



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



Université de Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Microbiologie appliquée

Thème:

**L'antibiorésistance des bactéries hospitalières
cas des entérobactéries**

Présenté par:

MESBAHI Malak

MAKDIR Samira

Devant le jury:

Dr F.BOUKEZOULA	MCB Université de Larbi Tébessi	Présidente
Dr S. SMAALI	MAA Université de Larbi Tébessi	Rapporteuse
Mme A.SNOUSSI	MAA Université de Larbi Tébessi	Examinatrice

Date de soutenance: 28-05-2018

Année Universitaire : 2017-2018

ملخص

الهدف من هذا العمل دراسة نسبة تواجد البكتيريا المعوية في المؤسسات الاستشفائية و كذلك تقييم مقاومتها للمضادات الحيوية .

تتعلق الدراسة بـ 328 عينة تم أخذها من مصادر مختلفة (بول، دم ، قيح ..) من المرضى المقيمين بمستشفى "بوقرة بولعراس " بنبسة في الفترة ما بين 10 أكتوبر 2017 و 25 فيفري 2018 . وقد تم تحديد السلالات المعزولة و اختبار حساسيتها للمضادات الحيوية بواسطة النظام الآلي فيتاك .

إن نسبة انتشار بكتيريا الأمعاء تقدر بـ 65.71 % من مجموع البكتيريا المعزولة والتي تتمثل أساسا في : بكتيريا القولون (إيشيريشيا كولي) 34.28 % تليها العنقودية الذهبية (كليبسيلا) بنسبة 20 % وانتيروبكتير (71.5 %) و في الأخير السلمونيلا و المرجانيلا بنسبة 2.86 % لكل منها .

دراسة المقاومة مقابل 18 مضاد حيوي نصت على مقاومة معتبرة لكل من التيكارسيلين 82.61 % والامبيسيلين 78.26%، السيفالوتين 65.22 %، الجنتاميسين 56.52 %، اموكسيسيلين 47.83 % وحمض الكلوفانيك، السيفالوسبورين الجيل 3 (السفتازيديم و السيفوتاكسيم) 43.84 %.

أصبحت المقاومة المتعددة لبكتيريا الامعاء منتشرة على نطاق واسع في البيئة الاستشفائية و منه نحن بحاجة إلى وضع استراتيجيات فعالة لتفادي انتشار هذه المقاومة .

الكلمات المفتاحية : مضاد حيوي ، مقاومة ، بكتيريا الأمعاء ، انتشار ، تبسة

Abstract

The aim of this work was to determine the prevalence of *enterobacteriaceae* in hospitals and to study their resistance to antibiotics development. The study involved 328 samples from different origins (urine, blood, pus, cerebrospinal fluid, vaginal secretion) from patients admitted to the Bouguerra Boulares hospital in Tebessa, between 10 October 2017 and 28 February 2018. Antibiotic identification and susceptibility against ATB were determined by the Vitek 2 automated system.

The prevalence of *enterobacteriaceae* was 65.71 % of isolated bacteria presented mainly by *Escherichia coli* (34.28 %) followed by *Klebsiella pneumoniae* (20 %), *Enterobacter cloacae* (5.71 %), *Salmonella sertyphi* and *Morganella morganii* with only 2.86 % for each.

The study of resistance to 18 antibiotics revealed significant resistance to ticarcillin (82.61%), ampicillin (78.26%), cefalotin (65.22%), gentamicin (56.52%), amoxicillin clavulanic acid (47.83%), and cephalosporins from the 3rd generation (C3G) (Cefotaxime and Ceftazidime) (43.48%).

Multi-resistant *enterobacteriaceae* become remarkably widespread in the hospital environment, hence the need to implement an effective strategy to avoid the spread of this resistance.

Keywords. Antibiotic, resistance, enterobacteria, prevalence, Tébessa.

Résumé

Ce travail avait pour objectif de déterminer la prévalence des entérobactéries dans le milieu hospitalier ainsi que l'étude de leur développement de résistance aux antibiotiques. L'étude a concerné 328 prélèvements de différentes origines (urine, sang, pus, liquide céphalorachidien, sécrétion vaginale) des patients admis à l'hôpital de Bouguerra Boulares à la wilaya de Tébessa entre 10 octobre 2017 et 28 février 2018. L'identification et la sensibilité aux antibiotiques ont été analysées avec le système automatisé Vitek2.

La prévalence des entérobactéries a été de 65.71% des bactéries isolées présentée principalement par *Escherichia coli* (34.28%) suivie de *Klebsiella pneumoniae* (20%), *Enterobacter cloacae* (5.71%), *Salmonella sertyphi* et *Morganella morganii* avec un taux de 2.86% pour chacune.

L'étude de la résistance vis-à-vis de 18 antibiotiques a révélé une résistance importante à la ticarcilline (82.61%), l'ampicilline (78.26%), la céfalotine (65.22%), la gentamicine (56.52%), l'amoxicilline/acide clavulanique (47.83%), et les céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) (la Céfotaxime et la Céftazidime) (43.48%).

La multirésistance des entérobactéries est devenue remarquablement rependue dans le milieu hospitalier d'où la nécessité de la mise en œuvre d'une stratégie efficace afin d'éviter la propagation de cette résistance.

Mots clés : Antibiotique, résistance, entérobactérie, prévalence, Tébessa.



Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Nous tenons également à remercier :

Dr. SMAALI S, notre cher encadreur pour avoir nous accepté de diriger ce travail, pour ses conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'il nous a témoigné tout au long de cette étude.

Dr. BOUKÉZOULAF, Maître de conférences à l'université de Tébessa, pour avoir accepté de présider le jury.

Mme SNOUSSI A, Maître Assistant à l'université de Tébessa, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous aimerons remercier tous les personnels d'E.P.H Bouguerra Boulares à Tébessa pour nous avoir facilité l'accès, ainsi pour son aide de près ou de loin, par leur expertise et leur bonne humeur intarissable

Un merci tout spécial à l'équipe de laboratoire à l'université de Tébessa

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A mes chers parents, qui m'ont soutenu tout au long
de ma vie, Aucun hommage ne pourrait être à la
hauteur, de l'amour dont ils ne cessent de me combler.
Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie*

*A mon cher unique frère Mouldi et sa femme Soulef, à
mes soeurs : Naïma, Nacira, Nawal, et Hayet et leurs
maris pour leur tendresse, toute l'affection qu'ils m'ont
donnée et pour leurs précieux encouragements*

A mon fiancé Mohammed Nacer et sa famille

*A ma jolie camarade Malak qui m'accompagne dans
ce travail*

*A mes précieuses amies Samia et Rabiaa avec
lesquelles j'ai partagé de très bons moments*

A toute ma famille et mes proches

Makdir Samira

Dédicace

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tous simplement que : Je dédie cette mémoire de master à

À Mon très cher Père NASREDDINE:

Aucune dédicace ne peut exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

À Ma tendre Mère FAHIMA ;

Vous représentez pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Vous avez fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

À mes chers frères CHAHREDDINE ; SALEH ET SALEM pour leur appui et leur encouragement,

À mes chères sœurs IMEN pour ses soutiens moraux,

À mon amie SAMIRA avec laquelle j'ai partagé de très bons moments à mon parcours universitaire

Mesbahi Malak

Liste des abréviations

AN	Amikacine
AM	Ampicilline
AMC	Amoxicilline/acide clavulanique
ATB	Antibiotique
BMR	Bactérie multirésistante
BU	Bandelette urinaire
C3G	Céphalosporine de 3 ^{ème} génération
CAZ	Céftazidime
CB	Carbapénème
CIP	Ciprofloxacine
CF	Céfalotine
CTX	Céfotaxime
CMI	Concentration minimale inhibitrice
ECB	Etude cyto bactériologique
ECB de PUS	Etude cyto bactériologique de pus
ECBU	Etude cyto bactériologique d'urine
EPH	Etablissement public hospitalier
EPM	Ertapénème
FOX	Céfoxitine
IN	Infection nosocomiale
IPM	Imipénème
IU	Infection urinaire
GEN	Gentamicine
LCR	Liquide céphalorachidien
N	Nombre
NAL	Acide nalidixique
NTF	Nitrofurantoïne
OFX	Ofloxacine
PIP	Pipéracilline
PV	Prélèvement vaginal
TIC	Ticarcilline
TM	Tobramycine
TMP	Triméthoprime

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
01	Répartitions globales des résultats selon l'origine des prélèvements	14
02	Répartition générale des différents germes isolés et identifiés	15



Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
1	Organigramme de l'hôpital Bouguerra Boulares -Tébessa-	7
2	Automate Vitek d'identification et antibiogramme (photo personnelle)	10
3	Etapes primordiales d'identification et d'antibiogramme automatisé (photos personnelles)	12
4	Rapport de laboratoire de l'automate Vitek 2 compact d' <i>E-coli</i> (photo personnelle)	13
5	Répartition des souches bactériennes selon leurs origines	14
6	Répartition des bactéries Gram négatif et Gram positif	16
7	Répartition des bactéries isolées selon la famille	16
8	Répartition des espèces des entérobactéries	17
9	Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques	18

Table des matières

ملخص	i
Abstract	ii
Résumé	iii
Remerciements	iv
Dédicace	v
Liste des abréviations	vii
Liste des tableaux	viii
Liste des figures	xi
Introduction	1
Partie bibliographique	
Généralité	2
I.L'antiorésistance	2
I.1.Définition	2
I.2.Types de l'antibiorésistance	2
I.2.1.La résistance naturelle	3
I.2.2.La résistance acquise	3
I.3.Evolution et risque de l'antibiorésistance à la santé publique	4
I.4.Problème de la résistance en milieu hospitalier	5
Partie expérimental	
Matériels et méthodes	
I.Cadre et objectif d'étude	6
I.1.Présentation de lieu d'étude	6
II.Matériels et méthodes	8
II.1.Matériel utilisé	8
II.2.Prélèvements et méthode d'analyse bactériologique	9
II.2.1.Examen macroscopique	9
II.2.2.Examen microscopique	9
II.2.3.Isolement	10
II.2.4.Identification et antibiogramme	10
Résultats et discussion	
III.Résultats et discussion	14
III.1.Répartition des isolats selon l'origine de prélèvement	14

III.2.Répartition générale de différentes souches bactériennes isolées	15
III.3.Evolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques	18
Conclusion	
Conclusion	20
Références bibliographiques	
Références bibliographiques	
Annexe	
Annexe	

INTRODUCTION

Introduction

Depuis leur découverte, il y a moins d'un siècle, les antibiotiques (ATB) ont occupé une place de plus en plus importante dans la lutte contre des maladies d'origine bactérienne. Mais le monde bactérien s'adapté aux antibiotiques et cela a entraîné l'émergence de résistances bactériennes à l'égard d'une grande partie de ces antibiotiques. Cette résistance bactérienne constitue de nos jours une préoccupation sanitaire internationale (Bevilacqua ,2011).

Les entérobactéries, Gram négatif, sont les bactéries les plus rencontrées en pathologie humaine. Elles sont associées à de nombreuses infections (urinaires, vaginales, pulmonaires cutanées), ainsi qu'elles sont fréquemment impliquées dans les infections nosocomiales (IN). Ces germes ont acquis des mécanismes de résistances divers et rend ainsi le traitement plus difficile.

Les conséquences de cette résistance sont multiples, dont les plus importantes sont liées à l'échec thérapeutique et à l'antibiothérapie inappropriée chez les patients entraînant une augmentation de la morbidité et de la mortalité. En plus, les coûts liés à la recherche d'un nouvel antibiotique sont facilement identifiable (Bevilacqua ,2011).

Selon El Abdani (2016), les causes de l'émergence et la dissémination de l'antibiorésistance est due généralement à l'usage banalisé, inapproprié ou excessif des antibiotiques, le maniement des antibiotiques dits « de réserve » associés à une hygiène défectueuse, sont les principales raisons de cette évolution touchant actuellement presque toutes les espèces pathogènes responsables aussi bien d'infections nosocomiales que communautaires.

Face à cette problématique nous avons défini objectifs suivants :

- ✚ L'isolement et l'identification des souches bactériennes à partir des prélèvements issu service de bactériologie de l'établissement public hospitalier (EPH) Bouguerra Boulares.
- ✚ Déterminer la prévalence des différentes bactéries isolées
- ✚ L'étude du profil de résistance des entérobactéries au milieu hospitalier

Généralité

Les antibiotiques ont joué toujours un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections. Cependant, l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à s'adapter et elles sont devenues résistantes aux antibiotiques. Cette situation apparaît particulièrement préoccupante surtout en milieu hospitalier ou de nombre bactéries devient de plus en plus (Boukhatem, 2013)

Par suite nous avons expliqué ce problème d'antibiorésistance dans le milieu hospitalier, leur types et risques posé au sante publique.

I. L'antibiorésistance

I.1. Définition

L'antibiorésistance est la capacité d'une bactérie de se développer en présence d'une concentration d'antibiotique notamment plus élevée qui inhibe le développement de la plupart des autres souches de même espèce .(Yala et *al.*, 2001)

Cette résistance est liée à la présence des gènes qui leurs permettant d'échapper à l'action des antibiotiques. Elles sont capables de les transférer d'une bactérie à d'autres qui deviennent résistantes à leur tour. Il s'agit donc d'une forme transmissible de la résistance (Lavigne, 2007).

D'une autre part, on trouve que cette résistance peut être due au mauvais usage des antibiotiques, prescrits en cas d'infections, la vente d'antibiotiques sans prescription, la pratique d'automédication (Meyer et *al.*, 2004)

I.2. Types de l'antibiorésistances

La résistance aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que l'apparition des antibiotiques. Aujourd'hui, souvent d'origine synthétique et produits par l'homme, les antibiotiques sont au départ des substances naturelles générées par des champignons mais aussi par certaines bactéries pour se "défendre" contre les autres bactéries. Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps les moyens de s'en protéger. Il s'agit là de résistance naturelle aux antibiotiques.

=====

I.2.1. La résistance naturelle ou intrinsèque; est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes).

L'organisme peut perdre la structure que l'antibiotique inhibe, comme c'est le cas pour les mycoplasmes qui perdent les parois cellulaires et ne sont donc pas affectés par la pénicilline. (Perry *et al.*, 2002)

De même, la pénicilline G ne peut pas atteindre la paroi de nombreuses bactéries Gram négatifs parce qu'elle ne peut pas traverser la membrane de l'enveloppe externe. (Prescott et Klein, 2007)

La structure de la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique d'un organisme peut être imperméable à un antibiotique, c'est l'exemple de mycobactéries qui sont résistantes à beaucoup de médicaments car ils ont à l'extérieur du peptidoglycane une couche lipidique complexe riche en acides mycoliques. (Prescott et Klein, 2007)

I.2.2. La résistances acquises ; il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien.

Elle résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était initialement faible. La généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques d'où l'intérêt et la nécessité de réaliser des antibiogrammes.

Les gènes de résistance peuvent être acquis par transformation de gènes étrangers provenant de chromosomes d'autres espèces ou être portés par des éléments mobiles (transposons, intégrons). (Vauboudrolle, 2007)

Certaines bactéries deviennent résistantes aux antibiotiques en acquérant un fragment d'ADN, appelé plasmide, donné par une bactérie résistante. De plus, elles peuvent transmettre cette propriété à des bactéries d'espèces différentes par transfert de ces plasmides. La résistance acquise ne se manifeste donc que chez certains individus de la population bactérienne. En

=====

=====
milieu hospitalier, où on utilise de nombreux antibiotiques, ce phénomène est bien connu .On a le risque d'apparition des bactéries multirésistantes (BMR). (Figarella et *al.*,2007)

L'acquisition de la résistance peut aussi résulter d'une mutation chromosomique responsable Par conséquent cette résistance peut être regroupée en trois grands types de mécanismes (Plésiat, 2006) :

- ✚ Diminution de la perméabilité
- ✚ modification de la cible des antibiotiques
- ✚ production d'enzymes inactivant les antibiotiques

I.3. Evolution et risques posés à la santé publique

On observe ces dernières années une augmentation importante de la résistance de certaines bactéries aux antibiotiques (pneumocoque et pénicilline, staphylocoques et méticilline) ainsi que de nombreux autres antibiotiques et glycopeptides. (Ben Redjeb et *al.*,2005)

En milieu hospitalier, les bactéries résistantes diffusent facilement de façon épidémique, et sont responsables en grande partie des infections nosocomiales. La peur d'avoir affaire à une souche résistante entraîne, pour le bien du malade, la prescription d'une antibiothérapie probabiliste et l'utilisation d'antibiotiques à très large spectre, récents et coûteux. Cette forte pression de sélection accélère l'acquisition de facteurs de résistances: un cercle vicieux est créé.

Les deux facteurs principaux qui contribuent probablement à la résistance aux antibiotiques sont: la façon de les employer et la qualité de la prévention de l'infection croisée. On peut alors considérer que le niveau de résistance aux antibiotiques, tout comme le taux d'infections nosocomiales, sont des indicateurs révélateurs de la qualité des soins pour un établissement donné (Méhdi, 2008)

Le développement de l'antibiorésistance concerne plusieurs types de bactéries, y compris celles impliquées dans les infections de la peau, les infections sexuellement transmissibles, les infections respiratoires, les méningites ou encore l'otite du nourrisson. Avec des antibiotiques moins efficaces, ces maladies sont plus complexes à soigner. Leurs symptômes durent plus longtemps, le risque de complications est amplifié et les consultations chez le médecin sont répétées (Mouton et *al.*, 2000)

=====

I.4. Problème de la résistance en milieu hospitalier

Pendant longtemps le problème de la résistance était considéré comme strictement hospitalier réservé aux bactéries responsables d'infections nosocomiales, parce que l'hôpital constitue un environnement propice au développement et à la dissémination des résistances bactériennes. (Marion, 2015).

Selon Vincent (2000), l'émergence et la fréquence croissante de bactéries multi résistances à l'hôpital ont été favorisés par un certains nombres de facteurs :

- ✚ Une augmentation du nombre de patients à risque infectieux élevé du fait des procédures invasives et des traitements immunosuppresseurs.
- ✚ L'utilisation massive des antibiotiques favorisant la sélection des bactéries les plus résistantes.
- ✚ La transmission croisée par l'intermédiaire du personnel soignant permettant la dissémination des bactéries multi résistantes.

La recrudescence des bactéries mulirésistantes en milieu hospitalier est un phénomène mondial observé pour toutes les espèces bactériennes mais à des degrés variables selon les pays et les services en fonction des habitudes de prescription et des pratiques d'hygiène.

Le développement et la fréquence des bactéries résistantes parmi les espèces communément responsables d'infections nosocomiales ont eu pour conséquence une consommation accrue de certains antibiotiques, plus précisément les molécules les plus récentes comme les nouvelles β -lactamines, les glycopeptides, et les Fluoroquinolones entraînant ainsi une escalade de résistances (BenHaj, 2010).

L'émergence et la dissémination de la résistance bactérienne posent un problème de santé publique très important. Elle se traduit, dans la pratique hospitalière, par une augmentation de la morbidité et de la mortalité, des coûts d'hospitalisation et par l'apparition de microorganismes résistants à l'ensemble des antibiotiques disponibles (Davies, 2010).

Les entérobactéries résistantes aux antibiotiques occupent une place importante dans les infections nosocomiales, notamment en milieu de réanimation. Ces bactéries deviennent de plus en plus résistantes et à franchir les limites de l'hôpital pour émerger dans la communauté. La dissémination de ces bactéries présente une menace grave qui met en cause la validité de l'arsenal antibiotique actuellement disponible, d'autant plus qu'aucune classe nouvelle d'antibiotique n'est attendue dans les prochaines années (Souna, 2011).

Les causes cette émergence et dissémination sont multiples, mais l'utilisation excessive et/ou inappropriée des ces antibiotiques est, sans conteste, la principale raison de cette évolution. (Boudjemaa, 2015).

=====

*PARTIE
EXPERIMENTALE*

*MATERIELS ET
METHODES*

I. Cadre et objectif d'étude

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie de l'hôpital Bouguerra Boulares Bekaria à la Wilaya Tébessa ; Durant une période de 4 mois allant du 15 octobre 2017 à 25 février 2018. Dont les objectifs visés sont :

- ✚ Identification des bactéries appartenant à la famille d'entérobactérie isolées principalement des prélèvements : des urines, de pus, de sang, de vagin et de liquide céphalorachidien.
- ✚ Evaluation du statut de résistances des entérobactéries aux ATB.

I. 1. Présentation de lieu d'étude

L'hôpital Bouguerra Boulares de Tébessa est un établissement public sanitaire accueillant des enfants et des adultes. Il est construit en 2007. Il comprend 252 lits répartis en 8 services médicaux qui couvrent tous les besoins des citoyens de la Wilaya.

Il contient plusieurs services importants :

- Cardiologie
- Dermatologie
- Maladies infectieuses
- Médecine interne
- Pneumo - phtisiologie
- Psychiatrie
- Radiologie
- Rééducation
- Laboratoire centrale
- Urgence médicale
- Pharmaci

Le rôle de l'hôpital est d'assurer, d'une façon intégrée et séquentielle, des besoins sanitaires de la population. Il est chargé notamment des tâches suivantes :

- ✚ Assurer l'organisation et la programmation et la distribution des traitements hospitaliers, la rééducation et l'hospitalisation des malades.
- ✚ Application des programmes sanitaires nationaux.
- ✚ Garder la bonne santé et la lutte contre les pathologies.
- ✚ Améliorer le niveau des employés et renouveler leurs connaissances.

Cet établissement est organisé selon l'organigramme suivant : (Figure1)

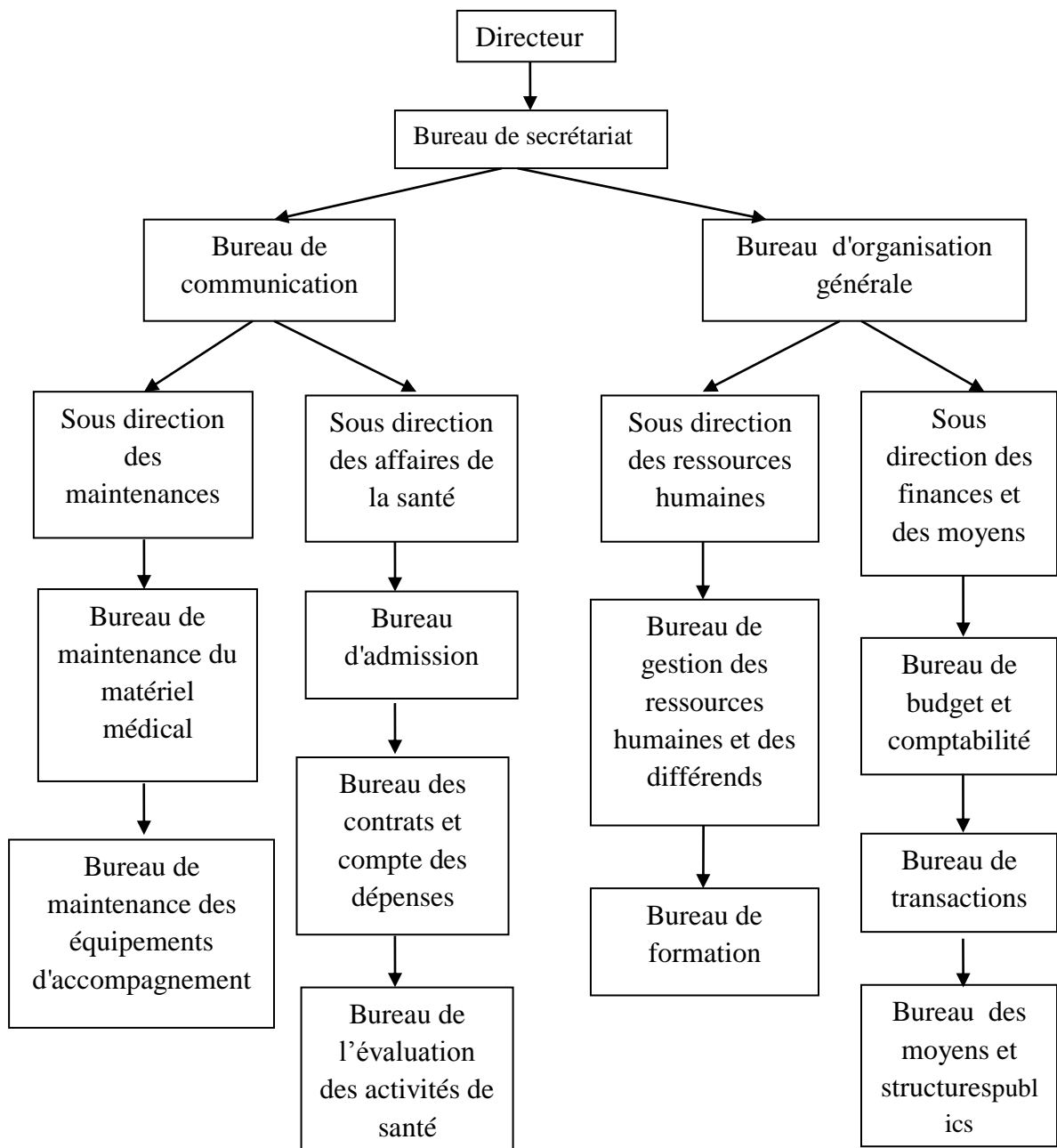


Figure 1 : Organigramme de l'hôpital Bouguerra Boulares-Tébessa-

II. Matériels et méthodes

II.1. Matériel utilisé

- Boîtes pétri.
- Ecouvillons.
- Seringue
- Pipettes pasteur
- Anse de platine
- Papier buvard
- Bandelettes urinaires(BU).
- Bec Bunsen.
- Lames et lamelles.
- Cellules de malassez
- Etuve 37° C pour les bactéries et 25° C pour les levures et les champignons.
- Réfrigérateur.
- Bain marie
- Microscope optique.
- Portoirs.
- Pansements
- Gants
- Alcool
- Lugol,
- Pipettes Pasteur
- Pissette
- Huile d'émersion
- Violet de Gentiane,
- Fushine.
- Bleu de méthylène.
- Eau physiologique stérile.
- Flacon Bact/ALERT® 3D
- Milieu Mac Conkey.

-
- Milieu Chapman.
 - Milieu gélose nutritive (GN)
 - Milieu gélose au sang cuit (GSC)
 - Milieu gélose au sang frais (GSF)
 - Milieu saboraud
 - Automate Bact/ALERT® 3D
 - Automate VITEK® 2.

II.2. Prélèvements et méthode d'analyse bactériologique

Cette étude prospective est portée sur des prélèvements (urines, pus, sécrétions vaginales, sang, liquide céphalorachidien) des sujets d'âges et de sexes différents hospitalisés dans les différents services de l'hôpital Bouguerra Boulares.

L'enregistrement de ces prélèvements se fait par une fiche de renseignement (nom et prénom de malade, âge, sexe, service, médecin traitant et l'analyse à faire).

Les étapes utilisées dans l'étude cyto bactériologique (ECB) d'un produit pathologique suivent généralement l'ordre cité ci-dessous :

II.2.1.Examen macroscopique : L'étude macroscopique nous oriente dans l'étude microscopique. Elle est portée sur l'aspect macroscopique des prélèvements dont la couleur, la viscosité et l'odeur, etc.

II.2.2.Examen microscopique : selon la nature de prélèvement en trouve :

- ✚ **Examen direct après coloration de Gram :** permet la différenciation entre les bactéries Gram négatif (rose) et les bactéries Gram positif (violette) et aussi leur morphologie (bacille ou cocci ...).
- ✚ **Examen direct après coloration par bleu de méthylène :** permet de renseigner sur la forme de la bactérie (bacille, cocci,...) et le type de cellules présentes dans le prélèvement ; polynucléaires, lymphocytes, hématies, cellules parasitaire, levures...

II.2.3. Isolement: le choix des techniques d'isolement est fait en fonction des renseignements apportés par l'examen microscopique et surtout des recherches envisagées d'après les indications médicales.

II.2.4. Identification et antibiogramme

Après isolement des bactéries l'identification après observation des boîtes qui servent à l'isolement des colonies, on peut être amené à identifier et établir l'antibiogramme, à partir d'une culture pure.

Pour l'identification et l'étude du profil de résistance des entérobactéries isolées, on a utilisé le système VITEK® 2, qui représente un système automatisé pour l'identification et la détection de l'antibiorésistance, des bactéries analysées y compris les (BMR), par comparaison avec les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de référence internationale.(Figure2)



Figure 2: Automate Vitek d'identification et antibiogramme (photo personnelle)

➤ **Méthode d'identification et d'antibiogramme par VITEK 2**

La préparation de l'inoculum est toujours manuelle :

- Transférer 3 ml d'eau physiologique dans un tube .
- Sélectionner des colonies isolées et les mettre en suspension homogène dans la solution saline.
- Contrôler la densité optique de la suspension mère avec le Densi Chek Plus
- Prendre une carte d'identification et la placer sur la cassette en plongeant la paille de transfert dans le 1^{er} tube contenant la suspension mère.
- En utilisant les pipettes fournies avec le système, transférer la quantité préconisée dans un second tube contenant 3 ml de solution saline.
 - 145µl (pipette rouge) pour les Gram négatifs.
 - 280µl (pipette bleue) pour les Gram positifs et les levures.
- Prendre une carte d'antibiogramme et la placer sur la cassette en plongeant la paille de transfert dans le second tube contenant la suspension mère diluée.
- Refaire les étapes sus cités pour les autres échantillons avant de placer la cassette dans le VITEK® 2 compact.
- Placer la cassette dans l'instrument (chambre d'inoculation) puis fermer le VITEK2 (Figure 3)

RQ : les résultats sont obtenus dans une fiche imprimée qui comporte l'agent causal et leur antibiogramme (Figure 4)

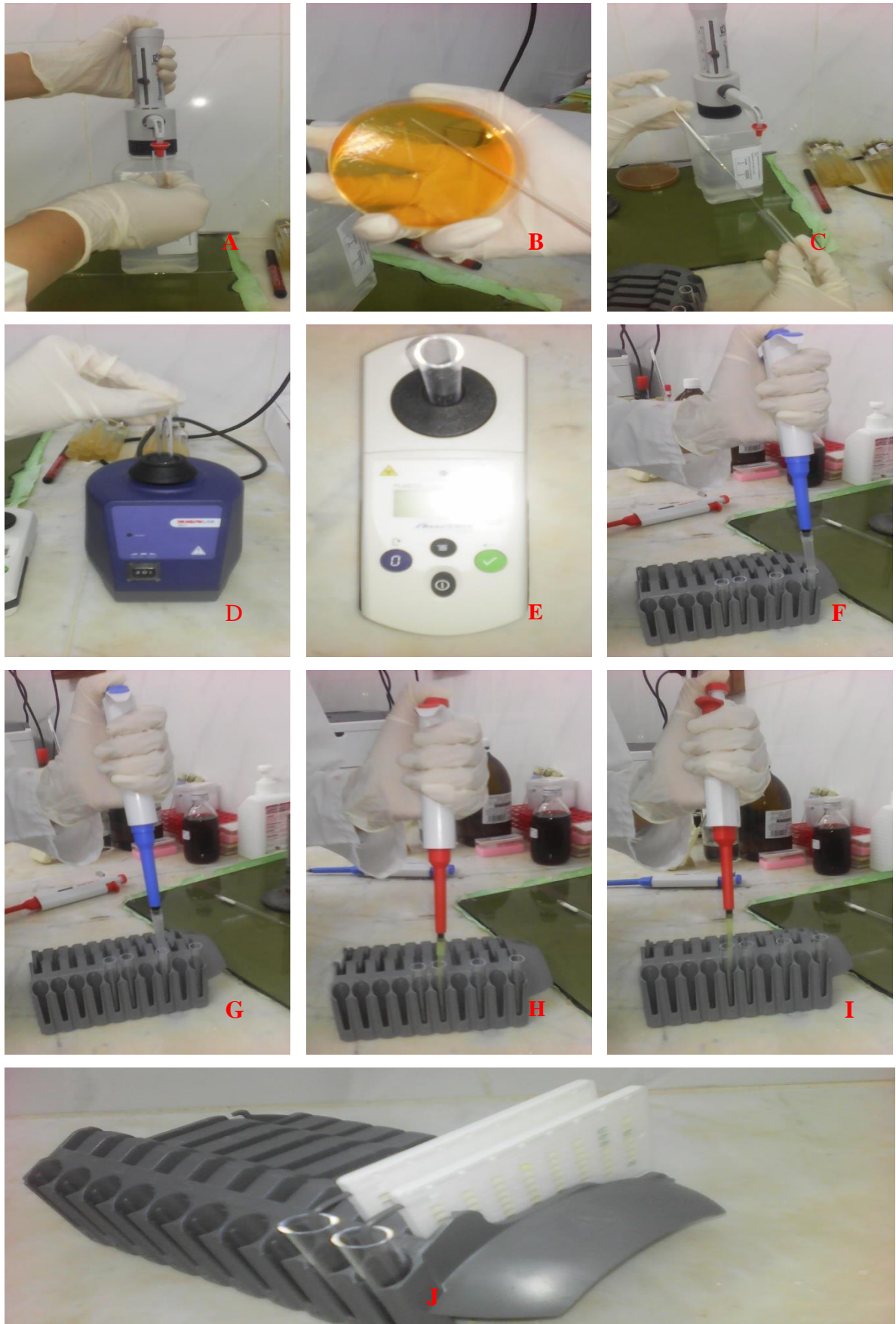


Figure 3 : Etapes primordiales d'identification et d'antibiogramme automatisé (photos personnelles)

Laboratoire d'Analyses Médicales UNA

Rapport du laboratoire

N° Client biomérieux :
Référence du système :

Imprimé le : 07 sept 2015 10:12 WAT
Imprimé par : LabTech

Groupes d'isolets : Chéragi yesminasali-1 Passage : ECBU
Profil biochimique : 0405610540424610
Germe sélectionné : Escherichia coli

Commentaires :

Informations sur l'identification	Carte : GN	N° de lot : 241318940	Pérémission : 7 sept 2015 12:00 WAT
	Terminée le : 31 mars 2015 15:28 WAT	État : Final	Heure de l'analyse : 5,00 heures
Germe sélectionné	97% de probabilité Escherichia coli		
Germe SRF	Profil biochimique : 0405610540424610	Fiabilité : Excellente	Identification
Germe identifiés et tests discriminants :			
Commentaire sur l'ident. :			
Tests à l'encontre			
Escherichia coli PHO5(61)			

Résultats AntibioGramme	Carte : AST-N233	N° de lot : 633330210	Pérémission : 29 déc. 2015 12:00 WAT		
	Terminée le : 31 mars 2015 18:43 WAT	État : Final	Heure de l'analyse : 8,25 heures		
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ampicilline	= 32	R	Imipénème	<= 0,25	S
Amoxicilline/acide clavulanique	16	I	Amikacine	<= 2	S
Ticarcilline	>= 128	R	Gentamicine	<= 1	S
Pipéracilline/tazobactam	<= 4	S	Tobramycine	<= 1	S
Céfialotine	8	S	Acide nalidixique	<= 2	S
Céfoxitine	<= 4	S	Ciprofloxacine	<= 0,25	S
Céfotaxime	<= 1	S	Ofloxacine	<= 0,25	S
Ceftazidime	<= 1	S	Nitrofurantoïne	<= 16	S
Ertapénème	<= 0,5	S	Triméthoprime/sulfaméthoxazole	<= 20	S

*= Antibiotique déduit **= Modification AES ***= Modification Utilisateur

Figure 4: Rapport de laboratoire de l'automate Vitek 2 compact d'*E-coli* (photo personnelle)

RESULTAS ET DISCUSSION

III. Résultats et discussion

III.1. Répartition des isolats selon l'origine de prélèvement

Dans l'ensemble de 328 prélèvements à différentes origines (Urine, liquide céphalorachidien, pus, sécrétion vaginale et sang) on a isolée 35 souches bactériennes. La majorité est issue aux prélèvements urinaires (28 souches) ce qui représente un taux de 80% des prélèvements contaminés. Les prélèvements sanguins en deuxième position avec un taux de 11.43% (4 souches) et seulement 8.57 % pour les prélèvements de pus soit 3 souches. Les résultats sont présentés dans le tableau I et la Figure 5.

Tableau I : Répartitions globale des résultats selon l'origine des prélèvements

Origines	Prélèvements contaminés		Nombre prélèvements analysés
	N	%	
URINE	28	11.29%	248
PUS	3	6.25%	48
LCR	0	0%	12
PV	0	0%	4
SANG	4	25%	16
Total	35	10.67%	328

LCR ; liquide céphalorachidien, PV ; prélèvement vaginal, N ; nombre

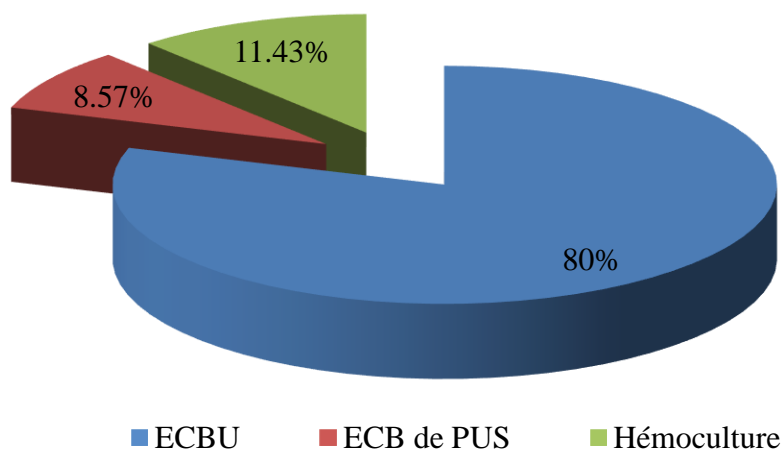


Figure 5 : Répartition des souches bactériennes selon leurs origines

Nos résultats montre que la plupart des isolats sont obtenus à partir des urines, ce qui confirme que les infections urinaires se classent parmi les principales IN. (Bergogne, 2006)

III.2. Répartition générale des différentes souches bactériennes isolées

Les résultats d'analyses bactériologiques sont représentés dans le tableau suivant ;

Tableau II : Répartition générale des différents germes isolés et identifiés

Gram	Famille	Espèce	Origines				Total (%)	N
			Urine	Pus	Sang	N		
Gram – (74.29%)	Enterobacteriaceae (65.71%)	<i>E.coli</i>	12	0	0	12	34.28%	26
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	0	0	7	20%	
		<i>Morganella morganii</i>	1	0	0	1	2.86%	
		<i>Entérobater cloacae</i>	1	1	0	2	5.71%	
		<i>Salmonella Sertyphi</i>	0	0	1	1	2.86%	
	<i>Pseudomonadaceae</i> (2.86%)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0	0	1	2.86%	
	Moraxellaceae (5.72%)	<i>Acinéto bacter lwoffii</i>	1	0	0	1	2.86%	
		<i>Acinéto bacter baumani complex</i>	1	0	0	1	2.86%	
		Staphylococcaceae (25.71%)	<i>S.aureus</i>	2	2	1	5	
	<i>S.hominis</i>		0	0	2	2	5.71%	
	<i>S. hemolyticus</i>		2	0	0	2	5.71%	
Total	4	11	28	3	4	35	100%	35

Après l'identification des 35 isolats bactériennes, 26 souches ont été des bactéries à Gram négatif ce qui présente 74.29% des isolats. Alors que les bactéries à Gram positif ont présentées seulement 25.71%(Figure 6).

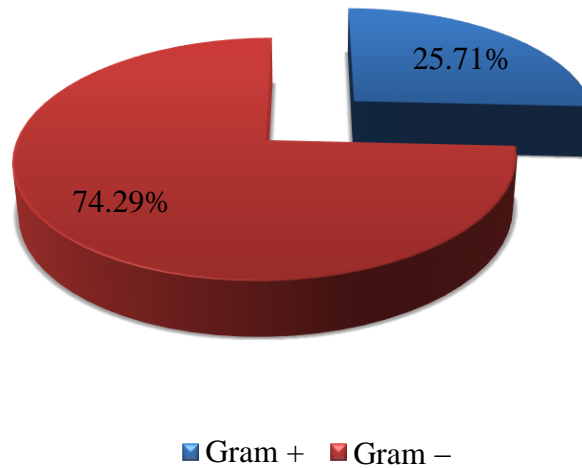
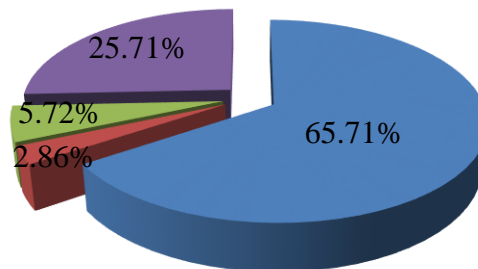


Figure 6 : Répartition des bactéries Gram négatif et Gram positif.

Notre résultats ont été supérieur a ceux obtenus par Nikiema (2002) qui a trouvé 56.4% des bactéries Gram (-) et 43.6% des bactéries Gram (+). Et proches à celui de Mirabaud (2003) qui a trouvé un pourcentage de 67.85% pour les Gram (-) et 32.15% pour les Gram (+).

En tenant compte de l'ensemble des cultures obtenues, les *Enterobacteriaceae* ont été la famille la plus fréquente avec plus de 65.71% des cas. Suivi par les *Staphylococcaceae* avec 25.71% des cas, les *Moraxellaceae* avec 5.72% et dernièrement les *Pseudomonadaceae* avec 2.86% (Figure7).



■ *Enterobacteriaceae* ■ *Pseudomonadaceae* ■ *Moraxellaceae* ■ *Staphylococcaceae*

Figure 7 : Répartition des bactéries isolées selon la famille.

Nos résultats sont proches de ceux de Raji et al. (2013) et Hashemi et al. (2013) qui ont rapporté que le taux des entérobactéries était de (69,3% et 64,7%) respectivement. De son côté, Sekhsokh et son équipe (2008) ont trouvés que les entérobactéries ont été responsables de 85% des infections urinaires au Maroc ; et proche avec ceux obtenus en France 59% (Zogheib et Dupont, 2005) et en Cameroun 65% (Gangoué et al., 2004).

Selon Mkaouar et al., (2008), la flore digestive est le principal réservoir d'entérobactéries responsables d'infection urinaires, ce qui explique la dominance de ce type de bactéries.

En ce qui concerne les espèces d'entérobactéries isolées, on a trouvé que l'*E. coli* a représenté l'espèce dominante avec plus de 52,17% des entérobactéries ; suivi par *Klebsiella pneumoniae* avec 30,43%, *Entérobacter cloacae* 8,7% et en fin *Morganella morganii* et *Salmonella sertyphi* avec seulement 4,35% pour chacune (Figure 8).

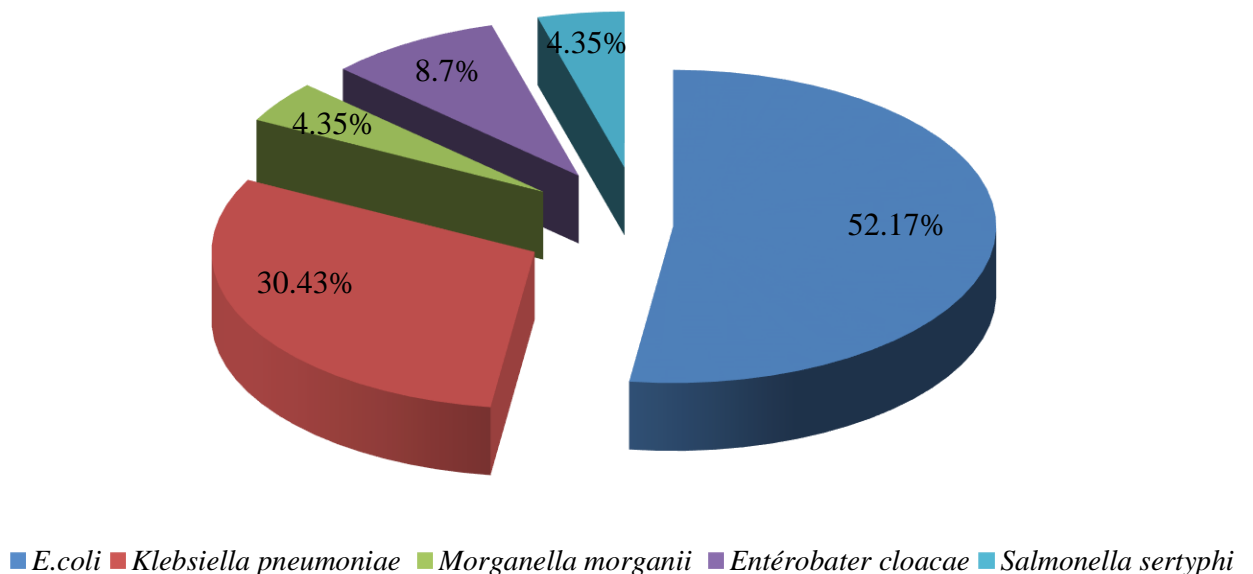


Figure 8 : Répartition des espèces des entérobactéries

Selon Lobel et Soussy (2007) l'*E. coli* est le germe le plus souvent retrouvé au cours des infections urinaires, cette prédominance est en rapport avec leurs caractères de virulence qui sont:

- ✚ L'adhésivité bactérienne des *E. coli* qui grâce à des prolongements de leur paroi (fimbrae ou pili) adhèrent aux récepteurs glycolipidiques spécifiques présents dans les cellules uroépithéliales, cette adhésivité bactérienne permet de résister au flux urinaire
- ✚ L'hémolysine bactérienne qui lyse les érythrocytes et les cellules épithéliales
- ✚ L'antigène K capsulaire qui protège la bactérie contre la phagocytose et l'action de complément
- ✚ L'aérobactinesidérophore, qui séquestrant le fer bactérien permet la multiplication d'*E coli* dans l'urine ; milieu pauvre en fer.

III. 3. Evaluation de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques

Les résultats de l'antibiogramme ont été présentés dans la Figure ci-dessous.

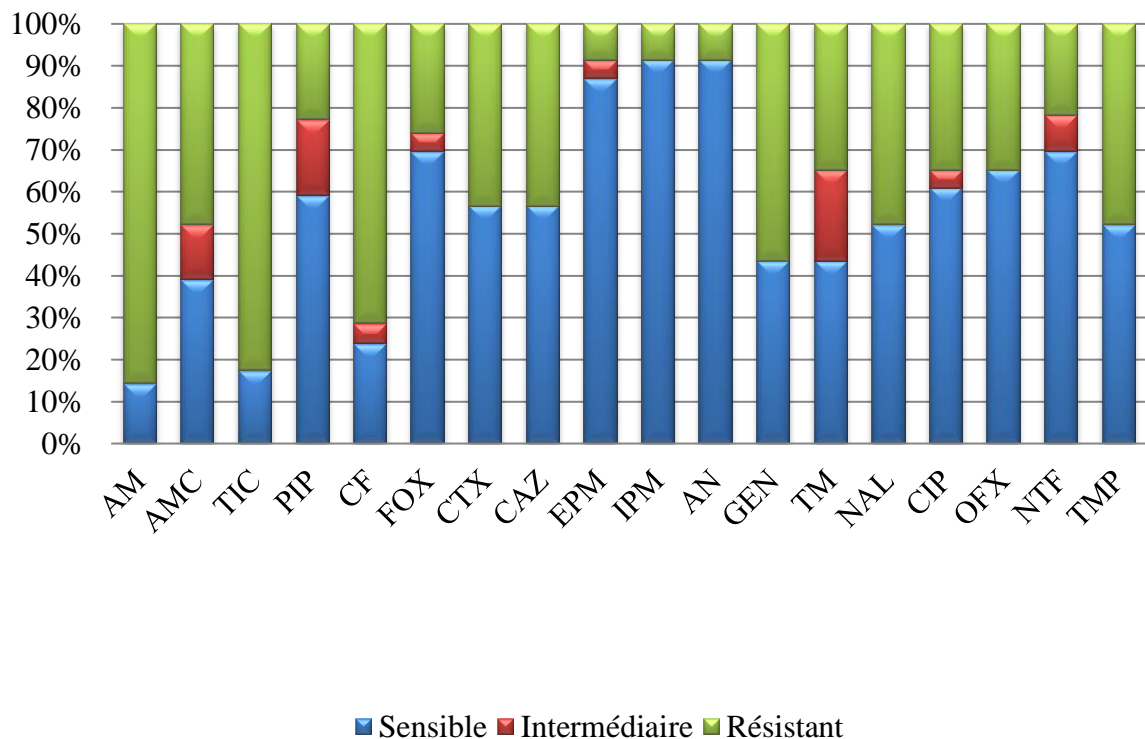


Figure 9: Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques

L'étude de profil d'antibiorésistance des entérobactéries a montré qu'ils sont sensibles à la plupart des ATB : l'amikacine et l'imipénème (91.30%), l'ertapénème (86.96%), la céfoxitine et la nitrofurantoïne (69.56%), l'ofloxacine (65.22), la ciprofloxacine (60.87%), la piperacilline, l'acide nalidixique et la triméthoprim (52.17%) et la

=====
tobramycine(43.48%). Par contre, elles ont montré une résistance assez importante avec la ticarcilline (82.61%), l'ampicilline (78.26%), la céfalotine (65.22%), la gentamicine (56.52%), l'amoxicilline/acide clavulanique (47.83%)et les C3G : la céfotaxime et la céftazidime (43.48%).

Ce pendant, le profil intermédiaire des souches des entérobactéries est presque nul pour la majorité des ATB testés. On a trouvé que la tobramycine (21.74%), la pipéracilline (17.39%), l'amoxicilline/acide clavulanique (13.04%), la nitrofurantoïne (8.69%), aussi la céfalotine, la céfoxitine, l'ertapénème et la ciprofloxacine (4.35%) pour chacune.

Par ailleurs, on a marqué que l'amikacine (91.30%), l'imipinème (91.30%) et l'ertapénème (86.96%) demeurent les molécules les plus efficaces. Nos résultats sont similaire a ceux de Hamze et *al.*, (2003) et Benhaj (2010) qui ont rapporté des pourcentages de 93.1% et 89% respectivement.

Selon Wolff et son équipe(2008) la résistance des entérobactéries aux carbapénèmes (CB) (émipénème et ertapénème) reste encore un phénomène marginal.

Ce pendant, on a trouvé que les quinilones de 2^{ème} génération ; l'ofloxacine et ciprofloxacine ont montré une activité remarquable contre ces souches. Ces résultats peut-être liés à l'utilisation massive des quinolone pour traiter les infections urinaires (Vorkafer 2011)

En revanche, les entérobactéries ont montré une résistance assez importante vis-à-vis la famille de β -lactamine en particulier la ticarcilline, l'ampicilline, la céphalotine ces résultats sont comparables aux résultats obtenues au Cameroun par Gangoué (2009) qui a marqué des taux de résistance entre 50-90%.

Cette situation d'antibiorésistance est la conséquence de la pression de sélection due à la prescription démesurée et l'usage parfois abusif des antibiotiques (Mezghani et *al.*,2012) Ainsi les entérobactéries hébergent une résistance vis à vis les beta lactamine naturellement et ont acquis des résistances limitant leur activité. Ces résistances sont liées à un défaut d'accumulation au contact de la cible (les PLP) suite à une imperméabilité ou un efflux de l'antibiotique, à des modifications des PLP ou à la production d'enzymes inactivatrices appelées β -lactamase (Robina et *al.*, 2012)

Actuellement, il est prouvé que l'utilisation des antibiotiques, notamment les C3G dans un but thérapeutique est le facteur de risque le plus important dans le développement de résistances bactériennes qui est devenue un problème majeur de santé public (Rubin et Samore, 2002).

CONCLUSION

Conclusion

Cette étude nous a permis de conclure que les infections bactériennes nosocomiales sont causées principalement par les entérobactéries (65,71%), dont l'*E-colia* présenté l'espèce dominante suivi par *Klebsiellapneumoniae* , *Enterobactercloaca* , *Salmonella sertyphi* et *Morganellamorganii* .

Par ailleurs, les résultats de l'antibiogramme ont montrés que le niveau de résistance aux ATB devient plus élevé dans les milieux hospitaliers, atteignant ainsi des taux inquiétants pour certains d'entre eux, notamment la ticarcilline, l'ampicilline, la céfalotine, la gentamicine, l'amoxicilline/acide clavulanique et les C3G. Ce pendant, on a trouvée que l'amikacine et l'imipinème demeurent les molécules les plus actives.

Certes ces données nécessitent la mise en œuvre des stratégies actives et efficaces qui garantissent la sécurité sanitaire et limitant ainsi la propagation de cette résistance.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Bakiri N; Ammamra I.(2009)

«Étude de l'antibiorésistance de souche d'entérobactéries isolées des eaux polluées et en milieu hospitalier» Thèse de doctorat, Université Mantourides sciences Constantine ; P120

2. Bao L., Peng R., Ren X., Ma R., Li J., Wang Y. (2013)

«Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics» Pakistan, Vol.01 N°29, P: 135-139.

3. BenHaj K. (2010).

«Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uropathogènes à l'hôpital universitaire Tahar Sfar De Mehdi », Mahdia, Tunis, Vol.04 N°3 ; P : 58-98.

4. Ben Redjeb S, Ben Hassen A, Hammami, A, Kechrid, A (2005)

«Epidémiologie des résistances aux antibiotiques»Tunis, Vol 01 N°1 ; P : 1.2

5. Bevilacqua S. (2011)

«Évaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy», Thèse de doctorat, Université des sciences et de la vie, Lorraine, France ; P : 192

6. Boudjema D. (2015).

« Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez Enterobacter cloacae », Thèse de Doctorat en médecine, Faculté des sciences de vie et de la nature et sciences de l'univers, Tlemcen ;P : 143

7. Boukhatem L. (2013)

« Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen, Microbiologie ».Thèse de doctorat, Université Aboubeker Belkaid ; Tlemcen ; P : 186

8. Brégitte.V (2010)

« Microbiologie médicale » consulté en 2018 URL: www.microbiologie-medicale.fr/milieuisolement.htm

9. Isimbaldi C.(2011)

« Antimicrobial resistance among *Escherichia coli* that cause childhood community acquired urinary tract infections » Italy, Vol .37 N 01 ;P : 1-3.

10. Davies J ; Davies D. (2010).

« Origins and evolution of antibiotic resistance », Bretagne, Londres, Vol.03
N°74:P471–433.

11. El Abdani S.(2016)

« Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie » Thèse de doctorat, Université de médecine et de pharmacie, Rabat, Maroc
P : 151

12. Esskouri Z (2011)

« Sensibilité Des Enterobacteries Urinaires A La Fosfomycine Et A La Nitrofurantoïne » These Doctorat à L'hôpital Militaire D'instruction Mohammed V De Rabat. Université de .Medecine Et De Pharmacie ,Rabat,P : 151

13. Figarella J., Leyral G. et Terret M. (2007).

« Microbiologie générale et appliquée », édition .Delgrave, Paris, France, P : 102-108

14. Gangoue Piéboji J. 2007.

« Caractérisation des β -lactamases et leur inhibition par les extraits des plantes médicinales » Thèse de doctorat, Université de Liège, Belgique, P:127

15. Gangoue-Piéboji J, Koulla-Shiro S, Ngassam P, Adio D, Ndumbe. P (2006).

« Antimicrobial activity against Gram-negative bacilli from Yaounde Central Hospital », Cameroon, Vol.06. N°04, P: 5-232

16. Hachemi .S, Esna-Ashari F, Tavakoli S, Mamani M. (2013).

« The prevalence of antibiotic Resistance of *Enterobacteriaceae* strains isolated in community and Hospital acquired in infections in teaching hospital of Hamadan », Bretagne, Londres, Vol.13 N°01, P: 75-80

17. Hamze M, Dabboussi F, Izard D.(2001)

« Enterobacterial susceptibility to antibiotics in northern », Lebanon, Vol.13 N°02, P: 05-107

18. Indicia (2012)

« Milieux de culture » Fiche technique, Microbiologie ; Laboratoire Humeau, France
P:2

19. Kassama M ; Hamadi S (2013)

«Evaluation de la résistance des souches des entérobactéries à l'établissement hospitalier spécialisé », Thèse de doctorat, Université des sciences, Constantine P : 160

20. Lavigne J. (2007).

« Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance »: Thèse de doctorat en bactériologie, Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes. France ; P : 140

21. Lobel B, Soussy C., (2007)

« Les infections urinaires », Springer, Paris ; P : 10-13

22. Marion L. (2015) “La grippe aviare “ Communication affichée, Séminaire de « Maladies infectieuses émergentes», 7^{ème} édition, L'école Val, France, Paris

23. Mehdi S. (2008)

«La fréquence des bactéries multi résistantes à l'hôpital Hassan de Settat» Thèse de doctorat, université Mohammed V de médecine et de pharmacie, Rabat .P : 121

24. Messai L, Achour W , Ben Hassen A. (2007)

« Profil épidémiologique des entérobactéries isolées chez des patients neutropéniques ; Pathologie Biologie », Tlemcen, Algérie Vol.55 N°1 ; P: 230-234.

25. Meyer A., Deiana J. et Bernard A., (2004)

«Cours de microbiologie générale»,Doin éditeurs, 2e édition, France ; P : 257.

26. MezghaniMaalej. S, RekikMeziou. M, Mahjoubi. F, Hammami. A.(2012)

« Épidémiologie de la résistance à la colistine chez les entérobactéries à Sfax (Tunisie) », Masson, Sfax, Tunisie,Médecine et maladies infectieuses,Vol .42, N°6, P256-263.

27. Mirabaud M I., 2003

« Entérobactéries à bêta-lactamases à spectre élargi en pédiatrie en 1996 », Thèse de doctorat en médecine, Faculté de médecine, Section de médecine clinique, Département de Pédiatrie Université de Genève ; P : 120

28. Mouton Y, Bingen E., Deboxker Y. et Dubreuil L., (2000)

«Antiviraux Anti-infectieux», éditions John LibbeyEurotext, Paris. P : 116

29. Nadmia .H, Elotmani F, Talmi M, Zerouali K, Timinouni M, Perrier.G (2010)

«Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes communautaires», El Jadida, Maroc Vol.40 N°1, P : 303-305

30. Perry J, Staley J et Lory S. (2002)

«Microbiologie », Édition par Sinauer Associates .États-Unis. P : 912

31. Prescott, H. Klein A, (2007)

« Microbiologie », 2e édition française.Paris ; P : 1184

32. Plésiat P (2006)

«Biochimie de la résistance in Antibiogramme» Ed Eska, 2^{ème} édition, France P : 100

33. Raji M.A., Jamal W, Ojemhen O, Rotimi V. (2013)

«Surveillance of antibiotic resistance in Enterobacteriaceae», Nigeria Vol.6 N°6, P:7-431

34. Rangaiahagari A, Uwizeyimana JP, Nyirabanzi J, Ngoga E, Wane J

«Sensitivity patterns of *Enterobacteriaceae* isolated at king Faisal hospital, Kigali - a three years study», Kigali ,Rawanda ,Vol.70 N°1; P: 4-11

35. Robina F. Gibolda L.,Bonneta, R. (2012)

«Résistances naturelles et acquises aux beta-lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ». Vol. 1 N° 445:P 47-58.

36. Rubin, M.A., Samore M.H. 2002.

«Antimicrobial Use and Resistance»,*Curr Infect Dis Rep* N°4: P :491-497

37. Sekhsokh. Y, Chadli. M, El Hamzaoui. S.A. (2008)

« Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines », Rabat, Maroc, Médecine et Maladies Infectieuses, Vol 38, N 6, PP 324–327.

38. Souna.D (2011)

«Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au C.H.U de Sidi Bel Abbes», mémoire de magister Université AboubekrBelkaid .Tlemcen P : 148

39. Touati A., Benallaoua S., Forte D., Madoux J.,(2006)

« Brasme L. et De Champs C. (2006). First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta – lactamases among clinical isolates of enterobacteriaceae », Bejaia, Algeria, Vol.27 N°01 P: 397-402

40. Vaubourdolle .M, (2007)

«Infectiologie», édition WoltersKlower Sa 3^e édition .Paris, P ; 347

41. Vorkauffer. S.

« Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : Prise en charge diagnostique et thérapeutique », Thèse de Doctorat en médecine, Université HENRI POINCARÉ, -NANCY 1-, France, P :150

42. Wolff M ; Joly-Guillou M. et Pajot O. (2008)

« Le point sur les carbapénèmes», France Vol .17 N°1 ; P : 242-250

43. Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., OuarKorich M.N. (2001.)

«Résistance bactérienne à l'antibiotique», édition Flammarium 2^e édition, Maroc Vol .1 N°91 ; P : 1-2

44. Yombi.J (2015)

« Le bon usage des antibiotiques en médecine générale : Focus sur les infections respiratoires et urinaires chez l'adulte », Bruxelles, louvainmed, Vo1.34 N°1 ; P: 363-371.

45. Zogheib E. et Dupont H. (2005)

« Entérobactéries multirésistantes», éditionElsevier SAS, France ; P : 153-165.

ANNEXES

Annexe

Milieux de culture utilisés

1) Gélose Mac Conkey (Brigitte, 2010)

La gélose Mac Conkey est un milieu sélectif pour l'isolement des entérobactéries. En effet, elle contient des agents sélectifs qui freinent le développement des bactéries à Gram positif: cristal violet et sels biliaries.

Composition* grammes par litre d'eau distillée

Peptone de caséine.....	17g
Peptone de viande.....	3g
Selsbiliaries.....	1,5g
Cristal violet.....	0,001g
Lactose.....	10g
Rouge neutre.....	0,03g
NaCl.....	5g
Agar.....	13,5g

pH final = 7,1

2) Gélose nutritive GN (Indicia, 2012)

La gélose nutritive est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Elle est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits.

Formule *en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptones	10g
Extrait de viande de boeuf	1g
D-mannitol	10g
Chlorure de sodium	75g
Rouge de phénol	0,025g
Agar	15g

0, 2=pH final à 25°C: 7, 4

3) Gélose Sabouraud (Lyon 2015)

La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes.

Ingrédients * en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone de caséine	5g/L
Peptone de viande	5g/L
Glucose monohydraté	40g/L
Agar	15g/L

0,2= pH final à 25°C : 5,6.

4) Gélose Chapman (Indicia ,2012)

Milieu d'isolement sélectif des bactéries de genre staphylococcus (coques Gram+ regroupés en amas)

Composition * en grammes par litre

Peptones	10g
Extrait de viande de boeuf	1g
D-mannitol	10g
Chlorure de sodium	75g
Rouge de phénol	0,025g
Agar	15g

0,2 =pH final à 25°C: 7,4