*, Volume 92, 2021,

Hede, Karyn. (2014). “An Infectious Arms Race.

- Hossain Z ., 2014. History, Science and Methods. Encyclopedia of Food Safety.
- Imai, Yu, Kirsten J. Meyer, Akira Iinishi, Quentin Favre-Godal, Robert Green, Sylvie Manuse, Mariaelena Caboni, et al. 2019. “A New Antibiotic Selectively Kills Gram-Negative Pathogens.” *Nature* 576 (7787): 459–64. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1791-1>.
- Jacoby GA, Munoz-Price LS (2005). The new β -lactamases. *N Engl J Med*;352:380-91
- Jalil, M. T. M., Ibrahim, D., & Suhaimi, N. S. M. (2020). Time-kill study and morphological changes of *Proteus mirabilis* cells exposed to ethyl acetate crude extract of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* IBRL OS-64. *Malays. J. Microbiol.* Vol 16(3), pp. 219-228 DOI: <http://dx.doi.org/10.21161/mjm.190605>.
- Jauréguy, F. (2009). Déterminants cliniques et bactériens au cours des infections extra-intestinales dues à *Escherichia coli*. *médecine/sciences*, 25(3), 221-223.
- Joffin JN, Leyral G (2001). Microbiologie technique : Dictionnaire des techniques,
- Joutei H.A.H., Hilali A., Fechтали T, Rhallabi N. et Benomar H. 2008. L'infection à *Helicobacter pylori* chez 755 patients présentant des symptômes digestifs : Institut Pasteur du Maroc, 1998-2007
- Kac, G., Podglajen, I., Vaupré, S., Colardelle, N., Buu-Hoï, A., & Gutmann, L. (2004). Molecular Epidemiology of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Isolated From Environmental and Clinical Specimens in a Cardiac Surgery Intensive Care Unit. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 25(10), 852-855. doi:10.1086/502308
- Ktari, S., Mahjoubi, F., Mnif, B., Kallel, H., Bouaziz, M., & Hammami, A. (2010). Investigation de trois épidémies d'infections nosocomiales à *Serratia marcescens* survenues dans le service de réanimation-CHU de Sfax, Tunisie [Investigation of three nosocomial outbreaks of *Serratia marcescens* in an intensive care unit in Sfax-Tunisia]. *La Tunisie médicale*, 88(7), 501–506.
- Levent, T., Gauthier, M., Dezorzi, S., Paradis, P., Alibert, J., Bettoni, C., & Stock, B. (2005). L'hygiène hospitalière et le conseil en antibiothérapie: un duo opérationnel face au problème de la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. *Médecine et maladies infectieuses*, 35(9), 443-449.
- Ling, Losee L., Tanja Schneider, Aaron J. Peoples, Amy L. Spoering, Ina Engels, Brian P. Conlon, Anna Mueller, et al. (2015). “A New Antibiotic Kills Pathogens without Detectable Resistance.” *Nature* 517 (7535): 455–59. <https://doi.org/10.1038/nature14098>.
- Lobel, B ., Soussy, C . (2007). Les infections urinaires. Paris : Springer-Verlag .p.75.
- Maïworé, J., Baane, M., Youssouf, D., Bole, J., & Nango, F.Y. (2021). Portage Digestif des Bêta-Lactamases à Spectre Élargi Chez Quelques Patients de l'hôpital de la Caisse Nationale de Prévoyance Sociale de Maroua (Cameroun). *European Scientific Journal ESJ*.
- Malin A, 2002-Manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique. Ed ,John LibbeyEurotext232p
- Mañas P, Mackey BM (2004). Morphological and physiological changes induced by high hydrostatic pressure in exponential- and stationary-phase cells of *Escherichia coli*:

relationship with cell death. *Appl Environ Microbiol.* Mar;70(3):1545-54. doi: 10.1128/AEM.70.3.1545-1554.2004. PMID: 15006777; PMCID: PMC368324.

Margaux Lustig (2022). Etude du mécanisme d'efflux des pompes MexAB-OprM et MexXY-OprM chez *Pseudomonas aeruginosa*, pathogène multirésistant présent dans les poumons de patients mucoviscidose.. *Biologie structurale [q-bio.BM]*. Université Paris Cité.

Marinella, M. A., & Warwar, R. (1998). Endogenous endophthalmitis due to *Serratia marcescens*. *Southern Medical Journal*, 91(4), 388. 3ème Edit ion, Bordeaux : CRDP d'Aquitaine. 320.Algeria. *Med Mal Infect* .44(4):180-3.

Martine B.L, Botto H, 1997-Infections urinaires nosocomiales, Formation médicale continue, Progrès en Urologie : Transplantation rénale.

Masters EA, Muthukrishnan G, Ho L, Gill AL, de Mesy Bentley KL, Galloway CA, McGrath JL, Awad HA, Gill SR and Schwarz EM (2021) *Staphylococcus aureus* Cell Wall Biosynthesis Modulates Bone Invasion and Osteomyelitis Pathogenesis. *Front. Microbiol.* 12:723498. doi: 10.3389/fmicb.2021.723498

Meftah N., Triki M., Hdidane Y., Cherif Y., Yangui F., Masmoudi M., et al. (2020). Particularités de l'infection nosocomiale dans un service de pneumologie. *Revue des maladies respiratoires actualités.* 12 : 243-244.

Meziani, M., Benlabeled, K., Bogaerts, P., & Glupczynski, Y. (2020). The first report of the coproduction of CMY-16 and ArmA 16S rRNA methylases in carbapenemase-ESBL producing *Escherichia coli* isolates. *European Journal of Biological Research*, 10(2), 96-104.

Mohammed, B. B., Shatti, Z. O., Jasim, E. I., Dari, W. A., & Alfraji, N. (2020). Local culture medium from the legumes mixture as a novel media for the growth and stimulation of prodigiosin pigment which production from *Serratia marcescens* that isolated environmentally. *Plant Archives*, 20(1), 991-1000.

Muller, A. (2017). Bon usage des antibiotiques : résultats d'actions dans différents types d'établissements de santé.

Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology spectrum*, 4(2), 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>

Murray BE (2000). Vancomycin-resistant enterococcal infections. *N Engl J Med* ; 342 : 710-21.

Nauciel C. (2000). *Bactériologie médicale*. P 55-64 .Ed Masson.

Nauciel C., Vildé JL., (2005). *Bactériologie médicale*. Ed. Masson. France. P : 77, 141.

OMS recommendations. (2013) Essential medicines and health products, Defined Daily Dose (DDD), Guidelines for ATC classification and DDD assignment OMS

Organe Officiel de la Société Française d'Histoire de la Médecine. (2002). "Histoire des sciences médicales."

Ould Brahim El Kory, M. (1998). Bacille pyocyanique (Doctoral dissertation, Annaba).

Plainvert C (2013). Etude de la biodiversité des souches de *Streptococcus pyogenes* responsables d'infections invasives et de cas groupés par une approche de génomique comparative. Paris Descartes.

Podschun, R. and U. Ullmann. 1998. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors.

Prescott LM, Willey J M , Sherwood L M, Woolverton C J, (2018). Microbiologie (5^e édition). De Boeck Supérieur

Sebald, Madeleine, and Daniel Hauser. (1995). "A Aembe historical perspective Pasteur, Oxygen and the Anaerobes Revisited." *Anaerobe*. Vol. 1.

Sharma, N., Singh, V., Pandey, A. K., Mishra, B. N., Kulsoom, M., Dasgupta, N., Khan, S., El-Enshasy, H. A., & Haque, S. (2019). Preparation and Evaluation of the ZnO NP-Ampicillin/Sulbactam Nanoantibiotic: Optimization of Formulation Variables Using RSM Coupled GA Method and Antibacterial Activities. *Biomolecules*, 9(12), 764. <https://doi.org/10.3390/biom9120764>.

Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (Médecine humaine et vétérinaire) 8^{ème} édition 2020. *Staphylococcus aureus* as a cause of healthcare-associated infections in Eastern

Rahima, T., Nafissa, B., & Abdelghani, D. (2015). Prevalence of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* and/or intermediate susceptibility to vancomycin isolated from private laboratories in Annaba" Algeria. *J Chem Pharm Res*, 7(5), 780-786.

Touaitia, Rahima. (2016). *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline: Emergence et mécanismes de résistance, Université Badji Mokhtar –ANNABA.

Van Houdt, R., Givskov, M., & Michiels, C. W. (2007). Quorum sensing in *Serratia*. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 407-424. doi : 10.1111/j.1574-6976.2007.00071.x)

Willems RJ, Bonten MJ (2007). Glycopeptide-resistant enterococci : deciphering virulence, resistance and epidemicity. *Curr Opin Infect Dis* ; 20 : 384-90.

Yarza P, Ludwig W, Euzéby J, Amann R, Schleifer K-H, Glöckner FO, Rosselló-Móra R. 2010. Update of the All-Species Living Tree Project based on 16S and 23S rRNA sequence analyses.

Zhang, H., Wei, W., Huang, M., Umar, Z., and Feng, Y. (2019). Definition of a Family of Nonmobile Colistin Resistance (NMCR-1) Determinants Suggests Aquatic Reservoirs for MCR-4. *Advanced science* (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany) 6(11): 1900038. doi:10.1002/advs.201900038.

Résumé

Les infections microbiennes occupent la première place dans les pathologies humaines, ils sont dus à l'action des agents pathogènes qui se développent au sein d'un tissu ou d'un organe. L'objectif de ce travail était la caractérisation phénotypique et l'étude de la résistance aux antibiotiques des souches d'origine clinique par l'évaluation de la prévalence des infections bactérienne communautaire et hospitalières dans la région de Chéria.

Cette étude consiste à mettre en évidence les caractéristiques phénotypiques des différentes souches cliniques (macroscopiques et microscopiques) ainsi que les tests biochimiques tels que (catalase, coagulase, API 20 E ...etc). Les résultats d'identification ont révélés que la fréquence des bactéries responsables d'infections est dominée par la famille des Enterobacteriaceae avec *Klebsiella sp* au premier rang 40.67%, suivie d'*E. coli* 39.83%, 1,69 % pour *Proteus*, *Psoudomonas* et *Serratia*. Des cocci Gram positif ont été isolé aussi ,6.77% de *Staphylococcus aureus*, 5.08% de *Entérocooccus*, 2.5% de *Streptococcus* .

L'évaluation de la résistance aux agents antimicrobiens a été déterminée par la méthode de diffusion de disques, .les résultats d'antibiogramme montrent qu'un grand nombre de ces souches présentent des phénotypes de résistance à une ou plusieurs familles d'antibiotiques.

En confirmant nos résultats avec d'autres tests pour la recherche des BMR, on a constaté une prévalence élevée de ces derniers par apport le total des souches testées (BLSE 68%, SARM 87.5, SARV 33.3% et ERV 66.6 %).

Les résultats de notre étude permettent aussi de fournir des données épidémiologiques sur les souches cliniques au niveau de la région Tébessa. Ce type d'étude d'incidence représente un des éléments épidémiologiques qui peut être intégré dans un programme plus global de lutte contre la dissémination des bactéries multirésistantes.

L'émergence des BMR pose un défi majeur pour le traitement des infections, en limitant les options thérapeutiques efficaces. Pour faire face à ce problème, il est essentiel de promouvoir une utilisation responsable des antibiotiques, de renforcer les mesures de prévention des infections, d'investir dans la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques.

Mots clés : les infections bactériennes, résistance aux antibiotiques, BMR, BLSE, SARM, ERV.

Microbial infections occupy the first place in human pathologies; they are due to the action of pathogenic agents that develop within a tissue or an organ. The objective of this work was the phenotypic characterization and the study of antibiotic resistance of strains of clinical origin by evaluating the prevalence of community and hospital bacterial infections in the region of Chéria.

This study consists of highlighting the phenotypic characteristics of the different clinical strains (macroscopic and microscopic) as well as biochemical tests such as (catalase, coagulase, API 20 E, etc.). The identification results revealed that the frequency of bacteria responsible for infections is dominated by the Enterobacteriaceae family with *Klebsiella sp* in first place 40.67%, followed by *E. coli* 39.83%, 1.69% for each of *Proteus*, *Psoudomonas* and *Serratia*. Gram positive cocci were also isolated 6.77% *Staphylococcus aureus*, 5.08% *Enterococcus*, 2.5% *Streptococcus*.

The evaluation of resistance to antimicrobial agents was determined by the disk diffusion method. The antibiogram results show that a large number of these strains present phenotypes of resistance to one or more families of antibiotics. By confirming our results with other tests for BMR research, we found a high prevalence of the latter compared to the total of the strains tested (ESBL 68%, MRSA 87.5, SARV 33.3% and VRE 66.6%). The results of our study also provide epidemiological data on clinical strains in the Tébessa region. This type of incidence study represents one of the epidemiological elements that can be integrated into a more global program to combat the spread of multiresistant bacteria.

The emergence of BMRs poses a major challenge for the treatment of infections, limiting effective therapeutic options. To tackle this problem, it is essential to promote responsible use of antibiotics, strengthen infection prevention measures, and invest in research and development of new antibiotics.

Keywords: *bacterial infections, antibiotic resistance, MBR, ESBL, MRSA, VRE.*

تحتل العدوى الميكروبية المرتبة الأولى في الأمراض التي تصيب الإنسان ؛ و هي ناتجة عن عمل العوامل المسببة للأمراض التي تتطور داخل الأنسجة أو العضو. الهدف من هذا العمل هو استخراج النمط الظاهري ودراسة مقاومة المضادات الحيوية للسلاسل ذات المنشأ السريري من خلال تقييم انتشار الالتهابات البكتيرية في المجتمع والمستشفيات في منطقة الشريعة .

تتمثل هذه الدراسة من إبراز الخصائص المظهرية للسلاسل السريرية المختلفة (الماكروسكوبية والميكروسكوبية) وكذلك الاختبارات البيوكيميائية مثل (الكاتلاز ، تجلط الدم ، API 20 E ، إلخ). أظهرت نتائج التحديد أن تواتر البكتيريا المسؤولة عن العدوى تسودها عائلة *Enterobacteriaceae* مع *Klebsiella sp* في المرتبة الأولى 40.67% ، تليها *E. coli* 39.83% و 1.69% لكل من *Proteus* و *Psoudomonas* و *Serratia*. كما تم عزل مكورات موجبة الجرام *Staphylococcus aureus* 6.77% ، *Enterococcus* 5.08% ، *Streptococcus* 2.5% .

تم تحديد تقييم مقاومة العوامل المضادة للميكروبات من خلال طريقة انتشار القرص. تظهر نتائج المضادات الحيوية أن عددًا كبيرًا من هذه السلالات تقدم أنماطًا ظاهرية للمقاومة لعائلة واحدة أو أكثر من المضادات الحيوية. من خلال تأكيد نتائجنا باختبارات أخرى لأبحاث المقاومة البكتيرية المتعددة للمضادات الحيوية ، وجدنا نسبة انتشار عالية لهذا الأخير مقارنة بإجمالي السلالات التي تم اختبارها (68% ESB ، 87.5% MRSA ، 33.3% SARV ، و 66.6% VRE).

توفر نتائج دراستنا أيضًا بيانات وبائية عن السلالات السريرية في منطقة تبسة. يمثل هذا النوع من دراسة الإصابة أحد العناصر الوبائية التي يمكن دمجها في برنامج أكثر عالمية لمكافحة انتشار البكتيريا متعددة المقاومة. يمثل هذا النوع من دراسة الإصابة أحد العناصر الوبائية التي يمكن دمجها في برنامج أكثر عالمية لمكافحة انتشار البكتيريا متعددة المقاومة.

يشكل ظهور المقاومة البكتيرية المتعددة للمضادات الحيوية تحديًا كبيرًا في علاج الالتهابات ، مما يحد من الخيارات العلاجية الفعالة. لمعالجة هذه المشكلة ، من الضروري تعزيز الاستخدام المسؤول للمضادات الحيوية ، وتقوية تدابير الوقاية من العدوى ، والاستثمار في البحث والتطوير لمضادات حيوية جديدة.

الكلمات المفتاحية: العدوى البكتيرية ، مقاومة المضادات الحيوية ، البكتيريا متعددة المقاومة، البكتيريا العنقودية

Annexes

Annexe 1. Composition des milieux d'isolement

(Eau distillée : 1000 ml)

pH = 7,4

- Gélose nutritive

Extrait de viande.....	01g
Extrait de levure.....	02g
Peptone.....	05g
Chlorure de sodium.....	05g
Agar.....	15g

- Gélose Chapman

Extrait de viande.....	01g
Peptones	11g
Chlorure de sodium	75g
Rouge de phénol	0.025g
Mannitol.....	10g
Agar.....	15g

- Gélose chocolat

Peptone tryptique de caséine	7.5g
Peptone pepsique de viande	17.5g
Amidon de maïs.....	1g
Hydrogénophosphate de potassium	4g
Dihydrogénophosphate de potassium.....	1g
NaCl	1g
Hémoglobine.....	10g
Agar.....	15g

- Gélose Hektoen

Protéose-peptone	12g
Extrait de levure	03g
Lactose.....	12g
Saccharose	12g
Salicine.....	02g
Citrate de fer III et d'ammonium	1.5g
Sels biliaires.....	09g
Fuchsine acide.....	0.1g
Bleu de bromothymol.....	0.065g
Chlorure de sodium.....	05g
Thiosulfate de sodium.....	05g
Agar.....	14g

- **Gélose Mackoncy**

Peptone de caséine	17g
Peptone de viande	03g
Lactose.....	10g
Mélange de sels biliaires.....	1.5g
Rouge neutre.....	0.03g
Chlorure de sodium.....	05g
Cristal violet.....	0.001g
Agar	10g

- **Gélose Muller Hinton**

Infusion de viande de bœuf	300ml
Peptone de caséine	17.5g
Amidon de maïs	1.5g
Agar	17g

Annexe 2. Résultats de recherche de Mycoplasme

<u>DateSaisie</u>	<u>Patient</u>	<u>Né(e)</u>	<u>Texte</u>
05/01/2023-091	██████████	26/12/1989	LIEU DU PRELEVEM
05/01/2023-091	██████████	26/12/1989	NATURE DU PRELE
05/01/2023-091	██████████	26/12/1989	Ureaplasma urealyt NEGATIF
05/01/2023-091	██████████	26/12/1989	Numération < 10 ³ UFC/ml UCC/ml
05/01/2023-091	██████████	26/12/1989	Mycoplasma homin POSITIF
05/01/2023-091	██████████	26/12/1989	Numération 10 ⁵ UFC/ml UCC/ml
12/01/2023-042	██████████	25/09/1995	LIEU DU PRELEVEM
12/01/2023-042	██████████	25/09/1995	NATURE DU PRELE
12/01/2023-042	██████████	25/09/1995	Ureaplasma urealyt NEGATIF
12/01/2023-042	██████████	25/09/1995	Numération 10 ³ UFC/ml UCC/ml
12/01/2023-042	██████████	25/09/1995	Mycoplasma homin NEGATIF
12/01/2023-042	██████████	25/09/1995	Numération < 10 ³ UFC/ml UCC/ml
15/01/2023-020	██████████	22/11/1989	LIEU DU PRELEVEM
15/01/2023-020	██████████	22/11/1989	NATURE DU PRELE sperme
15/01/2023-020	██████████	22/11/1989	Ureaplasma urealyt POSITIF
15/01/2023-020	██████████	22/11/1989	Numération 10 ⁶ UFC/ml UCC/ml
15/01/2023-020	██████████	22/11/1989	Mycoplasma homin NEGATIF
15/01/2023-020	██████████	22/11/1989	Numération < 10 ³ UFC/ml UCC/ml
15/01/2023-105	██████████	10/05/1984	LIEU DU PRELEVEM VAGINALE
15/01/2023-105	██████████	10/05/1984	NATURE DU PRELE
15/01/2023-105	██████████	10/05/1984	Ureaplasma urealyt NEGATIF
15/01/2023-105	██████████	10/05/1984	Numération < 10 ³ UFC/mlUCC/ml
15/01/2023-105	██████████	10/05/1984	Mycoplasma homin NEGATIF
15/01/2023-105	██████████	10/05/1984	Numération < 10 ³ UFC/ml UCC/ml
22/01/2023-070	██████████	21/07/1979	LIEU DU PRELEVEM
22/01/2023-070	██████████	21/07/1979	NATURE DU PRELE
22/01/2023-070	██████████	21/07/1979	Ureaplasma urealyt POSITIF
22/01/2023-070	██████████	21/07/1979	Numération 10 ⁴ UFC/ml UCC/ml
22/01/2023-070	██████████	21/07/1979	Mycoplasma homin NEGATIF
22/01/2023-070	██████████	21/07/1979	Numération < 10 ³ UFC/ml UCC/ml
22/01/2023-089	██████████	26/12/1989	LIEU DU PRELEVEM
22/01/2023-089	██████████	26/12/1989	NATURE DU PRELE sperme
22/01/2023-089	██████████	26/12/1989	Ureaplasma urealyt NEGATIF
22/01/2023-089	██████████	26/12/1989	Numération < 10 ³ UFC/ml UCC/ml

Annexe

22/01/2023-089	██████████	26/12/1989	Mycoplasma homin	NEGATIF
22/01/2023-089	██████████	26/12/1989	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
DateSaisie	Patient	Né(e)	Texte	
01/02/2023-070	██████████	17/05/1998	LIEU DU PRELEVEM	
01/02/2023-070	██████████	17/05/1998	NATURE DU PRELE	
01/02/2023-070	██████████	17/05/1998	Ureaplasma urealyt	POSITIF
01/02/2023-070	██████████	17/05/1998	Numération	> 10 ⁵ UFC/ml UCC/ml
01/02/2023-070	██████████	17/05/1998	Mycoplasma homin	NEGATIF
01/02/2023-070	██████████	17/05/1998	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
02/02/2023-066	██████████		LIEU DU PRELEVEM	
02/02/2023-066	██████████		NATURE DU PRELE	sperme
02/02/2023-066	██████████		Ureaplasma urealyt	POSITIF
02/02/2023-066	██████████		Numération	> 10 ⁴ UFC/ml UCC/ml
02/02/2023-066	██████████		Mycoplasma homin	NEGATIF
02/02/2023-066	██████████		Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
16/02/2023-085	██████████	21/07/1979	LIEU DU PRELEVEM	
16/02/2023-085	██████████	21/07/1979	NATURE DU PRELE	
16/02/2023-085	██████████	21/07/1979	Ureaplasma urealyt	NEGATIF
16/02/2023-085	██████████	21/07/1979	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
16/02/2023-085	██████████	21/07/1979	Mycoplasma homin	NEGATIF
16/02/2023-085	██████████	21/07/1979	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
20/02/2023-113	██████████	22/01/1976	LIEU DU PRELEVEM	
20/02/2023-113	██████████	22/01/1976	NATURE DU PRELE	
20/02/2023-113	██████████	22/01/1976	Ureaplasma urealyt	NEGATIF
20/02/2023-113	██████████	22/01/1976	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
20/02/2023-113	██████████	22/01/1976	Mycoplasma homin	NEGATIF
20/02/2023-113	██████████	22/01/1976	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
27/02/2023-125	██████████	27/02/1985	LIEU DU PRELEVEM	
27/02/2023-125	██████████	27/02/1985	NATURE DU PRELE	
27/02/2023-125	██████████	27/02/1985	Ureaplasma urealyt	NEGATIF
27/02/2023-125	██████████	27/02/1985	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
27/02/2023-125	██████████	27/02/1985	Mycoplasma homin	NEGATIF
27/02/2023-125	██████████	27/02/1985	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
08/03/2023-098	██████████	16/05/1957	LIEU DU PRELEVEM	
08/03/2023-098	██████████	16/05/1957	NATURE DU PRELE	
08/03/2023-098	██████████	16/05/1957	Ureaplasma urealyt	NEGATIF
08/03/2023-098	██████████	16/05/1957	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml

Annexe

08/03/2023-098	██████████	16/05/1957	Mycoplasma homin	NEGATIF
08/03/2023-098	██████████	16/05/1957	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
DateSaisie	Patient	Né(e)	Texte	
09/03/2023-100	██████████	21/07/1979	LIEU DU PRELEVEM	EXTERNE
09/03/2023-100	██████████	21/07/1979	NATURE DU PRELE	ENDOCERVICAL
09/03/2023-100	██████████	21/07/1979	Ureaplasma urealyt	NEGATIF
09/03/2023-100	██████████	21/07/1979	Numération	< 10 ³ UFC/mL UCC/ml
09/03/2023-100	██████████	21/07/1979	Mycoplasma homin	NEGATIF
09/03/2023-100	██████████	21/07/1979	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
16/04/2023-051	██████████	21/07/1979	LIEU DU PRELEVEM	Vaginal
16/04/2023-051	██████████	21/07/1979	NATURE DU PRELE	
16/04/2023-051	██████████	21/07/1979	Ureaplasma urealyt	< 0.03
16/04/2023-051	██████████	21/07/1979	Numération	10 ³ UFC/ml UCC/ml
16/04/2023-051	██████████	21/07/1979	Mycoplasma homin	NEGATIF
16/04/2023-051	██████████	21/07/1979	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
26/04/2023-074	██████████	04/04/1986	LIEU DU PRELEVEM	Sperme
26/04/2023-074	██████████	04/04/1986	NATURE DU PRELE	
26/04/2023-074	██████████	04/04/1986	Ureaplasma urealyt	POSITIF
26/04/2023-074	██████████	04/04/1986	Numération	10 ⁵ UFC/ml UCC/ml
26/04/2023-074	██████████	04/04/1986	Mycoplasma homin	NEGATIF
26/04/2023-074	██████████	04/04/1986	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
26/04/2023-123	██████████		LIEU DU PRELEVEM	Vaginal
26/04/2023-123	██████████		NATURE DU PRELE	
26/04/2023-123	██████████		Ureaplasma urealyt	POSITIVE
26/04/2023-123	██████████		Numération	10 ⁴ UFC/ml UCC/ml
26/04/2023-123	██████████		Mycoplasma homin	POSITIVE
26/04/2023-123	██████████		Numération	UCC/ml
27/04/2023-002	██████████	10/06/1978	LIEU DU PRELEVEM	Sperme
27/04/2023-002	██████████	10/06/1978	NATURE DU PRELE	
27/04/2023-002	██████████	10/06/1978	Ureaplasma urealyt	POSITIF
27/04/2023-002	██████████	10/06/1978	Numération	10 ⁴ UFC/ml UCC/ml
27/04/2023-002	██████████	10/06/1978	Mycoplasma homin	NEGATIF
27/04/2023-002	██████████	10/06/1978	Numération	< 10 ³ UFC/ml UCC/ml
29/04/2023-073	██████████	13/01/1981	LIEU DU PRELEVEM	
29/04/2023-073	██████████	13/01/1981	NATURE DU PRELE	
29/04/2023-073	██████████	13/01/1981	Ureaplasma urealyt	
29/04/2023-073	██████████	13/01/1981	Numération	UCC/ml

Annexe

29/04/2023-073	██████████	13/01/1981	Mycoplasma homin
29/04/2023-073	██████████	13/01/1981	Numération NEGATIF