

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de microbiologie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Microbiologie en Secteur Biomédical et Vétérinaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Isolement et caractérisation des bactéries multirésistantes
impliquées dans les infections nosocomiales au niveau de
l'EPH de Sidi Aich**

Présenté par :

MADJI Fairouz & MAHTOUT Souhila

Soutenu le : **21 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M. DJOUDI F.	MCA	Président
M. LADOUZI R.	MCB	Encadreur
Mme TAFOUKT R.	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017



Je tiens à dédier ce modeste travail

A ma chère maman, la lumière de ma vie qui ma toujours soutenu en toutes circonstances et qui me donnent de la force et la volonté d'avancer et mon cher papa qui a sacrifié toute sa vie à fin de me voir devenir ce que je suis, je vous dis infiniment merci que dieu vous garde et vous accorde longue vie.

A mon cher frère Fares.

A mon cher Oncle Akli.

A mes deux chers copines Soraya et thelleli.

A toute la promotion MSBV a qui je souhaite un bon parcours professionnel.

A tous ce qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Fairouz





Je tiens à dédier ce modeste travail

***A mes parents *Khaled et Samia, qui ont sacrifié leur vie a fin de voir leurs
fille grandir et réussir, qui m'ont soutenue durant tout mon existence****

A ma sœur : *Tassadit*

A mes frères : *Massinissa et Ouzyien*

Souhila



*Nous tenons à exprimer toute notre connaissance à notre promoteur **LADJOUZI Rabia** pour nous avoir encadrés et pour sa disponibilité tout au long de notre travail.*

*Nous remercions notre enseignant **Mr DJOUDI Ferhet** de nous avoir guidés précieusement et avec beaucoup de compréhension. Nous vous exprimons toute notre gratitude d'avoir accepté de nous consacrer de votre précieux temps et présider le jury de notre soutenance. C'est un grand honneur pour nous.*

*Nous remercions vivement notre examinatrice **Mme TAFOUKT** d'avoir examiné et évalué notre travail.*

*Nous tenons également à remercier notre co-promotrice M^{elle} **Zaidi F.Z** pour son aide tout au long de ce travail.*

Nous adressons nos vifs remerciements :

A la direction de l'hôpital Rachid Ben Hocine pour son accueil au bien de ses locaux, sur une période de 2 mois, et d'avoir mis à notre disposition le personnel et les équipements du laboratoire.

*A **Mr. MOUASSI** chef de service de laboratoire de l'EPH Sidi Aich pour ses conseils*

*Nous remercions aussi à l'égard de **Mr MOUKRI** le responsable de l'laboratoire pour ses conseils d'ordres techniques.*

*Nous exprimons nos remerciements les plus sincères à l'infirmier **Mr BELDJOUDI** qui nous a guidé dans le recueil des prélèvements.*

Enfin, nous tenons également à remercier tous les patients hospitalisés ayant participé à cette étude.

Table des matières

LISTES DES TABLEAUX

LISTES DES FIGURES

INTRODUCTION..... 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE..... 3

I- INFECTION NOSOCOMIALE 3

I-1- Définition 3

I-2- Diverses infections nosocomiales : 3

I-3- Etat des lieux des infections nosocomiales 4

II- LES AGENTS PATHOGENES 5

II-1- Les entérobactéries : 5

II-2- Les Staphylocoques : 6

II-3- Les entérocoques 7

III- LA MULTIRESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES 8

III-1- Chez les entérobactéries 8

III-2- Chez les staphylocoques..... 9

III-3- Chez les entérocoques 10

MATERIEL ET METHODES..... 12

I- CONTEXTE DE L'ETUDE ET LIEU DE STAGE..... 12

II- SOUCHES BACTERIENNES 12

II-1- Recueilles et ensemencement des prélèvements : 12

II-2- Isolement et identification : 14

III- ETUDES DES PROFILES DE RESISTANCE 19

III-1- Etude des phénotypes de la résistance chez les entérobactéries..... 20

III-2- Etude des phénotypes de résistance chez les *S. aureus* 20

III-3- Etudes des phénotypes de résistance chez les entérocoques 22

RESULTATS 23

I- POPULATION ETUDIEE 23

II- IDENTIFICATION DES ISOLATS 23

II-1- Entérobactérie.....	23
II-2- <i>Staphylococcus aureus</i>	24
II-3- Entérocoque.....	25
III- CARACTERISATION DE LA POPULATION ETUDIEE	26
III-1- Selon l'âge.....	26
III-2- Selon le sexe.....	26
IV- ETUDE EPIDEMIOLOGIQUES	27
IV-1- Répartition des prélèvements	27
IV-2- Répartition des souches selon le type d'infection	28
IV-3- Répartition des souches selon les services	28
IV-4- Répartition des infections selon le sexe	29
V- ETUDE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES	29
V-1- Détermination des phénotypes de résistances chez les entérobactéries	29
V-2- Etude de la résistance des Staphylocoques aux antibiotiques	31
V-3- Etude de la résistance des entérocoques aux antibiotiques	33
DISCUSSION GENERALE	34
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	39
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	41
ANNEXES.....	52

Listes des tableaux

Tableau I : Tests d'identification biochimiques des entérobactéries	15
Tableau II : Test d'identification des souches de staphylocoques	17
Tableau III : Test d'identification des souches d'entérocoques	18
Tableau IV: Concentration d'antibiotique dans les différentes cupules	21
Tableau V : Fréquence des infections selon l'âge des patients.....	26
Tableau VI: Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose MH et celui de MH additionné de cloxacilline.	31

Listes des figures

Figure 1 : Schéma générale d'identification des bactéries isolées	13
Figure 2 : Répartition des souches isolées.....	23
Figure 3 : Répartition des entérobactéries selon l'espèce.	24
Figure 4 : Résultats de test de coagulase à gauche et celui de la DNase à droite	24
Figure 5 : Le résultat du test de croissance sur BHS à gauche et celui du traitement à la chaleur à droite	25
Figure 6 : Test de résistance au tellurite de potassium.....	26
Figure 7 : Répartition des isolats selon le sexe	27
Figure 8 : Répartition des prélèvements selon l'origine et le sexe.	27
Figure 9 : Répartition des souches selon le type d'infection.....	28
Figure 10 : Répartition des souches selon les services	28
Figure 11 : Répartition des infections selon le sexe.....	29
Figure 12 : Taux de résistance des entérobactéries aux β -lactamines.	30
Figure 13 : Taux de résistance des entérobactéries aux autres familles d'antibiotiques.....	30
Figure 14 : Taux de résistance aux antibiotiques chez <i>S. aureus</i>	32
Figure 15 : Taux de SARM dans les infections à <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Figure 16 : Taux de résistance aux antibiotiques chez les entérocoques	33

Introduction

Dans toutes les régions du monde, les hôpitaux offrent un écosystème propice à la diffusion des agents potentiellement pathogènes. Cette structure considérée également un endroit où se trouve quotidiennement un grand nombre de personnes pour y recevoir des soins, ces personnes peuvent être plus vulnérables aux infections notamment celle acquises sur place, on parle alors d'infections nosocomiales.

L'infection nosocomiale survient à un manque de l'hygiène ou des procédures de soins inadaptées, permettant à la flore exogène de se disperser d'une manière croisée. Dans la majorité des cas de ces infections, se sont les germes endogènes hébergés par le patient appelés "opportunistes" qui gagnent les sites infectieux (**Phillipon, 2000**).

En France une enquête de prévalence en 2012, estime un taux d'infections nosocomiales de 5,6% (**Raisin, 2012**). D'après l'institut de veille sanitaire environ un patient hospitalisé sur vingt contracte une infection nosocomiale. Aux Etats-Unis, la "*Nationale Nosocomiale Infection Surveillance Système*" estime que 3 à 5% des malades hospitalisés contractent une infection liée aux soins (**Haley et al., 1985**).

Les infections nosocomiales représentent un véritable problème de santé publique avec un taux de mortalité et de morbidité élevée ainsi que le coût socio-économique important due essentiellement à la prolongation de la durée de séjours et des traitements anti-infectieux plus onéreux (**Astagneau & Lepoutre, 2002**).

L'introduction des agents antibactériens, et notamment les antibiotiques, ont un énorme impact dans le traitement des maladies infectieuses, et ont permis un avancement considérable de la médecine. Cependant, la sensibilité des bactéries pathogènes à ces agents a été de courte durée suite à l'apparition des bactéries adeptes des phénomènes de résistances.

La situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier, suite à l'apparition d'épidémies bactériennes qui sont marquées par l'émergence et l'accroissement des bactéries multirésistantes aux antibiotiques telles que les entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) ou de carbapénèmase, des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthiciline (SARM) et les entérocoques résistants au glycopeptides (VRE : *Vancomycin Resistant Enterococci*).

Notre étude s'inscrit dans ce contexte et vise à isoler et caractériser les bactéries incriminées dans les infections nosocomiales au niveau de l'EPH de Sidi Aich.

Nous nous sommes intéressés à la recherche des entérobactéries, de *Staphylococcus aureus* et des entérocoques multirésistants. Dans le but de faire l'état des lieux des infections nosocomiales et de prévenir l'émergence des épidémies d'entérobactérie productrices de BLSE, SARM, VRE multi résistantes.

Pour développer ces aspects, nous avons effectué la démarche suivante :

- Isolement et identification des germes en cause
- Etude des profils de résistance des souches isolées vis-à-vis quelques familles d'antibiotiques.

Synthèse bibliographique

I- Infection nosocomiale

I-1- Définition

Le terme nosocomial est issu du grec *nosos* : maladie ; *komien* : soigner. Selon l'OMS

“ Une infection nosocomiale-ou infection hospitalière peut être définie comme suite : l'infection acquise a l'hôpital par un patient admis pour une raison acquise autre que cette infection ;l'infection survenant chez un patient a l'hôpital ou dans un autre établissement de sante et chez qui cette infection n'était ni présent ni en incubation au moment de l'admission cette définition inclut les infections contractés a l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement.

Pour les infections de la plaie opératoire, on qualifie d'infection nosocomiale celle survient dans les 30 jours suivant l'intervention.

Si il ya mise en place d'un implant ou d'une prothèse, le délai est d'une année après l'intervention ”(OMS, 2016) .

I-2- Diverses infections nosocomiales :

Les infections des voies urinaires (IU) occupent le premier rang des infections acquises à l'hôpital 35 à 45% (**Kama et al., 2009**). Elles représentent ainsi une préoccupation de santé publique. L'espèce la plus fréquemment isolée *Escherichia coli* dans 75 à 90% des cas. Les autres espèces sont plus rarement rencontrées, c'est le cas pour *Proteus mirabilis* (environ 5%), *Klebsiella spp* (3 a 4%) et *Staphylococcus saprophyticus* (3 a 4%) (**Kaye, 1995**) et les *entérocoques* qui ont augmentés au cours de 10 ans avec 2% (**Nicolas & Espinasse, 1993**).

Les pneumonies nosocomiales prennent la deuxième position dans les infections contractées lors de séjour à l'hôpital, elles sont associées à un taux de 16,19%. En absence d'une prise en charge thérapeutique, ces infections s'associes à un taux élevé de mortalité allant de 20 à 50% (**Berche et al., 1991**). Souvent ces infections sont causées par *Staphylococcus spp* 35,13%, *Klebsiella pneumonie* 29,72% et *Escherichia coli* 21% (**Dietrich et al., 1999**) .

Les infections de la plaie opératoire (ISO) constituent la première cause d'infection nosocomiale parmi les patients opérés, et la troisième cause sur l'ensemble des patients hospitalisés (CCLIN, 1998). Elles représentent 15 à 25% des infections liées aux soins (Veyssier *et al.*, 1998). Ces infections sont causées par la flore microbienne présentée au site opératoire au moment de l'intervention ou souvent par la flore cutanée. Les germes principalement isolés dans l'infection de site opératoire sont : *Staphylococcus aureus* 18%, Staphylocoque à coagulase négative de 13%, *Enterococcus* 12%, *Escherichia coli* 9% (Francioli *et al.*, 1996).

Certains germes profitent des foyers infectieux localisés au niveau de poumon, plaie opératoire, cathéter vasculaire et être à l'origine des bactériémies. Elles représentent 10 à 15% des infections nosocomiales, La complication des bactériémies entraînent des septicémies (Berche *et al.*, 1991; Pittet & Ruef, 1998).

I-3- Etat des lieux des infections nosocomiales

En Algérie, la surveillance des infections nosocomiales n'est pas structurée autour d'un programme national au niveau des établissements hospitaliers et universitaires. Environ 15% des patients algériennes contractent de graves infections lorsqu'ils vont se soigner dans les hôpitaux. Une prévalence moyenne de 15 à 18 % a été rapportée par le professeur Soukhal (Semmar, 2016).

Les hôpitaux algériens ont connu ces dernières années une augmentation des souches multirésistantes aux antibiotiques. Selon le réseau algérien de la résistance des bactéries aux antibiotiques .En 2009, la prévalence des souches productrices de BLSE dans 15 hôpitaux est de 16,8%. On assiste ces dernières années à une augmentation alarmante des taux de SARM, qui ont passé de 10% en 1997, aux environ 40% en 2005 (Kesch *et al.*, 2003). Les infections à VRE sont rares, la première souche d'*entérocoque faecalis* résistante à la vancomycine a été isolée a Alger a partir d'une plaie, chez un patient hospitalisé âgé de 24 ans(Aggoune *et al.*, 2008). En 2010, deux souches d'entérocoques résistantes au glycopeptides ont été signalées par le réseau algérien de la résistance des bactéries aux antibiotiques chez des patients hospitalisées.En 2011, un total de huit souches d'entérocoques résistantes à la vancomycine dont cinq à l'hôpital et 3 en externe ont été signalés.

A ce jour, très peu de données sont disponibles au niveau de la wilaya de Bejaia concernant l'épidémiologie des infections nosocomiales.Face à cette situation, nous nous

sommes référées aux travaux faits dans le cadre d'études universitaires. L'an 2000, la recherche des bactéries responsables des infections nosocomiales au niveau de l'hôpital d'Amizour a révélé l'implication de 58,6% des entérobactéries (Touati, 2000). En 2001, un taux de 20,6 % de souches de *Staphylococcus aureus* a été à l'origine de diverses infections (Khoufache, 2001). En 2016, une autre étude menée dans le même hôpital a rapporté un taux d'isolement des entérocoques de 14.76% dont un VRE à résistance modérée (Bourdjah & Addouane, 2016). Dans la même année, au CHU Khalil Amrane, l'épidémiologie des genres impliqués dans diverses infections sont en ordre décroissant : *Escherichia coli* à 23,91%, staphylocoque à 20,49%, *Enterobacter* à 9,64%, *Klebsiella* à 9,39%, *Proteus* à 9,07% et enfin entérocoque à 8,64% (Madjmaa & Boulmaize, 2015).

II- Les agents pathogènes

Les infections nosocomiales sont généralement dues à des bactéries. Par ailleurs, les virus, les protozoaires et les champignons sont rarement impliqués. Les bacilles à Gram négatif représentent 60% des germes rencontrés, les cocci à Gram-positif représentent 30% ; dont lesquels *E. coli* est majoritairement impliquée, suivie par staphylocoque, *Pseudomonas aeruginosa* et en quatrième rang on trouve les entérocoques, (Thiolet *et al.*, 2013).

II-1- Les entérobactéries :

Les entérobactéries appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et le phylum des γ -proteobactéries, sont des bactéries Gram négatif, aéro-anaérobie facultatif de forme bacille, immobiles ou mobiles par ciliature péritriche, oxydase négatifs, fermentent le glucose et réduisent le nitrate en nitrite (Avril *et al.*, 2000).

Elle regroupe 130 espèces dont les plus fréquemment rencontrés en bactériologie clinique sont : *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp*, *Citrobacter sp*, *Proteus sp*, *Serratia sp*, *Yersinia sp*, *Providencia sp*, *Salmonella sp*, *Shigella sp* (Cartier *et al.*, 1996).

Les entérobactéries sont retrouvées dans l'eau, sol et l'air. Elles résident principalement aux niveaux de tube digestif, elles sont capable de se disséminer facilement par transmission manu-porté ou via la contamination de l'eau et l'aliment. Elles peuvent provoqués plusieurs types d'infections tel que: infection urinaire, septicémie, méningite ; elles sont impliquées dans 45.50% des infections nosocomiales (Dortet *et al.*, 2006).

L'abondance dans l'intestin, la rapidité de la multiplication, l'acquisition fréquente de mécanisme de résistance aux antibiotiques ainsi que sa pathogénicité et virulence expliquent sa forte implication en pathologies infectieuses humaine surtout en milieu hospitalier (Verhaegen, 2017) .

II-2- Les Staphylocoques :

Les staphylocoques appartiennent à la famille des *Staphylococcaceae* du phylum de firmicutes, sont des bactéries Gram positif, aéro-anaérobie facultatif, disposées en diplocoques ou en grappe de raisins, immobiles, non sporulés, certaines espèces peuvent avoir une capsule, catalase-positif, oxydase- négatif. Généralement ces microorganismes se tolèrent jusqu'à 10% de NaCl dans le milieu, avec une température de croissance allant de 18 et 44°C et un pH compris entre 7,4 et 7,6 (*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* , 2009).

Ce genre regroupe plus d'une trentaine d'espèces dont : *S. aureus*, *S. epidemidis*, *S. haemolyticus*, sont les plus fréquemment rencontrées en bactériologie clinique (Lowy, 1998).

Les staphylocoques sont des bactéries fréquemment retrouvées dans l'environnement, l'eau, l'aire, et l'aliment, ils sont commensales des peaux, des muqueuses de l'homme et des animaux ; L'homme est le réservoir principale du staphylocoque doré. Il colonise préférentiellement les fosses nasales mais aussi d'autres sites cutanés tels que les aisselles et la gorge (Lowy, 1998) .

Environ 30% de la populations héberge le staphylocoque doré de manière permanente, il s'agit des porteurs asymptomatiques (VandenBergh *et al.*, 1999). En revanche, *S. aureus* est un pathogène majeur pour l'homme il est responsable d'une morbidité et d'une mortalité importante, cause des bactériémies, pneumonies, infections de site opératoire et endocardite (Projan & Novick, 1997) il est impliqué dans 30% des infections nosocomiales (Forestier *et al.*, 2007)

La pathogénicité et la virulence de *S. aureus* sont associées à sa capacité de produire plusieurs facteurs de virulence, tel que : enterotoxine A, toxine de syndrome choc toxin1, toxine cytolitique (alpha et beta hémolysine), toxines exfoliative, la Leukocidine Panton Valentine (LPV), protéine A...etc (McCormick *et al.*, 2001; Lina *et al.*, 1999) .

II-3- Les entérocoques

Les entérocoques appartiennent à la famille des *Enterococcaceae* du phylum des firmicutes, ce sont des cocci à Gram positif ovoïdes disposés en diplocoque ou en courte chaînette de 3 à 4 cellules. Ils possèdent un métabolisme anaérobie aéro-tolérants, fermentant le glucose en produisant essentiellement de l'acide lactique. Ces germes sont immobiles non sporulent mais certaines espèces peuvent avoir une capsule (**Horaud & Bouguenec, 1999**) .

La particularité des entérocoques est leur multiplication dans les milieux hostiles. En effet, ils sont capables de croître dans un milieu hyper salé contenant 6,5g /l de NaCl, tolèrent jusqu'à 40% de bile et un pH allant de 4.5 à 9.6 et peuvent résister à un traitement thermique de 63C° pendant 30 min (**Facklam, 1972**).

Plus de 44 espèces d'entérocoques ont été identifiées (**Laadjouzi, 2013**). Cependant les espèces les plus fréquemment isolées sont : *E. faecalis* et *E. faecium* qui représentent 80-85% et 10- 15% respectivement des isolats cliniques (**Sonal et al., 2003**).

Les entérocoques sont des bactéries qui colonisent principalement la flore de tube digestive mais également la peau et les voies génito-urinaires(**Flahaut et al., 1997**). Le principal mode de transmission des entérocoques est le manu portage; les surfaces inertes et le matériels médical qui peuvent être contaminés favorisant ainsi des transmissions croisées (**Cetinkaya et al., 2000**).

Les entérocoques sont à priori pauvres en facteurs de virulence si on les compare aux autres bactéries pathogènes. Certains facteurs ont été associés aux épidémies hospitalières dont les plus importants sont ; substance d'agrégation (*asaI*), gélatinase (*gel E*), cytolycine, *enterococcal surface protéine (esp)* et récemment une hyaluronidase. Les trois premiers facteurs de virulence ont été retrouvés chez *E. faecalis* alors que la protéine (*Esp*) et la hyaluronidase sont spécifiques à *E. faecium* (**Willems & Bonten, 2007**).

Les entérocoques sont des pathogènes opportunistes principalement responsables d'infections nosocomiales chez les individus hospitalisés et immunodéprimés. Ils sont émergés durant les dernières décennies en tant que deuxième à troisième cause la plus commune des infections nosocomiales, incluant les infections du tractus urinaire et des tissus mous, de bactériémies et d'endocardites (**Desai et al., 2001**) . En 2012, les entérocoques se trouvaient à l'origine de 6.9 % des infections nosocomiales en France (**Raisin, 2012**).

III- La multirésistance aux antibiotiques

La consommation abusive des antibiotiques et la pression de sélection font partie des principaux facteurs impliqués dans la dissémination des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques essentiellement en milieu hospitalier.

III-1-Chez les entérobactéries

Les entérobactéries sont soit naturellement sensibles aux β -lactamines (*ex* : *E.coli*), soit naturellement résistantes comme c'est le cas chez *Klebsiella sp.* qui présente une résistance naturelle à l'ampicilline (Vora & Auckenthaler, 2009). Ces bactéries qui sont à l'origine sensibles, ont développés des résistances acquises. Cette dernière se traduit par mutation chromosomique (rare), ou bien, par l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides, transposons et autres éléments génétiques mobiles (Davies, 1997)

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques de la famille des β -lactamines est en perpétuel. Cette résistance résulte soit d'une modification de la cible de ces antibiotiques (les protéines liants les pénicillines : PLP), soit par production d'une β -lactamase (Robin *et al.*, 2012). Ce dernier est le mécanisme de résistance le plus répandu chez les bacilles à Gram négatif (Cavallo *et al.*, 2004). Les BLSE sont des enzymes hydrolytiques actives sur les céphalosporines à large spectre ; 1G, 2G et 3G, les pénicillines et aztreonam mais pas sur les carbapénèmes (Lee *et al.*, 2012). Les BLSE sont décrites initialement chez *Klebsiella pneumoniae* en Allemagne en 1983 (Kliece *et al.*, 1985). Jusqu'à la fin des années 90, la majorité des BLSE détectés sont de type TEM et SHV dérivés par mutation (Gniadkowski, 2008).

A partir des années 2000, des BLSE de type CTX-M ont émergé au niveau mondial chez des souches d'entérobactéries et constituent une cause majeure de la résistance aux céphalosporines à spectre étendu (Matsumoto *et al.*, 1998).

L'introduction des carbapénèmes dans le traitement des infections à BLSE ou dans le cas d'infection sévères a contribué à l'apparition de nouvelles résistances à ces antibiotiques (Grall *et al.*, 2011). Les mécanismes de résistance à ces molécules peuvent être, soit liés à une BLSE ayant une faible activité carbapénémase, soit à une production d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique, ou bien à l'expression d'une vraie carbapénémase (Lee *et al.*, 2007 ; Poirel *et al.*, 2012). Ces types d'enzymes ont été classés

selon leur type moléculaire en trois classes à savoir; les métallo- β -lactamases, carbapénémases de classe A (KPC) et les oxacillinases (OXA-48) (Pitout, 2012) . Le premier cas de la résistance au carbapénèmes est rapporté en 1990, au Japon (Walsh *et al.*, 2005) .

La première carbapénémase NDM-1 (New Delhi métallo- β -lactamase) a été identifiée (Young *et al.*, 2009) et diffusée d'une manière importante chez *Klebsiella pneumoniae* et *E. coli* dans les milieux hospitaliers et communautaires (Nordmann *et al.*, 2009).

Les entérobactéries présentent non seulement une résistance aux β -lactamines, mais également des résistances associées à d'autres classes d'antibiotiques utilisés en thérapie humaine, en particulier les fluoroquinolones et les aminosides (Paterson & Bonomo, 2005).

III-2- Chez les staphylocoques

L'utilisation de la pénicilline a considérablement amélioré le progrès de traitement des infections graves à staphylocoque, cependant en 1960, la résistance à la pénicilline est apparue (Jevon, 1961).

Chez *S. aureus*, 80% des souches présentent une résistance acquise aux pénicillines par la production d'une pénicillinase plasmidique (Barber, 1961). Quant à la résistance à la méthiciline qui n'est pas hydrolysée par la pénicillinase, elle est liée à la production d'une PLP d'une faible affinité pour l'ensemble des β -lactamines; la PLP2a codé par le gène *mec A* (Ubukata *et al.*, 1985).

En plus de ces mécanismes de résistances fréquents, d'autres mécanismes conférant une résistance de bas niveau à la méthiciline en absence du gène *mec A*. Ces derniers peuvent être liés soit à l'hyperproduction de la pénicillinase plasmidique (BORSA), soit à des modifications des PLP1 et PLP2 indépendamment de la PLP2a (MODSA) (McDougal & Thornsberry, 1986).

S. aureus est à priori sensible aux aminosides. Cependant, des résistances sont fréquemment détectées notamment chez le SARM. Elles sont dues à une inactivation de l'antibiotique par diverses enzymes bactériennes qui sont codés par des gènes plasmidiques ayant un fort potentiel de dissémination : phénotype k (du a une phosphorylase), le phénotype KT (du a une adénylase) et le phénotype KTG (due a une phosphorylation et une acétylation) (Bismuth, 2006).

Le mécanisme de résistance des staphylocoques aux antibiotiques de la famille macrolide, lincosamide et streptogramine (MLS) est liée à la modification de la cible ARN

ribosomal 23S par méthylation de l'adénine. Ce mécanisme codé par un gène *erm* qui peut être à expression constitutive ou inductible. De plus, des pompes à efflux interviennent également dans le mécanisme de résistance aux MLS codée par trois gènes *msrA* *msrB* et *mef*. Leur produit forme un transporteur protéique qui diminue l'accumulation de l'antibiotique dans la cellule (**Palavecino, 2004**).

Bien que le traitement efficace contre les SARM soit les glycopeptides, certaines souches ont développé une résistance à la vancomycine. En 1996, la première souche de *S. aureus* résistante à la vancomycine a été rapportée en Japon (**Hiramatsu et al., 1997**).

La résistance à la vancomycine se traduit par modification des précurseurs du peptidoglycane D-Ala D-Ala qui constitue la cible de l'antibiotique. Le transfert du gène *vanA* d'entérocoques vers staphylocoque par conjugaison a été démontré *in vitro* et *in vivo* (**Noble et al., 1992**).

III-3- Chez les entérocoques

Les entérocoques sont naturellement résistants à de nombreux antibiotiques tels que les aminosides de bas niveaux, clindamycines, les fluoroquinolones et β -lactamines. La résistance à ces derniers est souvent liée à la présence de la PLP5 d'une faible affinité pour la pénicilline. Cette dernière est responsable de la résistance élevée aux céphalosporines et aux monobactames chez *E. faecalis* et *E. faecium* (**Fontana et al., 1995**).

La résistance acquise des entérocoques aux aminosides est associée à trois mécanismes, à savoir; l'altération de la cible ribosomal, la modification du transport de l'antibiotique et la détoxification enzymatique de l'antibiotique (**Murry, 1990**).

Le traitement de choix pour une infection à entérocoques sont les glycopeptides, bien que ces dernières années, les entérocoques ont développés une résistance à la vancomycine et la teicoplanines.

La résistance à la vancomycine est codée par l'un des gènes de résistance *vanA*, *vanB*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanM*, *vanN*, *vanL* et *vanC*. Ces gènes induisent la modification de la cible par la synthèse des nouveaux précurseurs pentapeptidiques : D-ala-D-ala \rightarrow D-ala-D-lactate pour les phénotypes (Van A, Van B, Van D, Van M) et D-ala-D-ala \rightarrow D-ala-D-serine pour les phénotypes (van G et van E, Van L, Van N et van C) (**Arthur et al., 1996**).

Quant aux autres familles d'antibiotiques, les entérocoques partagent le même mécanisme de résistance avec les staphylocoques. La résistance aux fluoroquinolones est liée soit à la pompe d'efflux de l'antibiotique ou bien par la mutation des cibles; les

topoisomérases :ADN gyrase et topoisomérases IV (**Mainardi *et al.*, 1996**). Concernant les tétracyclines, la résistance est liée à un système d'efflux (*tet K*, *tet L*) ou à la modification de la cible ribosomale (*tet M*)(**Le Minore & Veron, 1989**). La résistance à la rifampicine est le résultat d'une mutation du gène *rpo* codant pour un ARN polymérase (**Tankovic *et al.*, 1997**). Cependant la mutation du système de transport du précurseur de peptidoglycane confère la résistance à la fosfomycine et la mutation du gène *fus A* codant pour EF-G (facteur d'élongation) donne une résistance à l'acide fusidique (**Rabaub & May, 2000**).

Matériel et Méthodes

I- Contexte de l'étude et lieu de stage

Notre étude réalisée au niveau d'hôpital de Sidi-Aich dans le but d'isoler et identifier les bactéries impliquées dans les infections nosocomiales et caractériser leurs phénotypes de résistance. Il s'agit d'une enquête prospective réalisée au niveau de cet hôpital d'une période allant du 4 février au 15 avril. Cette étude concerne 120 patients dont le séjour a dépassé 48h d'hospitalisation.

L'EPH de Sidi Aich est composé de divers services (médecine interne, chirurgie générale, réanimation, pédiatrie maternité, cardiologie, ophtalmologie) et un pavillon des urgences, un bloc opératoire avec un personnel médical de toutes les spécialités chirurgicales. Un laboratoire central composé de trois unités (microbiologie, biochimie, parasitologie). L'hôpital à une capacité litière de 213 lits et une moyenne d'admissions de 8000 patients/an (ex 8005 patients pour l'année 2016).

II- Souches bactériennes

II-1- Recueilles et ensemencement des prélèvements :

Nous avons effectué des prélèvements biologiques (urine, pus, prélèvements de gorge, prélèvements vaginaux, ...etc. sous l'orientation des responsables de chaque services et l'aide du personnels soignants. Les renseignements collectés sont présentés en Annexe I.

II-1-1- Prélèvements urinaire :

Les prélèvements ont été effectués le matin après toilette soignée, éliminer le premier jet d'urine, recueillir dans un collecteur stérile. A l'aide d'une anse de platine, une goutte d'urine est prélevée puisensemencée par stries sur des milieux sélectifs. L'incubation est faite à 37 C° pendant 24 heures.

II-1-2- Prélèvements de pus, vaginaux et de gorge :

Les prélèvements sont effectués à l'aide d'un écouvillon stérile après désinfection des sites des prélèvements. Après un temps d'enrichissement (2 heures) sur un bouillon nutritifs, nous avonsensemencé sur des milieux sélectifs par stries. L'incubation est faite à 37 C° pendant 24 heures.

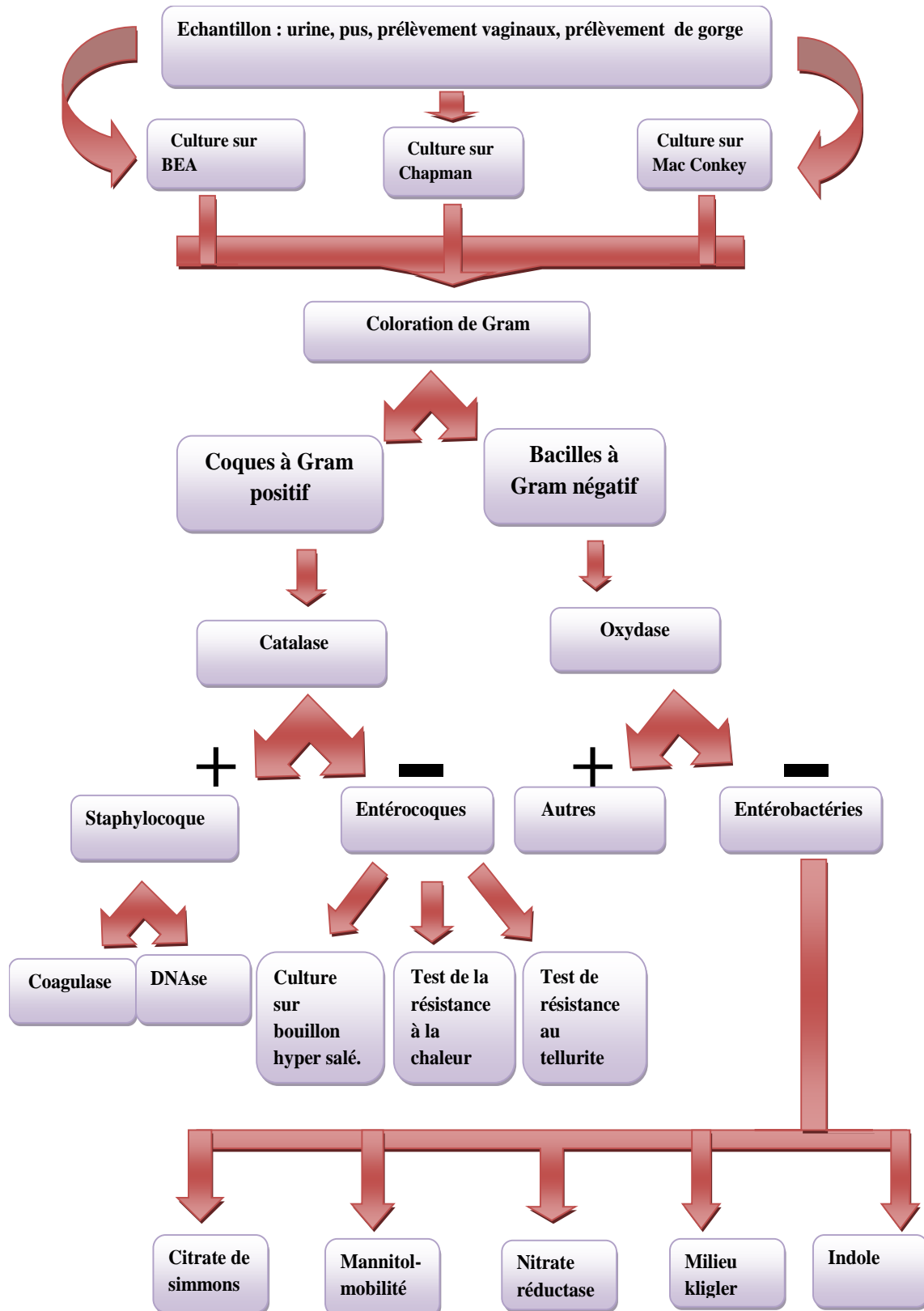


Figure 1 : Schéma générale d'identification des bactéries isolées

II-2- Isolement et identification :

Selon les caractères culturels, nous avons ré isolé sur les mêmes milieux sélectifs jusqu'à avoir des colonies pures (La composition des milieux utilisés est illustré dans Annexe II).

La coloration de Gram confirme l'orientation vers la recherche d'entérobactéries, staphylocoques, entérocoques.

II-2-1- Identification des entérobactéries :

Après examen microscopique et macroscopique des colonies, nous avons réalisé une série de testes biochimiques (tableau I).

Tableau I : Tests d'identification biochimiques des entérobactéries

Test	Principe	Technique	Lecture
Isolement sur Milieu Mac-Conkey	Milieu sélectif contient deux inhibiteurs de la flore Gram positive, sels biliaires et le cristal violet permet l'isolement des bacilles à Gram négatif. Ce milieu contient un critère de différenciation ; le lactose dont l'utilisation est révélé par l'indicateur coloré de milieux	Isolement par stries	<ul style="list-style-type: none"> - Bactéries lactose + : colonies rouges brique à rose entourées d'un halo opaque dû à la précipitation des sels biliaires (lié à l'acidité du milieu). - bactéries lactose - : colonies incolores.
Utilisation des sucres et production de H₂S	Milieu de différenciation des enterobacteries basée sur la fermentation des sucres et la production de sulfure d'hydrogène	Le milieu TSI est ensemencé par piqure centrale et par stries sur la pente, incubé à 37°C pendant 24 heures	<p>Glucose+ : virage de culot au jaune</p> <p>Lactose + : virage de la pente au jaune</p> <p>Gaze + : formation des bulles d'air et fissure de gélose</p> <p>H₂S + : noircissement de milieu</p>
Recherche de nitrate réductase	Recherche d'une enzyme capable de catalyser la réaction de réduction des	Le bouillon nitraté est ensemencé. incubé à 37°C pendant 24 heures, on	Virage de milieu au rouge

	nitrate (NO ₃ ⁻)	ajoute quelque goutte des réactifs NR1 et NR2	
Production d'indole	Recherche de la production d'indole issu de l'hydrolyse de tryptophane par tryptophanase	Ensemencer milieu EPEI et incubé à 37 C° pendant 24 heures puis ajouter quelques gouttes de réactif de KOVACS	Apparition d'anneau rouge
Utilisation de citrate	Utilisation du citrate comme seule source de carbone	le milieu citrate est ensemencé par stries serrées, incubé à 37C° pendant 24 heures jusqu'à 7 jours	Virage de milieu au bleu
Mannitol et mobilité	Milieu permet l'étude de la dégradation de mannitol et la mobilité des enterobacteries	Ensemencer le milieu mannitol-mobilité par piquer centrale, incubé à 37C° pendant 24 heures	Mannitol +: Virage de milieu au jaune Mobilité+ : apparition d'un trouble autour de la pique

II-2-2- Identification de *S .aureus*

Afin de caractériser les souches, nous avons réalisé une séries de testes biochimiques (tableau II)

Tableau II : Test d'identification des souches de staphylocoques

Test	Principe	Technique	Résultat positif
Isolement sur Milieux Chapman	Milieu sélectif à forte concentration de NaCl (7.5%) permet la sélection des bactéries halophiles. Ainsi l'utilisation de mannitol constitue un critère d'identification de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Isolement par strie	Petite colonies pigmentés en jaune : forte suspicion de <i>S .aureus</i>
Catalase	Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire (AS et AAF) qui peuvent catalyser les peroxydes. $2 \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$	Mettre en contact une colonie avec le H_2O_2 sur une lame	Le dégagement d'oxygène indique une catalase positive
Coagulase	Enzyme capable de coaguler le plasma sanguin	Après incubation d'une colonie avec 0,5ml BHIB. Ajouter 0,5 ml de plasma humain, incubé à 37 C° pendant 24 heures	L'apparition d'un caillot observé en inclinant le tube à 90°C indique une coagulase positive.
DNase	Test utilisé pour déterminer la capacité du microorganisme à hydrolyser l'ADN	On ensemence la gélose de DNA par une strie, incubée à 37C° pendant 24heures, on ajoute HCl	Apparition d'une zone claire autour de strie indique la présence d'une DNase

➤ **Galerie API 20 STAPH :**

Pour confirmer l'identification des souches nous avons procédé à une identification par la galerie API 20 STAPH.

- **Principe :**

La galerie API système, utilise 20 tests. Il s'agit d'une galerie qui se présente sous forme de produit déshydraté, leur reconstitution se fait lors de l'addition de la suspension bactérienne réalisée dans API Staph medium.

- **Lecture :**

Après incubation, on ajoute pour les cupules VP et NR les réactifs (VP 1, VP 2 /NR 1, NR 2). La lecture des galeries API STAPH se fait selon les indications du fournisseur, après codification des réactions en un profil numérique, on se réfère à un catalogue analytique.

II-2-3- Identification des entérocoques

Après examen microscopique et macroscopique des colonies, nous avons réalisé une série de tests biochimiques (Tableau III).

Tableau III : Test d'identification des souches d'entérocoques

Test	Principe	Technique	Lecture
Isolement sur Milieu BEA (Bile Esculine Azide de sodium)	Milieu sélectif composé de la bile qui inhibe la croissance des bactéries autres qu'intestinales, l'esculine qui est un critère de différenciation et l'azide de sodium qui inhibe les bactéries à Gram négatif.	Isolement par strie	Petite colonie translucide entourée d'un halo noir indique la présence des entérocoques
Catalase	Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire (AS et AAF) qui peuvent catalyser les peroxydes. $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$	Mettre en contact une colonie avec le H_2O_2 sur une lame	Absence de dégagement d'oxygène indique une catalase négative

Culture sur bouillon hyper salé	Croissance sur bouillon hypersalé de 6.5% NaCl	Ensemencer dans le bouillon hypersalé, incubation à 37 C° pendant 24 heures	La croissance se traduit par l'apparition d'un trouble
Test de la résistance à la chaleur	Traitement à la chaleur 63C°/30min	Ensemencer le bouillon M17+glucose incubé à 63C°/30min puis à 37C° pendant 24heures	La croissance se traduit par l'apparition d'un trouble
Test au tellurite de potassium	Croissance sur bouillon nutritif contenant de tellurite de potassium,	Ensemencer le tube et incubé à 37C° pendant 24h	Apparition d'un dépôt noire met en évidence <i>E. faecalis</i>

III-Etudes des profils de résistance

L'étude des profils de résistance a été effectuée par l'antibiogramme standard : réalisé selon les recommandations de comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie CA-SFM (2017).

- **Préparation de l'inoculum :**

A partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures, nous avons préparé une suspension bactérienne. Introduire avec une anse de platine 2 à 3 colonies de même morphologie dans 5ml d'eau physiologique puis homogénéiser la suspension à l'aide d'un vortex.

- **Ensemencement :**

Plonger l'écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de la suspension en tournant l'écouvillon sur la paroi interne de tube ; ensemer la totalité de la surface de gélose Mueller-Hinton, répéter l'opération 3 fois en tournant la boîte 60°. Les disques d'antibiotiques correspondant ont été appliqués à l'aide d'une pince en appuyant légèrement; puis incubée pendant 24heures à 37C.

- **Lecture**

Après l'incubation à 37C pendant 24 heures, on mesure les diamètres des zones d'inhibition. L'interprétation en résistant (R), intermédiaire(I) et sensible (S) est effectuée selon les recommandations du CA-SFM.

III-1-Etude des phénotypes de la résistance chez les entérobactéries

Toutes les souches d'entérobactéries sont testées vis-à-vis des antibiotiques suivant : méropénème, amoxiciline, gentamycine, acide nalidixique, fosfomycine, ciprofloxacine, et tobramycine, par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton comme indiquée ci-dessus. L'incubation est faite à 37C° pendant 24 heures .L'interprétation en résistant et sensible pour chaque antibiotique est donnée dans l'annexe III.

III-1-1- Recherche de la production des β -lactamase à spectre étendu (BLSE)

La détection des BLSE produites par les entérobactéries est réalisée par le DD- test .Le test de synergie est effectué sur gélose Muller-Hinton. Pour ce faire, nous avons utilisés un disque 30 μ g pour chacun de cefotaxime, aztreonam, cefoxitine, ceftazidime et le disque de l'amoxiciline-acide clavulanique (AMC) positionnés d'une distance de 30 mm centre à centre pour chaque antibiotique. Incuber à 37 C° pendant 24 heures. L'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'AMC et les disques des céphalosporines sous forme d'un bouchon de champagne, indique la production d'une BLSE (**Drieux et al., 2008**).

La diminution de la distance entre l'AMC et les céphalosporines à 20 mm améliore la sensibilité de test (**Tzelepi et al., 2000**).

III-1-2- Antibiogramme sur gélose à la cloxacilline

La production d'une BLSE peut être masquée par la présence d'une céphalosporinase. Dans ce cas, nous avons réalisé un test de synergie sur milieu Mueller-Hinton contenant 250 μ g/ml de cloxacilline, qui inhibe l'activité de la céphalosporinase (**Naas, 2003**).

III-2- Etude des phénotypes de résistance chez les *S. aureus*

Toutes les souches de *S.aureus* sont testés vis-à-vis les antibiotiques suivants : Erythromycine, clindamycine, ciprofloxacine, gentamycine, rifampicine, vancomycine,

tétracycline, tobramycine, acide fusidique, triméthoprime-sulfaméthoprime par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton comme indiquée ci-dessus. L'incubation est faite à 37 C° pendant 24 heures. L'interprétation des diamètres d'inhibition pour chaque antibiotique est illustrée en annexe IV.

III-2-1- Recherches des SARM

Pour étudier la résistance à la méthiciline chez *S. aureus*, un antibiogramme standard est réalisé dans le quelle un disque de cefoxitine (30µg) est appliqué. L'incuber pendant 18 à 24 heures est réalisé à 30 C°(Fernandes *et al.*, 2005).

III-2-2- Etude de la C.M.I des isolats vis-à-vis de la vancomycine en milieu liquide :

➤ Préparation de la microplaque

Distribution de 50 µl de bouillon Mueller-Hinton dans chaque cupule. Dans la première cupule contenant 50 µl de bouillon MH, on ajoute un volume de la solution d'antibiotiques 50 µl, pour une concentration finale de 256 µg /ml.

➤ Les dilutions :

Bien mélanger la solution d'antibiotique et le bouillon MH, à l'aide d'une micropipette nous avons prélevé 50 µl de ce mélange que l'on ajoute à la cupule adjacente et ainsi de suite jusqu'à l'avant dernière cupule et on jette les 50 µl restantes (la séries des concentrations de 0.25µg/ml à 128µg/ml). NB : un témoin négatif sans antibiotique a été effectué. (Tableau IV)

Tableau IV: Concentration d'antibiotique dans les différentes cupules

Cupule	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Témoin
Concentration d'antibiotique g /µl	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0

➤ Préparation de l'inoculum :

Re-suspendre 3 à 4 colonies dans 5 ml de bouillon MH. Les cupules ont été inoculées par 50 µl de la suspension et incubées à 37 C pendant 24 heures.

➤ **Lecture :**

Nous avons d'abord vérifié s'il y a croissance dans la cupule témoin (sans antibiotique) présence de culot, la CMI étant la plus faible concentration empêchant toute croissance visible à l'œil nu.

III-3- Etudes des phénotypes de résistance chez les entérocoques

Tout les souches d'entérocoques sont testée vis-à-vis les antibiotiques suivants :Gentamycine, rifampicine, triméthoprine-sulfaméthoprine, érythromycine, tétracycline, vancomycine, ceftioxime, clindamycine, tobramycine, ciprofloxacine, acide fusidique, fosfomycine, acide nalidixique, lincomycine, nitrofurantoïne, imipénème, par la méthode de l'antibiogramme standard comme indiquée ci-dessus. La charge des antibiotiques est présentée dans la annexe V.

Résultats

I- Population étudiée

Au cours de notre étude, un total de 120 patients hospitalisés durant la période de stage, dont le séjour a dépassé les 48 heures après leur admissions ont été sélectionnés. Parmi eux (59 hommes, 69 femmes) au niveau des différents services de l'hôpital. Un nombre de 55 patients aurait contracté au moins une infection nosocomiale. Ces infections étaient à l'origine de 63 isolats cliniques. Le taux d'infections nosocomiales obtenu dans cette présente étude est estimé à 45.83 (55 patients infectés / 120 malades suspectés avoir une infection nosocomiale).

II- Identification des isolats

Sur un total de 120 isolats, les entérobactéries occupent la première place dans la survenue de l'infection nosocomiale, suivi par les Staphylocoques et les Entérocoques (Figure 2)

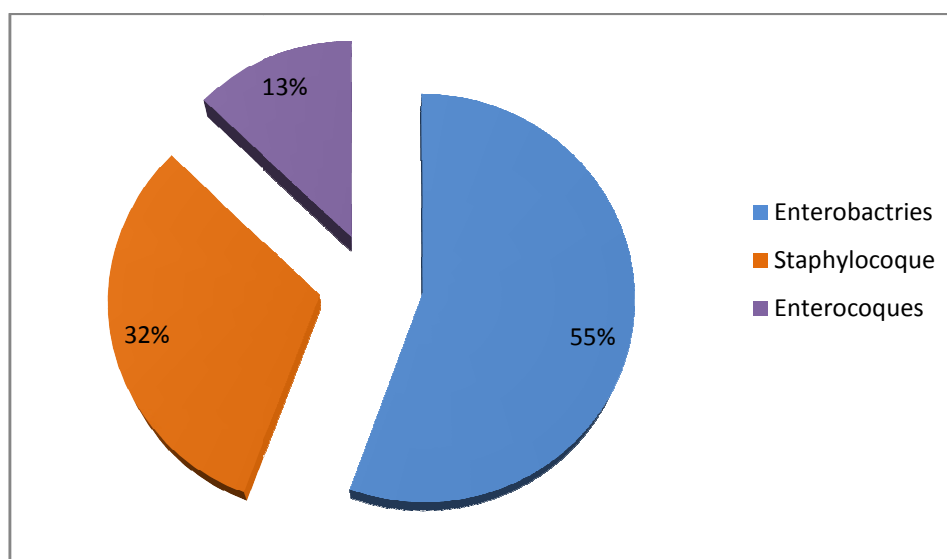
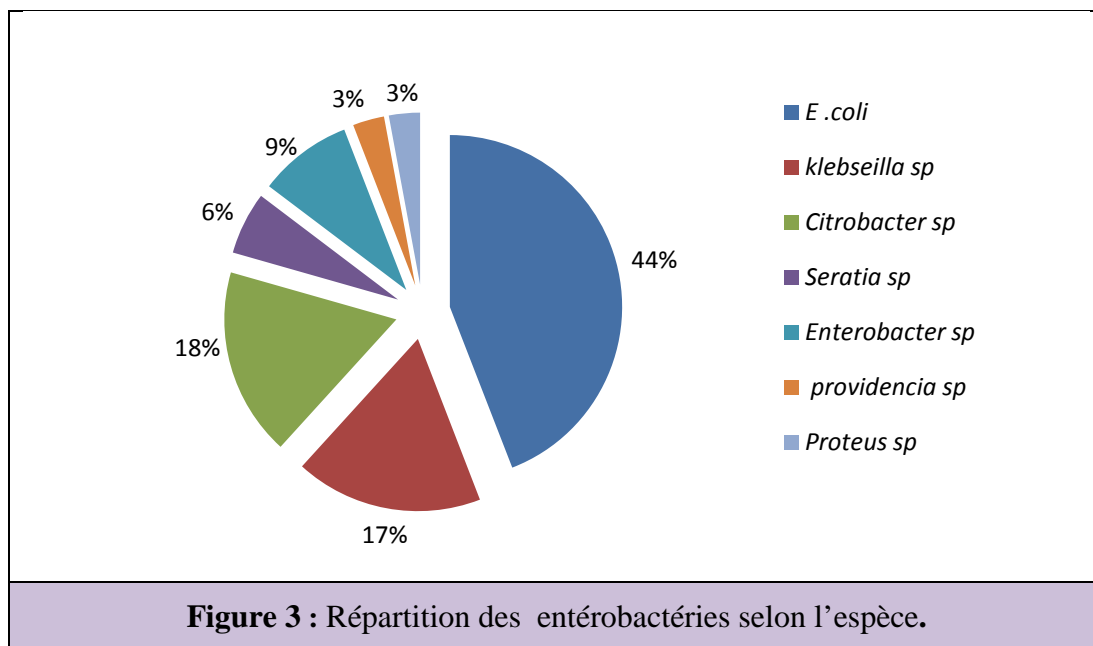


Figure 2 : Répartition des souches isolées

II-1- Entérobactérie

L'examen macroscopique des colonies isolées sur milieu Mac-Conkey montre différents aspects et l'examen microscopique des bactéries après coloration de Gram a révélé une forme cellulaire en bacille, de couleur rose indiquant des bactéries à Gram négatif

Le tableau d'identification des entérobactéries est rapporté dans l'annexe VI. Selon ces résultats, un nombre de 35 entérobactéries est isolé dont la répartition en fonction de l'espèce est représenté dans la figure 3. L'origine des souches est donnée dans l'Annexe VII.



II-2- Staphylococcus aureus

L'examen macroscopique sur milieux Chapman montre des petites colonies de pigmentations jaune. L'examen microscopique après coloration de Gram montre des colonies de forme cocci regroupées en amas (grappe de raisin) de couleur violette. Le test de catalase est positif pour tous les isolats.

Afin de différencier entre les espèces de staphylocoque, deux tests ont été réalisés à savoir ; la coagulase et la DNase. Les résultats montrent que toutes les souches présentent une coagulase et DNase positives ce qui est une particularité de l'espèce de *Staphylococcus aureus* (figure4).

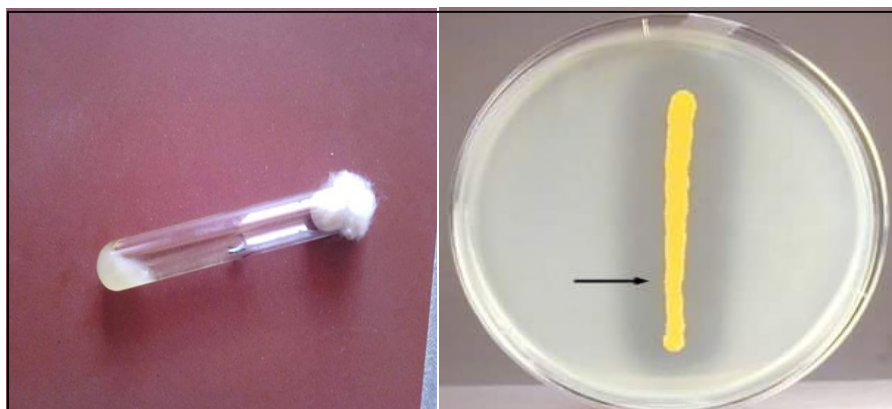


Figure 4 : Résultats de test de coagulase à gauche et celui de la DNase à droite

Une galerie d'identification API 20 STAPH a permis la confirmation de l'espèce *Staphylococcus aureus*, la lecture a été effectuée à l'aide d'un logiciel. L'ensemble des résultats d'identification des staphylocoques a permis de mettre en évidence 20 isolats de l'espèce *S. aureus* responsables de diverses infections. L'origine de ces souches est illustrée en annexe VIII.

II-3- Entérocoque

L'examen microscopique sur milieu BEA montre des colonies translucides entourées d'un halo noir. L'examen microscopique après coloration de Gram montre des souches de forme cocci disposées en paire (diplocoques) ou en courte chaînette de couleur violette. Le test de catalase s'est révélé négatif pour tous les isolats, permettant de suspecter la présence des entérocoques. Pour confirmer le genre *Enterococcus* et afin de les différencier des streptocoques, deux tests ont été réalisés à savoir ; la croissance sur bouillon hyper salé et la résistance à la chaleur (figure 5).

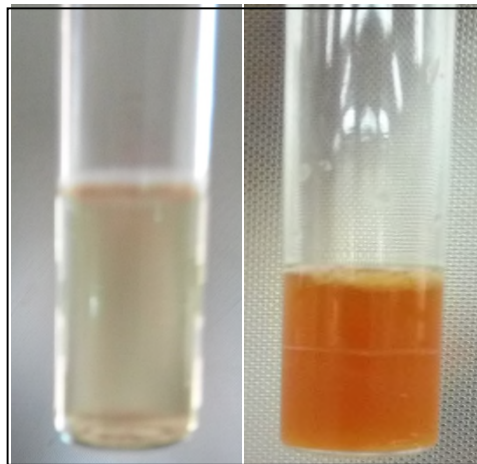


Figure 5: Le résultat du test de croissance sur BHS à gauche et celui du traitement à la chaleur à droite

La réduction des tellurites de potassium est une faculté spécifique à l'espèce *Enterococcus faecalis*. Donc, ce test permet mettre en évidence cette dernière (figure 6).



Figure 6 : Test de résistance au tellurite de potassium

Sur la base de ces résultats d'identification, 8 isolats d'entérocoques ont été mis en évidence comme agent infectieux. Ces isolats correspondent toutes à *E. faecalis* proviennent de différents origines (Annexe IX).

III- Caractérisation de la population étudiée

III-1- Selon l'âge

Les résultats obtenus montrent que 42,85% des souches ont été isolées chez des patients âgés entre 17 et 39 ans.

Tableau V : Fréquence des infections selon l'âge des patients

	1-16ans	17-39ans	40-59ans	>60ans
pourcentage%	6.34%	42.85%	23.80%	26.89%

III-2- Selon le sexe

D'après les résultats obtenus, le sexe féminin présente un taux d'infection plus élevé avec un pourcentage de 61.90% contre 38.09% pour le sexe masculin (figure 7)

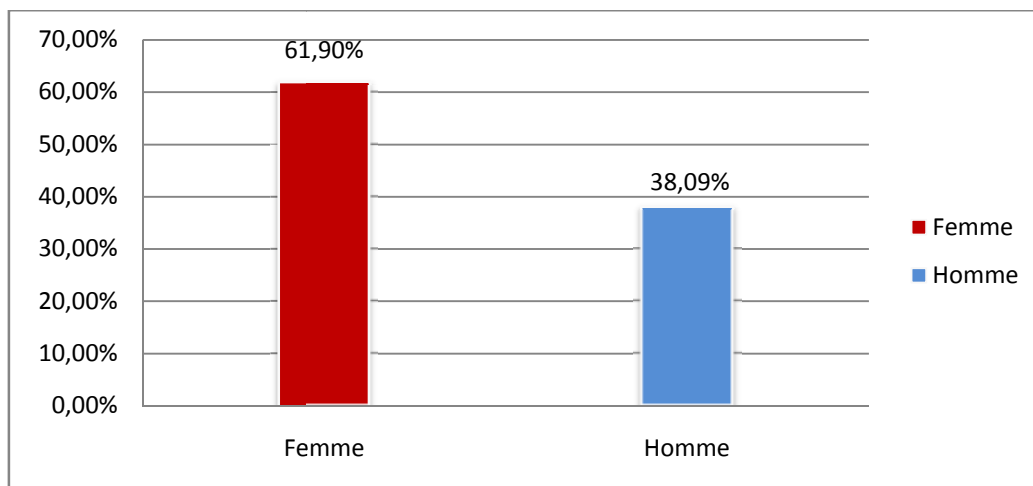


Figure 7: Répartition des isolats selon le sexe

IV-Etude épidémiologiques

IV-1-Répartition des prélèvements

La majorité des prélèvements proviennent des urines (41,66%) dont 65,45% sont de sexe féminin, suivi de pus (31,66%) dont 60,52% sont de sexe masculin (figure 8)

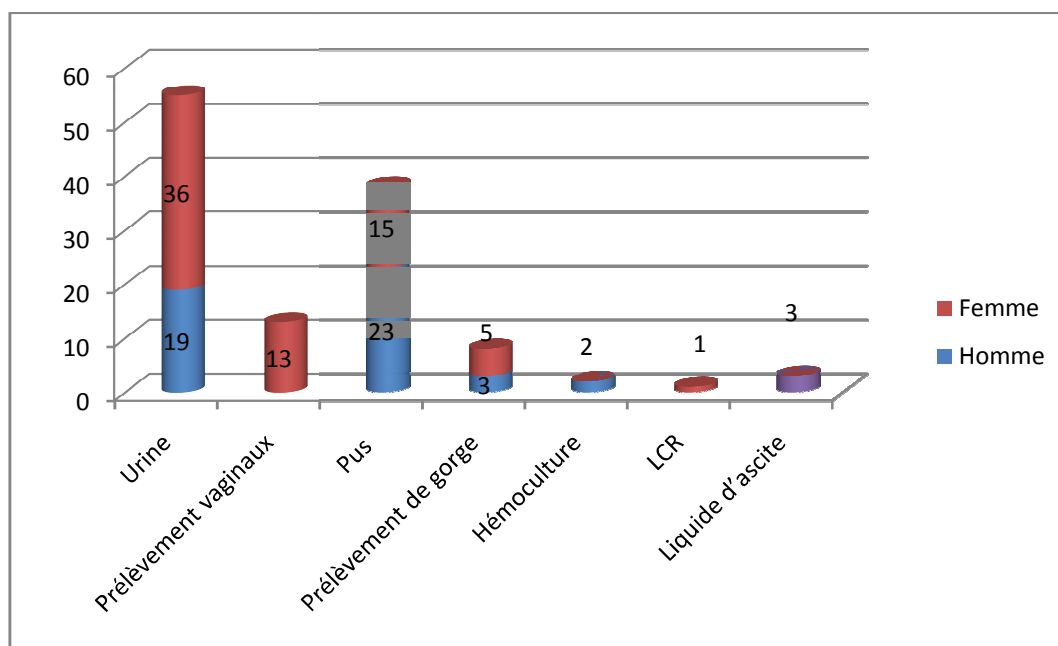


Figure 8 : Répartition des prélèvements selon l'origine et le sexe.

IV-2- Répartition des souches selon le type d'infection

La figure 9 montre que les entérobactéries sont plus retrouvées dans les infections urinaires avec 57,14% (N=35) suivies d'infection de sites opératoires 31,43%. Concernant les staphylocoques, ils sont plutôt dominants dans l'infection de site opératoire avec un taux de 55% (N=20) et rarement dans l'infection respiratoire. Quant aux entérocoques, ils sont moins fréquents dans les infections de la population étudiée (N=8) et si présents, ils causent des infections urinaires dans 62,5% des cas.

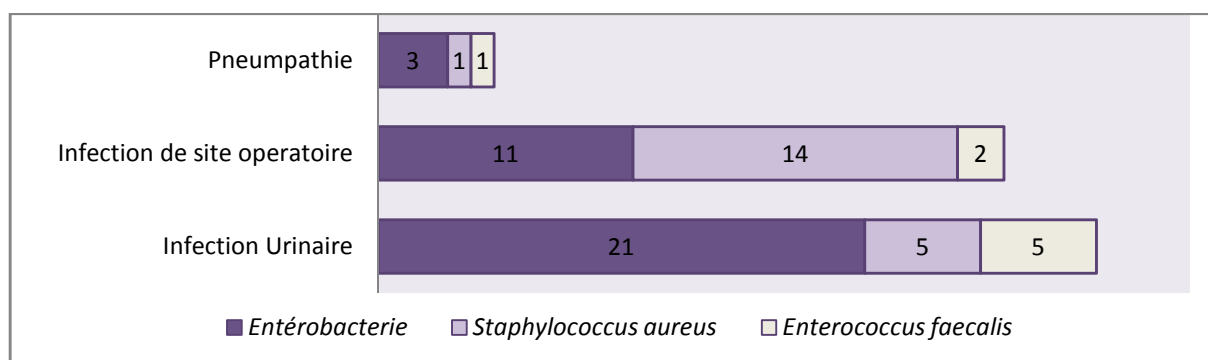


Figure 9 : Répartition des souches selon le type d'infection

IV-3- Répartition des souches selon les services

La figure 10 montre que les infections à entérobactéries sont plus fréquentes au niveau du service de médecine interne avec 12 isolats, suivie par le service de chirurgie et maternité avec 10 isolats pour chacun ; alors que les infections à staphylocoque sont fréquentes au niveau du service de chirurgie avec un nombre de 14 isolats suivie par le service de maternité (5 isolats). Les infections à entérocoque sont moins fréquentes mais concernent tous les services.

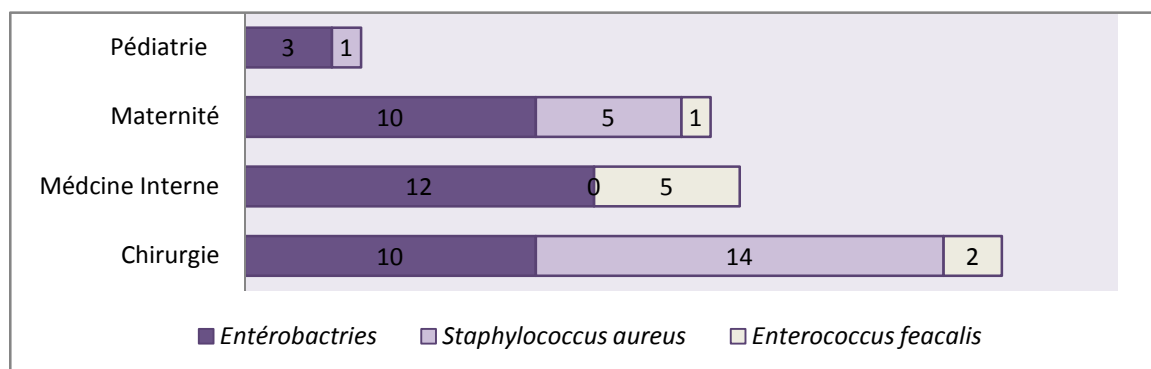


Figure 10 : Répartition des souches selon les services

IV-4- Répartition des infections selon le sexe

Les résultats de notre étude montrent que le sexe féminin est le plus touché par les infections urinaires, alors que l'infection de site opératoire et la pneumopathie touchent plus le sexe masculin (figure 11).

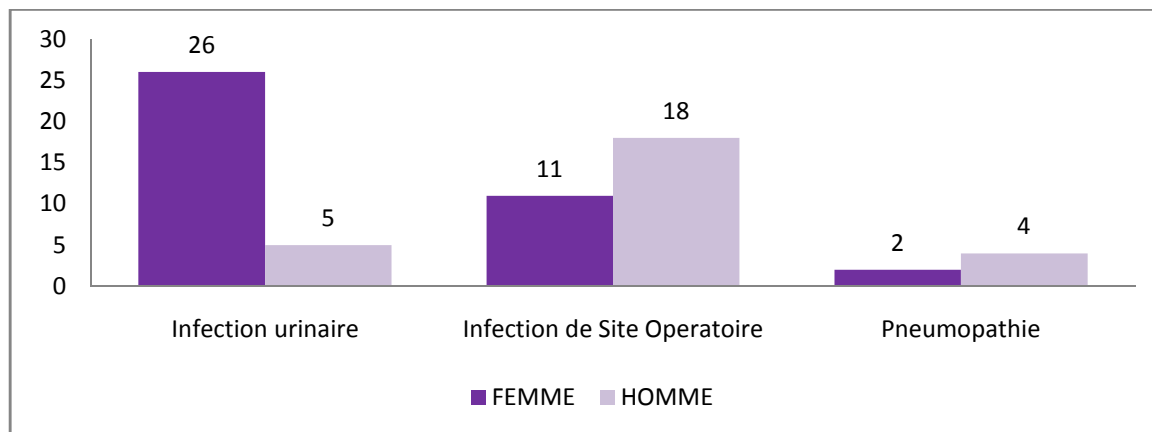


Figure 11: Répartition des infections selon le sexe

V- Etude de la résistance aux antibiotiques

V-1- Détermination des phénotypes de résistances chez les entérobactéries

V-1-1- Résistance des souches aux bêta-lactamines

Plusieurs antibiotiques de la famille des β -lactamines ont été testés sur les souches isolées. D'après les résultats obtenus, nous notons une résistance importante à l'amoxiciline avec un taux de 97,14%, suivie de la Céftriaxone avec un taux de 94,29%. Un taux 74,29% est observé vis-à-vis de l'Amoxiciline + Acide clavulanique. Enfin, aucune souche n'est résistante à méropénème. Les taux de résistance à sept β -lactamines de l'ensemble des souches sont donnés dans la figure 12.

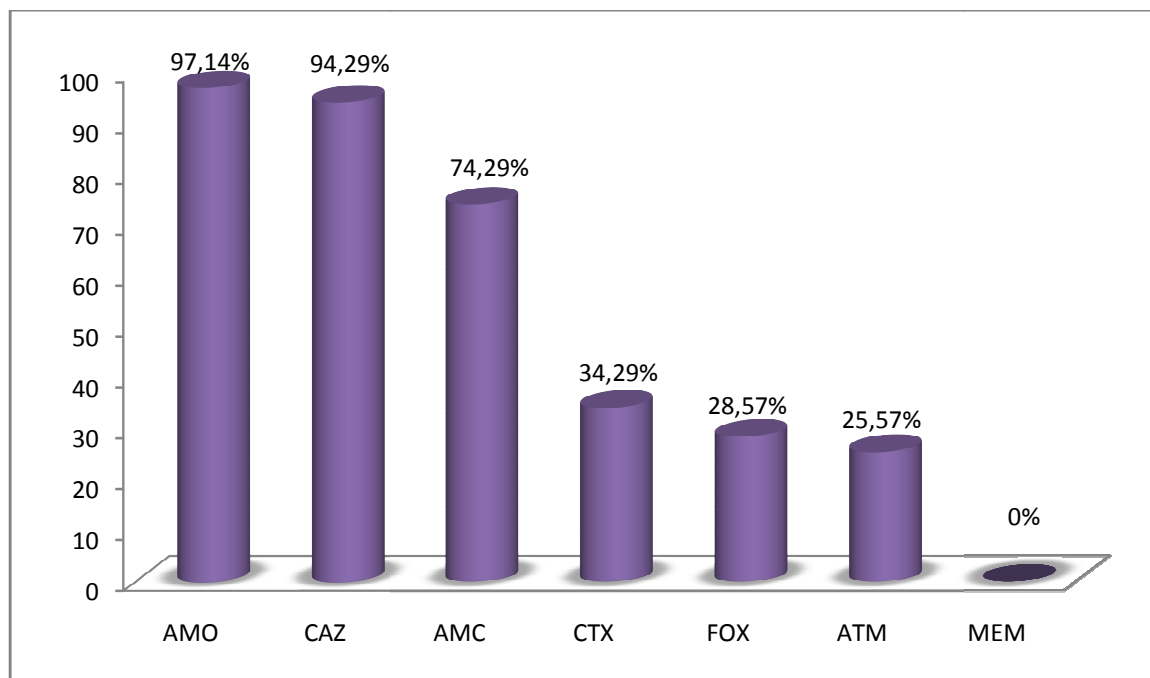


Figure 12 : Taux de résistance des entérobactéries aux β -lactamines.

V-1-2- Résistances aux autres familles d'antibiotiques

Une résistance importante est enregistrée pour la tobramycine avec un taux de 62,86%. Un taux de 28,57% des souches d'entérobactéries isolées ont exprimé une résistance vis-à-vis des gentamicines. Le taux de résistance aux ciprofloxacines est moins important avec un taux de 8,57%. La figure 13 montre la résistance des souches isolées vis-à-vis cinq antibiotiques de différentes familles.

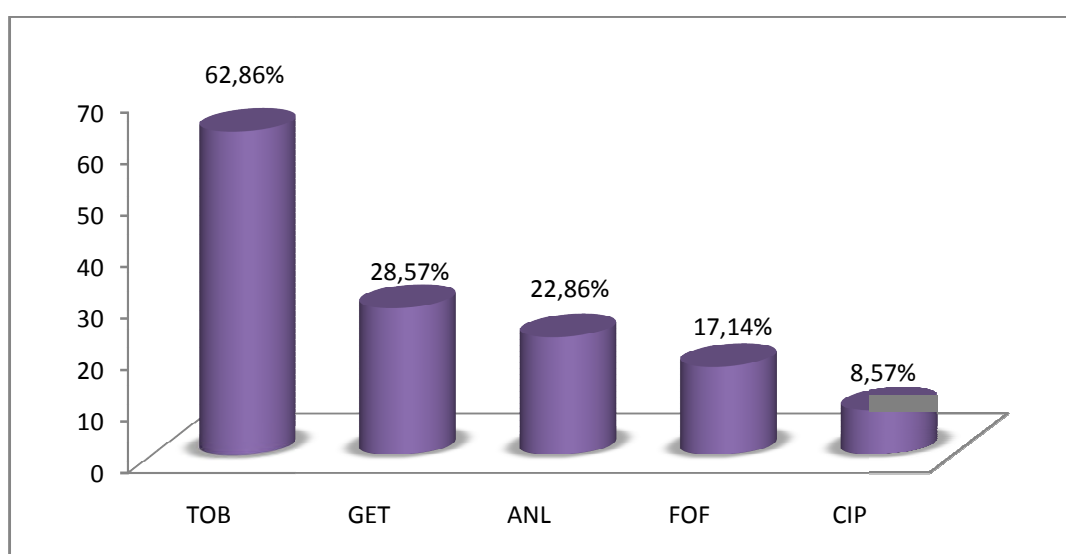


Figure 13 : Taux de résistance des entérobactéries aux autres familles d'antibiotiques.

V-1-3- Recherche de la production de β -lactamase à spectre étendu :

Le DD- test effectué sur milieu MH a révélé la présence d'une image de synergie chez 3 souches d'entérobactéries, indiquant la production éventuelle d'une BLSE chez ces isolats.

V-1-4- Test de synergie sur gélose MH additionné de la cloxaciline

L'apparition de l'image de synergie a été détectée chez une souche de *Klebsiella sp.* La récupération des diamètres des zones d'inhibition (≥ 6 mm) permet de mettre en évidence la production probable d'une céphalosporinase par trois souches (2 *Klebsiella sp.*, 1 *Enterobacter sp.*).

Tableau VI: Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose MH et celui de MH additionné de cloxaciline.

Code	Espèces	Diamètre (mm)	AMC	FOX	CAZ	CTX	ATM
SA29	<i>Klebsiella sp</i>	MH	12	06	06	10	11
		MH+ cloxaciline	21	30	13	24	18
SA78	<i>Enterobacter sp</i>	MH	12	06	10	16	14
		MH+cloxaciline	20	12	28	25	30
SA96	<i>Klebsiella sp</i>	MH	19	13	15	28	31
		MH+cloxaciline	26	22	26	38	40

V-2- Etude de la résistance des Staphylocoques aux antibiotiques

V-2-1- Antibiogramme Standard

Une résistance élevée a été observée pour la rifampicine avec un taux de 80%, suivie de l'érythromycine et l'acide fusidique avec un taux de 40% chacun, la gentamycine à 35% et enfin, un taux de résistance moins important à la tétracycline (5%). Cependant, aucun isolat n'est résistant à la vancomycine (figure14).

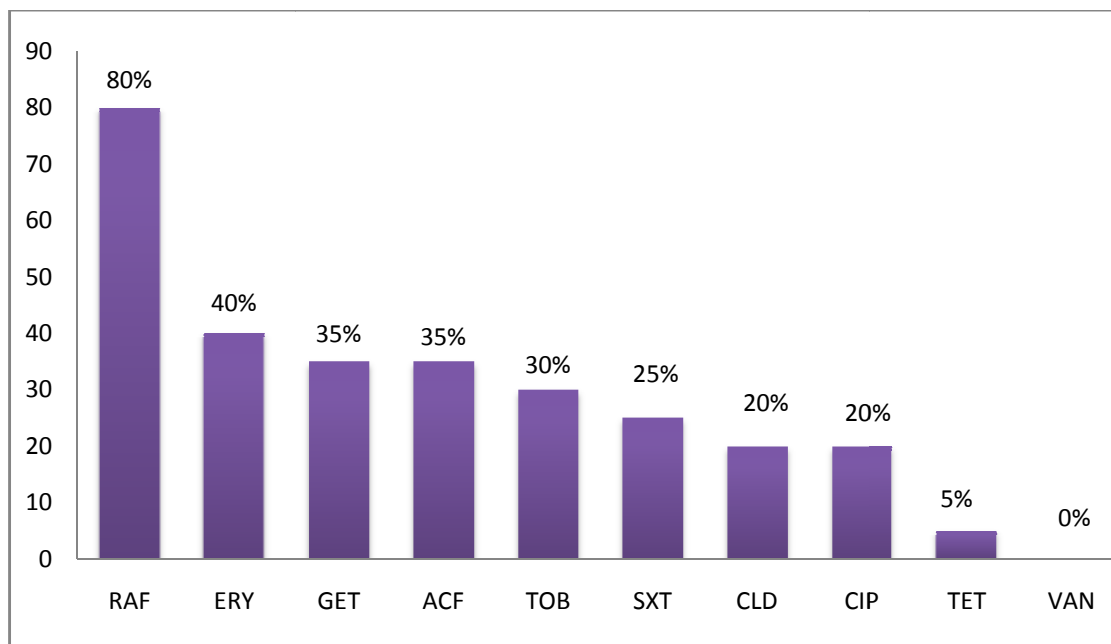


Figure 14: Taux de résistance aux antibiotiques chez *S. aureus*

V-2-2- Etude de la sensibilité à la méthicilline

La recherche de la résistance à la méthicilline est conclu sur la base de la résistance à la céfoxitine. De ce fait, notre étude a montré que 55% (N=20) des souches *S.aureus* sont résistantes à la méthicilline (figure15).

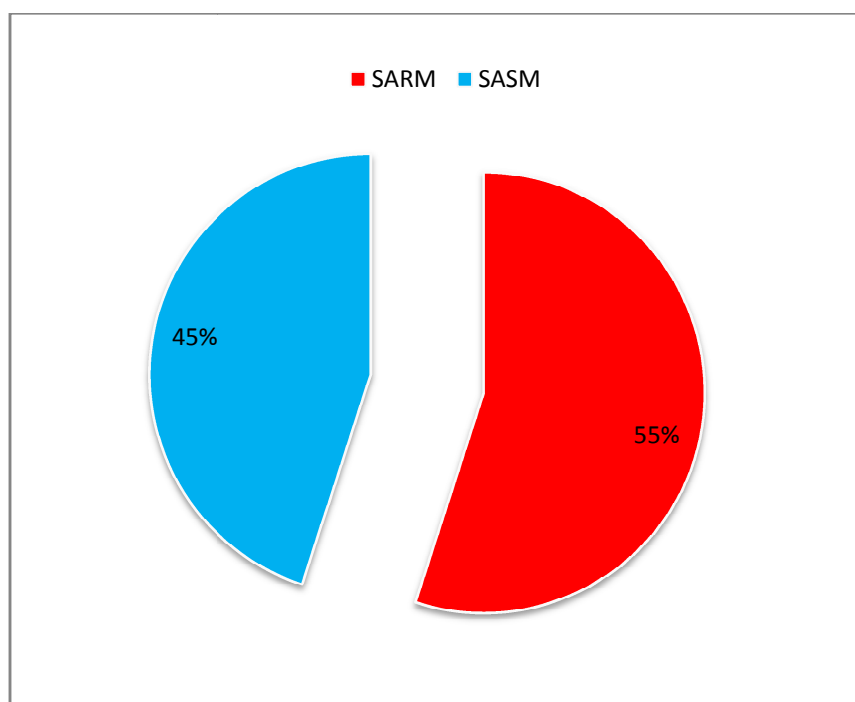


Figure 15 : Taux de SARM dans les infections à *Staphylococcus aureus*

V-3- Etude de la résistance des entérocoques aux antibiotiques

La résistance des entérocoques est absolu (100%) pour la gentamycine, rifampicine, triméthoprime-sulfaméthoprime, cefoxitine, clindamycine, tobramycine, fosfomycine, lincomycine, acide nalidixique. Concernant les taux de résistances aux autres d'antibiotiques, des taux de 70%, 62,5%, 50%, 37,5%, et 12,5% ont été enregistrés respectivement pour l'érythromycine, tétracycline, ciprofloxacine, imipenème, acide fusidique, et nitrofurantoïne. Cependant, aucun isolat n'a présenté une résistance à la vancomycine. (Figure 16)

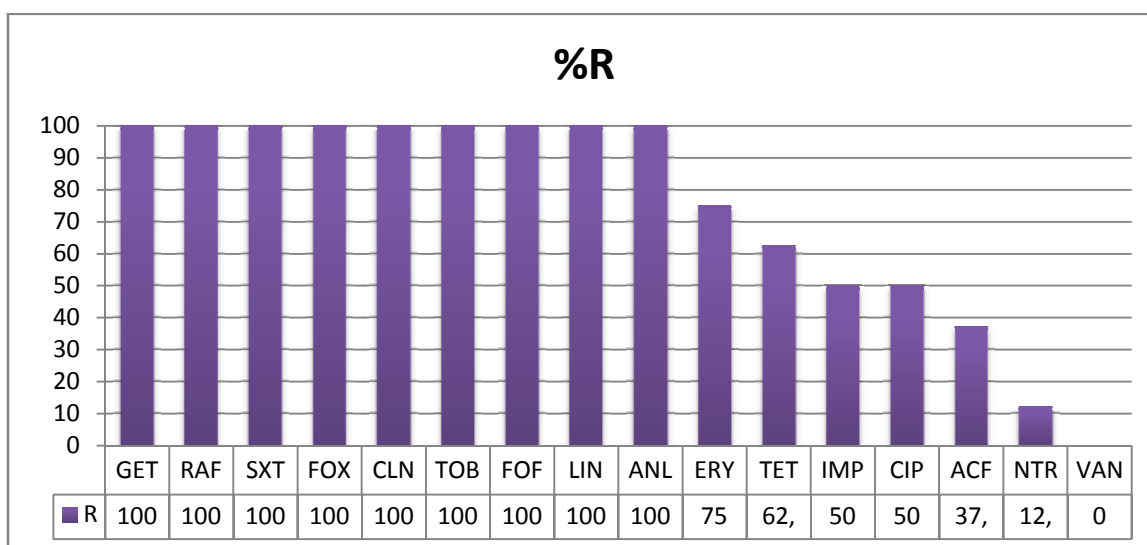


Figure 16 : Taux de résistance aux antibiotiques chez les entérocoques

Discussion Générale

Ce travail est, réalisé au sein de l'EPH de Sidi Aich, concernant l'isolement et la caractérisation des bactéries qui sont impliquées dans les infections nosocomiales. Cependant, il est difficile de comparer nos résultats avec d'autres travaux rapportés dans certains pays à cause de différences d'ordre méthodologique tel que le mode de recueil des données, le nombre de site infectieux investigués, le type de l'hôpital ainsi que la taille de la population étudiée et l'accès limité à certains services comme celui de la réanimation.

Dans le cadre de cette étude, nous nous sommes intéressés plus particulièrement à la recherche des entérobactéries, des staphylocoques et des entérocoques qui sont fréquemment impliqués dans les infections hospitalières.

Une enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales réalisées en France 2012 montre un taux d'isolement des entérobactéries de 54,5%, des staphylocoques 15,9% et un taux de 5,9 % pour les entérocoques (**Thiolet et al., 2013**) Nos résultats sont comparables à cette étude avec des pourcentages de 55,56%, 30,75% et 11,11% respectivement. Une autre étude réalisée par *Nosocomil Healthcare Safety Network* entre 2009-2010 montre des résultats similaires (**Public Health England, 2013**)

Dans notre étude, l'infection urinaire occupe la première place dans l'ensemble des infections acquises à l'hôpital avec un taux de 49,20%. Ces résultats concordent avec ceux rapportés dans d'autres travaux signalant un taux d'infections urinaires important (**Kama et al., 2009**). De point de vue agent causal, nous constatons une prédominance des entérobactéries dans l'appareil urinaire, dont *E.coli* est isolée dans 67,74% des cas. Cette observation est également rapportée par d'autres études en Madagascar et Côte d'IVOIRE (**Randrianirina et al., 2007 ; Acho, 1988**). Les staphylocoques et entérocoques isolés présentent le même taux de 16% chacun. Ce résultat est comparable à celui retrouvé par *European Surveillance Infection System* qui rapporte un taux d'isolement de ces germes dans les infections urinaires de 14%.

L'infection de site opératoire occupe la deuxième place des infections nosocomiales (**Klevesn & Col, 2007**) dont le principal microorganisme en cause est *S. aureus* à 35% des cas selon le comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN). Notre résultat est

similaire de celui-ci avec un taux d'isolement de 51%. Ceci peut être expliqué par le fait que les fractions des barrières cutanées favorisent ce type d'infection. Cependant, des isolats d'enterobacteries sont aussi impliqués dans les infections de site opératoire avec un taux de 40,74%. Ce résultat est similaire aux résultats rapportés dans une étude de Darias sur 10 ans en Colombie et également aux données de (CCLIN, 2008) montrant que ces germes sont en tête de liste au même titre que les staphylocoques. Ceci est fort probablement lié au type de chirurgie notamment abdominale (digestive). Par ailleurs, les infections à entérocoques sont moins fréquentes avec un taux de 7,4%. Ce résultat est proche de celui trouvé dans une étude réalisée par *European Center for Disease Control (ECDC, 2013)*.

Au cours de notre étude, le service de chirurgie est le plus touché par les infections avec 41,94% des cas, suivi de service médecine interne 26,80%. Ceci est peut être expliqué par le nombre important des infections postopératoires. De plus, le service de médecine interne se démarque par l'accueil d'une grande majorité des patients qui consultent pour divers motifs.

Une nette prédominance des infections urinaires a été observée chez le sexe féminin avec un taux de 83,87% cette différence est liée à des raisons anatomiques : brièveté de l'urètre, proximité du méat urétral du vagin et de l'anus avec risque de colonisation de l'urètre par la flore vaginal et anal. En revanche, le sexe masculin est plus concerné par les infections de la plaie opératoire avec 12% des cas cela peut être liée au terrain fragilisé des patients et la complexité des interventions chirurgicales constituent la première cause dans la survenue des infections de sites opératoires (Migaud *et al.*, 2005).

L'âge avancé est l'un des facteurs de risque liés aux patients, cependant un taux de 42,85% des infections a été enregistré chez des patients appartenant à une tranche d'âge allant de 17 à 39 ans, suivi de la catégorie supérieure à 60 ans. Selon la littérature, l'âge constitue un facteur de risque infectieux notamment aux extrémités de la vie à savoir ; avant un an et après 65 ans (Cruse & Foord, 1980) .

Le profil de sensibilité aux antibiotiques des 35 souches d'entérobactéries étudiées, montre des taux élevés de résistance à la plupart des betalactamines, notamment à l'amoxicilline plus acide clavulanique (74,29%). A l'échelle internationale, un taux proche de 61,2% a été rapporté à El Jadida (Maroc). Cependant d'autres études ont rapportés des taux très proches de notre résultat (75%) (Farrell *et al.*, 2003 ; Matute *et al.*, 2004). La résistance

naturelle des entérobactéries à l'amoxiciline par production des pénicillinases a été mise en évidence avec un taux de 97,14% (**Livermore, 1995**) .

A l'inverse, aucune résistance à méropénème n'a été mise en évidence pour les isolats, soit une sensibilité à 100%. Cet antibiotique reste la seule molécule active sur les souches résistantes aux céphalosporines de deuxième et troisième génération. Cela préserve sa place d'antibiotique de premier choix dans le traitement des infections sévères aux entérobactéries multirésistantes.

Il est actuellement prouvé que l'utilisation des antibiotiques, notamment les céphalosporines de troisième génération dans un but thérapeutique est le facteur de risque le plus important dans le développement des résistances bactériennes (**Rubin & Samore, 2002**) . Dans cette étude, le taux moyen de résistance aux céphalosporines de troisième génération est de 51,40 %. Ce résultat va en harmonie avec des taux de résistance de 29 % à 44% rapportés entre 2005- 2012, dans une étude au Cameroun (**Cécile & Martial, 2015**) .

La résistance des entérobactéries aux β -lactamines se traduit par production des enzymes hydrolytiques (**Lee et al., 2012**) ce qui est le cas pour quatre souches(2 *Klebsiella sp* et 2 *E. coli*) qui ont présenté des images de synergies indiquant la présence d'une BLS, et 3 souches(2 *Klebsiella sp* et une *Enterobacter*) ont présenté une récupération de la zone d'inhibition rendant compte de la présence possible d'une céphalosporinase

Au cours de l'étude de la résistance aux autres familles d'antibiotiques, les aminosides ont présenté une faible activité sur l'ensemble des souches avec un taux de résistance de 62,3%. Ce résultat est proche de celui rapporté dans une étude réalisée en Iran indiquant un taux de 68,1% de résistance aux aminosides (**Hashemi et al., 2013**)

Concernant la résistance aux quinolones (ciprofloxacine et acide nalidixique), les souches d'entérobactéries présentent un taux de résistance modéré. Ceci est peut être expliqué par la non prescription de ces molécules dans le traitement des infections. Notre résultat concorde avec ceux trouvés en 2013, par une étude réalisée en Iran (**Hashemi et al., 2013**).

L'analyse globale du profil de résistance des Staphylocoques aux antibiotiques confirme le caractère multirésistant de ces bactéries aux différentes familles d'antibiotiques. Au cours de notre étude le taux de résistance à la rifampicine est de 80%. Ce résultat est

similaire à celui retrouvé dans une étude marocaine (**Frikh et al., 2015**), différent de résultat retrouvé en Tunisie (**Mastouri et al., 2006**).

Le taux de résistance à la famille des macrolides est de 40% pour l'érythromycine et 20% pour la clindamycine. Ces taux sont comparables à celui observé dans une étude tunisienne (**Mastouri et al., 2006**) mais, reste moins important que celui constaté aux USA (**Pillar et al., 2008**).

Les souches de staphylocoques expriment des taux de résistance de 35% et 30% à la gentamycine et tobramycine respectivement. Une étude algérienne montre des résultats similaires (**Antri et al., 2010**). Cependant, les taux de résistance rapportés en France en 2005 sont moins importants (**Bertrand et al., 2005**).

Le taux de résistance aux fluoroquinolones est de 20%. Ce résultat est comparable à celui retrouvé par une étude marocaine (**Frikh et al., 2015**) et à une étude algérienne (**Aouati et al., 2010**). Cependant, une autre étude algérienne rapporte un taux de résistance différent avec un taux de résistance de 5% (**Boukkhatem et al., 2015**).

Les SARM posent un sérieux problème dans les infections et causent des échecs thérapeutiques. Dans cette présente étude, le taux d'isolement de SARM est de 55%. Nos résultats concordent à ceux rapportés dans certains pays de l'Europe qui ont enregistré des taux de 44% (Grèce et Grande Bretagne) et de 53% (USA) (**ONERBA, 2005**). Cependant, d'autres pays tels que la Belgique et l'Allemagne ont rapportés des taux faibles de 13% et 5% respectivement (**CCLIN, 1998**).

Les résultats de l'antibiogramme ont montré que 30% des staphylocoques sont résistants à la vancomycine. Cependant, la détermination de la concentration minimale inhibitrice pour les isolats concernés a révélé des CMI très faibles de 0,125 µg/ml ce qui les classe dans la catégorie « sensibles ». L'absence de la résistance à la vancomycine ne doit pas exclure les mesures préventives du fait que ces souches résistantes ont été décrites dans d'autres pays (**Hiramatsu et al., 1997**).

Les souches d'entérocoques présentent un taux de résistance de 100% pour l'ensemble des antibiotiques suivants : gentamycine de bas niveau, rifampicine, triméthoprime-sulfaméthoprime, cefoxitine, clindamycine, tobramycine, fosfomycine, lincomycine, acide nalidixique de fait de leur résistance naturelle et des caractères multirésistants des entérocoques.

Un taux de résistance élevé à l'érythromycine (75%) a été enregistré pour l'ensemble des souches. Ce résultat est proche de celui rapporté en Egypte 78% (**Iman et al., 2016**). Cependant, une autre étude réalisée en Japon a rapporté un taux de résistance inférieur à 44,90% (**Kudo et al., 2014**).

Le taux de résistance à la tétracycline est de 62,5%, ce résultat va dans le même sens avec celui rapporté en Japon (**Kudo et al., 2014**) et en Egypte (**Hashem et al., 2015**) avec des taux de 64,9% et 68% respectivement. Cependant, une autre étude algérienne a présenté un taux élevé de résistance 92,5% (**Djahmi et al., 2012**).

Le traitement de choix des infections à entérocoques repose sur une association d'un inhibiteur de la synthèse de la paroi (Glycopeptides ou β -lactames) et un aminoside de haut niveau (ex : Gentamycine). Dans notre cas, la résistance à l'imipénème (inhibiteur de la synthèse de la paroi) est de 50% ce qui limite son utilisation dans le traitement. Par ailleurs, la résistance à l'acide fusidique concerne 37,5% des cas. Cette résistance peut être liée à la mutation de gène fus A qui code pour un facteur d'élongation (**Rabaub & May, 2000**).

Dans notre étude le taux de résistance à la nitrofurantoïne est de 12,5%. Ce résultat est supérieur à celui retrouvé en Algérie en 2012 qui note un taux nul (0%) (**Djahmi et al., 2012**). A l'inverse, un taux de 93% de résistance à la nitrofurantoïne est rapporté par une autre étude en Inde (**Wavare et al., 2015**).

Le pourcentage de résistance à la ciprofloxacine obtenu dans cette étude est de 50%. Ce résultat est proche de celui rapporté en Italie 62,2% (**Boccia et al., 2002**), mais reste important par rapport à une étude japonaise qui présente un pourcentage de 15% (**Kudo et al., 2014**).

Concernant la résistance à la vancomycine, aucune souche n'a développée une résistance. Ceci est plutôt rassurant. En effet, cet antibiotique maintient sa place comme antibiotique de choix de dernier recours pour une utilisation strictement hospitalière dans le traitement des infections sévères dues aux coques à Gram positif.

Conclusion et Perspectives

Au terme de cette étude, réalisée au niveau de l'hôpital de Sidi Aich qui avait pour but de compléter les connaissances théoriques sur les agents pathogènes impliqués dans l'hospitalisme infectieux, 120 prélèvements de différentes origines biologiques ont été recueillis et un total de 63 souches bactériennes en été mises en évidence.

La première investigation a révélé la prédominance des Gram négatifs (35 isolats) par rapport au Gram positifs (28 isolats).

L'identification des souches d'entérobactéries a montré une prédominance d'*E. coli* (44%), suivi *Citrobacter* (18%), *Klebsiella sp* (17%), *Enterobacter sp* (9%), *Serratia sp* (6%), *Providencia sp* (3%) et *Proteus sp* (3%)

La recherche des staphylocoques et entérocoques a permis l'isolement de 20 *Staphylococcus aureus* et 8 *Enterococcus faecalis*.

L'étude de l'antibiorésistance des entérobactéries nous a permis d'enregistrer un taux moyen de résistance de 59,02% à la famille des β -lactamines. Cependant aucune résistance n'a été détectée vis-à-vis de l'imipénème ce qui maintient l'efficacité de cet antibiotique dans le traitement des infections dues à ces bactéries

A noter, que 4 souches présentaient une image de synergie révélant la présence d'une betalactamase a spectre étendu (BLSE) et 3 souches présentaient une récupération de la zone d'inhibition rendant compte de la présence possible d'une céphalosporinase.

Le résultat de l'antibiogramme des souches de *Staphylococcus aureus*, nous a permis de détecter 11 souches de SARM, alors que l'étude de profile de résistance des entérocoques, nous a permis d'enregistrer des taux élevés de résistance vis-à-vis l'érythromycine (75%) et la tétracycline (62,5%).

Actuellement, l'émergence des bactéries multirésistantes en milieu hospitalier présente une menace qui met en cause la validité de l'arsenal «antibiotiques». Il est donc temps de contrôler et surveiller l'évolution de cette résistance dans le temps et l'espace afin d'évite

l'impasse thérapeutiques et de minimiser les risques de sélection aux antibiotiques « *Une meilleur antibiothérapie implique une meilleur maitrise des risques d'antibiorésistance*»

Ce travail ouvre de nombreuses perspectives, il serait intéressant :

- Des tests de recherche spécifique de BLSE et AmpC doivent être mis en place dans nos laboratoires afin de mettre en évidence les différents phénotypes de résistance.
- Mise en place de protocole de dépistage des SARM afin de prévenir les infections
- Mettre en place un protocole de recherche des entérocoques dans les laboratoires cliniques algériens afin de prévenir toute émergence des VRE.
- Etudier un échantillon plus grand pour rendre l'étude plus fiable et plus significative.
- Identification moléculaire des souches isolées et caractériser les déterminants des résistances.
- Détermination des mécanismes moléculaires directement impliqués dans le développement de la résistance à un antibiotique donné.

Références bibliographiques

- Acho, Y. A. (1988).** Infections nosocomiales au CHU de Cocody: le problème d'*Enterobacter cloacae*. *Th Med* **920**, 132.
- Aggoune, N., Chabani, A., Tiout, D., Naim, M. & Rahal, K. (2008).** Premier cas d'*Enterococcus Faecalis* résistant à la vancomycine en Algérie. *Médecine Mal Infect* **38**, 557–558.
- Antri, k., Rouzic, N., Boukeri, I., Beloufa, A. & Ziane, H. (2010).** High prevalence of community and hospital acquired infections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine leukocidin gene in Algiers. *58:e15-e20*.
- Aouati, H., Arafal, N., Benlabed, k., Boulahrouf, A. & Bousseboua, H. (2010).** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthiciline au centre hospitalo-universitaire ben Badis de Constantine Algérie. *Rev Tunis D'Infectiologie* **4**, 129–133.
- Arthur, M., Reynolds, P. & Courvalin, P. (1996).** Glycopeptide resistance in *enterococci*. *Trends Microbiol* **4**:401-7.
- Astageau, P. & lepoutre, A. (2002).** La mortalité attribuable aux infections hospitalières. *adsp* **38**.
- Avril, J. L., Dabernat, H., Denis, F. & Montiel, H. (2000).** *Bactériologie clinique*, Ellipses. Paris.
- Barber, M. (1961).** Méthiciline-resistant staphylococci. *J Clin Pathol* **14**, 385–393.
- Berche, P., Gailiard, P. J. . & Simmonet, M. (1991).** *Bactériologie médical*, Medecine-Science Flammarion. Paris.
- Bertrand, X., Costa, Y. & Pina, P. (2005).** Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies: données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotique. *Med Mal Inf* **35**, 329–34.

- Bismuth, H. (2006).** Aminositides et bacteries a Gram-positif. In: Courvalin P, Leclercq R, Bingen E (Eds), AntibioGramme. *ESKA* 205–25.
- Boccia, A., Pantosti, A., Ancona, F., Giannitelli, S., Monaco, M. & Salmaso, S. (2002).** La résistance antimicrobienne en Italie : résultats préliminaires du projet AR-ISS. *EUROSURVEILLANCE* 7, 86–102.
- Boukkhatem, M., Ferhat, M., Hadji, M. & Lalaoui, N. (2015).** Prevalence and antibiotic resistance of staphylococci isolated from kolea hospital. *J Fundam Appl Sci* 261–270.
- Bourdjah, A. & Addouane, M. (2016).** Isolement et caractérisation des souches d'enterocoques multirésistantes au niveau de l'hôpital d'Amizour.
- Cartier, F., Beaucaire, G., Perrone, C. & Vilde, J. L. (1996).** APPIT(Association des professeurs de pathologie infectieux et tropicale destinée au formateur de santé sur le thème nosocomiale et leur prévention. *NOSOCO-ROM-Base Multiméd Doc Pédagogique*.
- Cavallo, J. D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C. & Garrabé, E. (2004).** Bétalactamines. *Mal Infect* 1, 129–202.
- CCLIN. (1998).** Centre de coordination de lutte contre les infections nosocomiales del'interrégion Paris-Nord, CLIN central et inter CLIN gériatrique de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris. Maîtrise de la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. *Fiches Recomm.*
- Cécile, O. B. & Martial, D. . (2015).** Evolution of antibiotic resistance of Enterobacteriaceae isolated at the Douala General Hospital from 2005-2012. *Pan Afr Med J* 1–6.
- Cetinkaya, Y., Falk, P. & Mayall, C. (2000).** Vancomycin resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 13, 686–707.
- Cruse, P. J. E. & Foord, R. (1980).** The epidemiology of wound infection. A10 year prospective study of 62939 wound. *SurgclinNorth Amer* 60, 27–40.

- Davies, J. (1997).** Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants 2007, 15–27.
- Desai, P., Pandit, D., Mathur, M. & Gogate, A. (2001).** Prevalence, identification and distribution of various species of *enterococci* isolated from clinical specimens with special reference to urinary tract infection in catheterised patients. *Indian J Med Microbiol* **19**, 132–7.
- Dietrich, E. S., Dennuler, M., Shulgen, K. & Fekec, O. (1999).** Nosocomial pneumonia: a cost-of-illness analysis. *Clin Infect Dis* **29**, 44–239.
- Djahmi, N., Boutet-Dubois, A., Nadjai, S., Dekhil, M., Sotto, A. & Lavigne, J. (2012).** Molecular epidemiology of *Enterococcus sp.* isolated in a university hospital in Algeria. *Scand J Infect Dis* **44**, 656–662.
- Dortet, I., Legrand, P., Claude-James, S. & Cattoir, V. (2006).** Bacterial identification, clinical significance, and antimicrobial susceptibilities of *Acinetobacter ursingii* and *Acinetobacter schindleri*, two misidentified opportunistic pathogens. *J Clin Microbiol* **44**, 4471–4478.
- Drieux, L., Brossier, F., Sougakoff, W. & Jarlier, V. (2008).** Phenotypic detection of extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis* **14 Suppl 1**, 90–103.
- ECDC. (2013).** Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals 2011-2012. [Http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/publications/healthcare-Assoc-Antimicrob-Use-Ppspdf](http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/publications/healthcare-Assoc-Antimicrob-Use-Ppspdf).
- Facklam, R. (1972).** Recognition of group D streptococcal species of human origin by biochemical and physiological tests. *Appl Microbiol* **23**, 1131–9.

- Farrell, D., Morissey, I. & De Rubeis, D. (2003).** AUK multicentre study and the antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens causing urinary tract infection. *J Infect* **46**, 94–100.
- Fernandes, C., Fernandes, I. & Petre, C. (n.d.).** Cefoxitin resistance as surrogate marker for the detection of methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.*
- Flahaut, S., Boutibonnes, P. & Auffray, Y. (1997).** Enterococci in human environment. *Can J Microbiol* **43**, 699–708.
- Fontana, R., Grossata, A. & Rossi, L. (1995).** Transition from resistance to hypersusceptibility to β -lactam antibiotics associated with loss of a lower-affinity penicillin-binding protein in a *Streptococcus faecium* mutant highly resistant to penicillin. *Antimicrob. Agents Chemother* **28**, 678–683.
- Forestier, E., Remy, V., Mohseni-Zadeh, M., Lesens, O. & Jauhlac, B. (2007).** : Bactériémie à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : aspects épidémiologiques et thérapeutiques récents. *Rev Médecine Interne* **28**, 746–755.
- Francioli, P., Nahimana, I. & Widmer, A. (1996).** Infection du site chirurgical. *SUISS-NOSO* **3**.
- Frikh, A., Lemouer, A., Belfquih, B., Kiplagat, V., Maleb, A. & Elouennass, M. (2015).** profils de sensibilité des isolats de *Staphylococcus aureus* étude rétrospective sur huit ans dans un hôpital d'instruction. *J Maroc Sci Médicales.*
- Gniadkowski, M. (2008).** Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect* **14**, 11–32.
- Grall, N., Andremont, A. & Armand, L. L. (2011).** Résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse? *J Anti -Infect.*

- Haley, R., Culver, D., Wente, J. & Morgan, M. (1985).** The nationwide nosocomial infection rate. A new need for vital statistics. *Am J Epidemiol* **121**, 159–167.
- Hashem, Y., Yassin, A. & Amin, M. (2015).** Molecular characterization of *Enterococcus* spp. clinical isolates from Cairo. *Indian J Med Microbiol* **33 Supplement 1**, 80–86.
- Hashemi, S., Esna-Ashari, F., Tavakoli, S. & Mamani, M. (2013).** The prevalence of antibiotic resistance of enterobacteriaceae strains isolated in community and hospital acquired infection in teaching hospital Hamadan, west of Iran. *J Res Health Sci* **13**, 75–80.
- Hiramatsu, K., Hanaki, H., Ino, T., Yabuta, K., Oguri, T. & Tenover, F. (1997).** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* **40**, 135–136.
- Horaud, T. & Bouguenec, C. (1999).** Streptococcaceae. In: Le Minor L., V6ron M. "Bact6riologie m6dicale. Paris Flammarion **1**, 795–834.
- Iman, F., El-Ghazawy, M., Okasha, H. A. S. & Sarah, M. (2016).** A study of high level aminoglycoside resistant *enterococci*. *Afr J Microbiol Res* **10**, 572–577.
- Jevon, M. (1961).** Celbenin'-resistant *staphylococci* **1**, 24–25.
- Kama, U., Fereirra, A., Amonkar, D., Motghare, D. & Kulkarni, M. (2009).** Epidemiology of hospital acquired urinary tract infections in a medical college hospital in Goa. *Indian J Urol* **25**, 76–80.
- Kaye, D. (1995).** Dipsticks for diagnosis of urinary infection care in the nursing home. *JAMA* 286–274.
- Kesch, C., Ben Rejeb, S., Odugbeni, T. O. & Boye, C. S. (2003).** Prévalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in light African Hospital and Malta. *Clin Microbiol Infect* **9**, 153–156.

- Khoufache, S. (2001).** Antibiorésistance aux betalactamines des souches d'enterobactéries isolées des infections nosocomiales : Cas de l'Hopital d'AMIZOUR.
- Klevesn, M. & Col. (2007).** Estimating Health Care-Associated Infections and Deaths in U.S. Hospitals, 2002. *Public Health Rep* **122**.
- Kliebe, C., Nies, B. A. & Meyer, J. F. (1985).** Evolution of plasmid -coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *AntimicrobAgents Chemother* **28**, 302–307.
- Kudo, M., Nomura, T., Yomoda, S., Tanimoto, k. & Tomita, H. (2014).** Nosocomial infection caused by vancomycin-susceptible multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* over a long period in a university hospital in Japan. *Microbiol Immunol* **58**, 607–614.
- Laadjouzi, R. (2013).** Analyse des mécanismes de tolérances au antibiotiques ciblant la paroi chez les enterocoques.Caen.
- Le Minore, L. & Veron, M. (1989).** Bactériologie Médical. *Flammarion* 1107.
- Lee, G., Bae, I. & Lee, S. (2012).** New definitions of extended-spectrum B-lactamase conferring worldwide emerging antibiotic resistance. *Med Res Rev* **32**, 32–216.
- lee, K., Young, D., Choi, Y. S. & Yum, J. H. (2007).** Reduced imipenem susceptibility in *Klebsielle pneumoniae* cilinal isolates with plasmid-mediated CMY-2 and DHA-1 beta-lactamases co-mediated by porin loss . *IntJ Antimicrob Agents* **29**, 201–206.
- Lina, G., Piemont, Y. & Godail-Gamot, F. (1999).** Involvement of Panton-Valentine leukocidin- producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis* **29**, 1128–1132.
- Livermore, D. (1995).** beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microb Rev* **8**, 557–584.
- Lowy, F. D. (1998).** *Staphylococcus aureus* Infections. *N Engl J Med* **339**, 520–532.
- Madjmaa, O. & Boulmaize, H. (2015).** Isolement et caractérisation des souches d'entérocoques multirésistantes en clinique en niveau de CHU Khelil Amrane.

- Mainardi, J., Goldstein, F. & Gutmann, L. (1996).** Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. *EncyclMéd Chir ElsevierParis* 8.
- Mastouri, M., Nour, M., Ben Najma, M., Bouallegue, O., Hmmani, M. & Khedher, M. (2006).** Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline: détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. *Path Biol* **54**, 33–36.
- Matsumoto, Y., Ikeda, F., Kamimura, T. & Yokota, Y. (1998).** Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporines. *Antimicrob Agents Chemother* **32**, 6–1243.
- Matute, A., Hak & Schurink, C. (2004).** Resistance of uropathogenes in symptomatic urinary tract infection in Leon, Nicaragua. *Int J Antimicrob Agents* **23**, 9–506.
- McCormick, J., Yarwood, J. & Schlievert, R. (2001).** Toxic shock syndrome and bacterial superantigens: an update. *Annu Rev Microbiol* **55**, 77–104.
- McDougal, L. & Thornsberry, C. (1986).** The role of beta-lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. *J Clin Microbiol* **23**, 832–839.
- Migaud, H., Senneville, E., Gougeon, F., Marchetti, E., Amzallag, M. & Laffargue, P. (2005).** Risque infectieux en chirurgie orthopédique. *Risk Infect Orthop Surg EMC-Rhumatol Orthopédie* **2**, 151–172.
- Murry, B. E. (1990).** The life and times of the *enterococcus*. *Clin Microb Rev* **3**, 46–65.
- Naas, T. (2003).** Phénotype de résistance aux antibiotiques de la souche *Acinetobacter baumannii* productrice de la β -lactamase VEB-1. Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène (P. Nordmann), CHU de Bicêtre. *J OfClinical Microbiol* **41**, 3542–7.
- Nicolas, M. H. & Espinasse, F. (1993).** . Evolution de la flore responsable des infections nosocomiales. *Journ L'hôpital Cl B E R N R D*.

- Noble, W., Virani, Z. & Cree, R. (1992).** Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* **72**, 195–198.
- Nordmann, P., Cuzon, G. & Naas, T. (2009).** The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis* **9**, 236–288.
- OMS. (2016).** OMS | Résistance aux antimicrobiens. *WHO*.
- ONERBA. (2005).** Données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne. Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Med Mal Infect* **35**, 69–155.
- Palavecino, E. (2004).** Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Clin Lab Med* **24**, 403–418.
- Paterson, D. L. & Bonomo, R. A. (2005).** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* **18**, 657–686.
- Phillipon, A. (2000).** Les bactéries à Gram négative: incidence, épidémiologie et résistances aux antibiotiques. *Pyrexie* **21**, 16–19.
- Pillar, C., Draghi, D., Sheehan, D. & Sahm, D. (2008).** Prevalence of multi drug resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States: findings of the stratified analysis of the 2004 to 2005 LEADER Surveillance Programs. *Diagn Microbiol Infect Dis* **60**, 221–24.
- Pitout, J. (2012).** Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther* **10**, 76–1165.
- Pittet, D. & Ruef, C. (1998).** *Bactéries nosocomiales*, SWISS_NOSO.
- Poirel, L., Potron, A. & Nordmann, P. (2012).** b OXA-48-like carbapenemases: The phantom menace. *J Antimicrob Chemother* **67**, 1597–1606.

- Projan, S. & Novick, R. (1997).** The molecular basis of pathogenicity. In: Crossley KB, Archer GL, eds. *The staphylococci in human diseases. N Y Churchill Livingstone* 55–87.
- Public Health England. (n.d.).** Surveillance of Surgical Site Infections in NHS Hospitals in England 2012/13. *Httpwwwhpaorguk 2013*.
- Rabaub, C. & May, T. (2000).** Acide fusidique. *Encycl Méd ChirMaladies Infect _8-004-J-20*, 3.
- Raisin. (2012).** Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012. Résultats. *St-Maurice Inst Veille Sanit*.
- Randrianirina, F., Soares, J.-L., Carod, J.-F., Ratsima, E., Thonnier, V., Combe, P., Grosjean, P. & Talarmin, A. (2007).** Antimicrobial resistance among uropathogens that cause community-acquired urinary tract infections in Antananarivo, Madagascar. *JAC* **59**, 309–312.
- Robin, F., Giobold, L. & Bonnet, R. (2012).** Résistances naturelles et acquises aux b-lactamines chez les entérobactéries:Comment les identifier en pratique quotidienne. *Rev Francoph Lab* **445**, 47–58.
- Rubin, M. A. & Samore, M. H. (2002).** Antimicrobial use and resistance. *Curr Infect Rep* **4**, 491–497.
- Semmar, A. (2016).** Saléte et vétusté de matériel/15% des patients Algériens tombent malades à l'hôpital.
- Sonal, S., krishana, P. & Malik, V. (2003).** Vancomycin resistance *Enterococcus* in nosocomial urinary tract infections. *Indian J Pathol Microbiol* **46**, 256–8.
- Tankovic, J., Aubry-Damon, H. & Leclercq, R. (1997).** Résistance aux antibiotiques autres que les bétalactamines chez *Staphylococcus aureus*. *Méd Mal Infect* **27**, 16–207.

- Thiolet, J., Vaux, S., Lamy, M., Barret, A. & Léon, L. (2013).** Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012. *Résultats St-Maurice Inst Veille Sanit.*
- Touati, A. (2000).** Etude des phénotypes de résistance aux betalactamines des souches d'entérobactéries isolées au milieu hospitalier : Cas de l'hôpital d'Amizour (W.Béjaia).
- Tzelepi, E., Giakkoupi, P., Solianno, D., Loukona, V., Kemeroglou, A. & Tsakris, A. (2000).** Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *J Clin Microbiol* **38**, 542–546.
- Ubukata, k., Yasmashita, N. & Konno, M. (1985).** Occurrence of a beta-lactam-inducible penicillin-binding protein in methicillin resistant *staphylococci*. *Antimicrob Agents Chemother* **27**, 851–857.
- VandenBergh, M., Yzerman, E. & Belkum, A. (1999).** Follow-up of *Staphylococcus aureus* nasal carriage after 8 years: redefining the persistent carrier state. *J Clin Microbiol* **37**, 31333–3140.
- Verhaegen, J. (2017).** Bactériologie prof. Dr Jan Verhaegen les Entéobactéries.
- Veyssier, P., Domart, Y. & Liebbe, A. N. (1998).** *Infection nosocomiales*, Masson. Paris.
- Vora, S. & Auckenthaler, R. (2009).** Que signifie 'betalactamases à spectre élargie' en pratique ? *Med Suisse* **5**, 1991–1994.
- Walsh, T., Toleman, M., Poirel, L. & Nordman, P. (2005).** Metallo-B-lactamases: The quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* **18**, 25–306.
- Wavare, S., Ghorpade, M., Gajul, S. & Sajjan, A. (2015).** a study of vancomycin resistant enterococci isolated from urinary tract infections. *Int J Pharm Pharm Sci* **7**, 337–339.

Willems, R. J. & Bonten, M. J. (2007). Glycopeptides-resistant *enterococci*: deciphering virulence, resistance and epidemic city, *Curr. Opin. Infect Dis* **20**, 364–390.

Young, D., Toleman, M. A., Giske, C. G. & Cho, H. S. (2009). Caractérisation of new metallo beta-lactamases gene, bla (NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* **53**, 5046–5054.

***Bergey's Manual of Systematic Bacteriology - Volume 3: The* / Paul Vos / Springer. (2009).**

Annexes

ANNEXE I : Fiche signalétique utilisée pour la collecte des données épidémiologiques.

Fiche signalétique du patient

N° d'ordre :

Nom :

prénom:

Age :

Sexe : F M

Service :

Date d'hospitalisation :

Type de prélèvement :

Date de prélèvement :

Examen demandé :

Diagnostic clinique :

Antécédents :

Résultats :

ANNEXE II : Composition des milieux de culture (pour 1l d'eau distillée, en g/L)

(Guiraud, 2003)

Bouillon nutritif :

Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Extrait de viande	5g
PH : 7.2	

Gélose Mac Conkey :

Peptone de caséine	17g
Peptone de viande.....	03g
Sels biliaires.....	1.5g
Cristal violet	0,001g
Lactose.....	10g
Rouge neutre.....	0,03g
Chlorure de sodium.....	05g
Agar	13g
ZnSO4.....	0,07g
Ph: 7, 1	

Gélose Chapman

Extrait de viande.....	1g
Chlorure de sodium.....	75g
Peptone.....	10g
Gélose.....	15g
Mannitol.....	10g
Rouge de phénol	0,025g
Ph=7,4	

Gélose DNA

Casein peptone.....	15g
Soy peptone.....	5g
Sodium chloride.....	5g
Dexoyribonucleic acid.....	2g
Bacteriological agar.....	15g

Ph=7,3

Milieu Bile Esculine Azide de sodium

Tryptophane	17g
Peptone pepsique de viande.....	3g
Extrait autolytique de levure.....	5g
Bile de bœuf bacteriologique	10g
Chlorure de sodium.....	5g
Esculine.....	1g
Citrate ferrique ammoniacal.....	0,5g
Azide de sodium.....	0,15g
Agar bacteriologique	13g

Ph=7,2

Gélose Mueller Hinton :

Infusion de viande de boeuf	3g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Agar	17g

PH : 7,4

Gélose TSI (Tree Sugar and Ion):

Extrait de viande de boeuf	3g
Extrait de levure	3g
Peptone tryptique	20g
Chlorure de sodium	5g
Citrate ferrique	0,3g
Thiosulfate de sodium	0,3g
Lactose	10g
Glucose	1g
Saccharose	10g
Rouge de phénol	0,05g
Agar	12g

PH : 7.4

Mannitol- Mobilité :

Peptone	20g
---------------	-----

Nitrate de potassium	1g
Mannitol	2g
Rouge de phénol	0,04g
PH : 8,1	

Milieu de Citrate de Simmons :

Citrate de sodium	2g
Chlorure de sodium	5g
Sulfate de magnésium	0,2g
Phosphate monoammoniaque	1g
Phosphate bipotassique	1g
Bleu de bromothymol	0,08g
Agar	15g
PH : 7.0- 7.2	

Bouillon nitraté :

Bouillon nutritif	1L
Nitrate de potassium	1g

Eau peptoné :

Peptone exempte d'indole	15g
Chlorure de sodium	5g
PH : 7,2	

Gélose nutritive :

Extrait de viande	5g
Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Agar	20g
PH: 7	

Composition des réactifs utilisés**Réactif de Griess (NRI et NRII) :****NRI :**

Acide sulfanilique	0, 8ml
Acide acétique 5N	100ml

NRII :

Diméthylamine	0, 6ml
---------------------	--------

Acide acétique 5N 100ml

Réactif de Kovacs :

p-diméthylaminebenzaldéhyde 10ml

Acide chloridrique50ml

Alcool amylique150ml

Bouillon trypticase soja

Peptone trypsique de caseine17g

Peptone painique de soja.....3g

Chlorure de sodium5g

Phosphate bipotassique.....2g

Glucose.....2g

Ph=7,3

Bouillon cœur-cerveau(BHIB)

Infusion de cervelle de veau.....200g

Infusion de coeu de beuf.....50g

Peptone de gelatine.....10g

Chlorure de sodium.....5g

Phosphate disodique.....2,5g

Glucose.....2g

Ph=7,4

Bouillon hypersalé 6,5% NaCl

Peptone17g

NaCl.....65g

PH=7,1

Bouillon M17

Tryptone	2.50g
Peptone pepsique de viande.....	2.50g
Peptone papainique de soja.....	5g
Extrait autolytique de levure.....	2.50g
Extrait de viande.....	5g
Lactose.....	5g
Clycérophosphate de sodium.....	19g
Sulfate de magnésium.....	0.25g
Acide ascorbique.....	0.50g

ANNEX III : Les antibiotiques testés sur les entérobactéries

La marque : Sypress						
Antibiotique	Abréviation	Famille	charge	Diamètres critiques		EUCAST
				R	S	
Amoxiciline +acide clavulanique	AMC	Pénicillines	30	21	25	2017
Aztreonam	ATM	Monobactames	30	21	25	2017
Ceftazidime	CAZ	Céphalosporines	30	21	26	2013
Cefotaxime	CTX	Céphalosporines	30	23	26	2013
Amoxiciline	AMO	Pénicillines	25	19	19	2017
Cefoxitine	FOX	céphalosporines	30	15	19	2017
Méropénème	MEM	Carbapénèmes	10	16	22	2017

Gentamycine	GET	Aminosides	10	14	17	2017
Acide nalidixique	ANL	Fluoroquinolones	10	14	19	2017
Fosfomycine	FOF	Fosfomycine	200	19	19	2017
Ciprofloxacine	CIP	Fluoroquinolones	5	24	26	2017
Tobramycine	TOB	Aminosides	10	14	17	2017

ANNEXE IV : Les antibiotiques testés sur les staphylocoques

Antibiotique	Abréviation	Famille	Charge	Diamètres critiques		EUSAST
				R	S	
Erythromycine	ERY	MLS	15	18	21	2017
Clindamycine	CLD	MLS	2	19	22	2017
Ciprofloxacine	CIP	Fluoroquinolones	5	21	21	2017
Cefoxitine	FOX	Céphalosporines				2017
Gentamycine	GET	Aminosides	10	18	18	2017
Rifampicine	RAF	Orpheline	5	23	26	2017
Vancomycine	VAN	Glycopeptides	30	>17		2003
Tétracycline	TET	Tétracyclines	30	21	23	2017
Tobramycine	TOB	Aminosides	10	18	18	2017
Acide fusidique	ACF	Orphelin	10	24	24	2017
Triméthoprim-Sulfaméthoprime	SXT	Orphelin	1 .25/2 5	14	17	2017

ANNEXE V : antibiotique test sur les entérocoques

Antibiotique	abréviations	Famille	charge	Diamètres critiques		EUCAST
				R	S	
Gentamycine	GNT	Aminosides	10	/	/	/
Rifampicine	RAF	Orphelin	5	17	20	2017
Triméthoprime-Sulfaméthoprime	SXT	Orphelin	25	21	50	2017
Érythromycine	ERY	MLS	15	14	23	2017
Tétracycline	TET	Tétracyclines	30	17	19	2013
Vancomycine	VAN	Glycopeptides	30	>17	/	2013
Cefoxitine	FOX	Céphalosporines	30	/	/	/
Clindamycine	CLD	MLS	2	15	15	2013
Tobramycine	TOB	Aminosides	10	/	/	/
Ciprofloxacine	CIP	Fluoroquinolones	5	15	15	2016
Acide fusidique	ACF	Orphelin	10	/	/	/
Fosfomycine	FOF	Orphelin	200	13	16	2017
Acide nalidixique	ANL	Fluoroquinolones	10	/	/	/
Lincomycine	LIN	MLS	2	17	21	/
Nitrofurantoïne	NTR	Orphelin	300	15	15	2016
Impénème	IMP	Carbapénèmes	10	18	21	2017

ANNEXE VI : Tableau d'identification des entérobactéries

	<i>E .coli</i>	<i>Klebsiella</i> <i>sp</i>	<i>Citrobacter</i> <i>sp</i>	<i>Enterobacter</i> <i>sp</i>	<i>Serratia</i> <i>sp</i>	<i>Providencia</i> <i>sp</i>	<i>Proteus</i>
Glucose	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+
H2S	-	-	-	-	-	-	+/-
Gaz	+	+	+	+	+	+	+

Oxydase	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate réductase	+	+	+	+	+	+	+
Citrate de semonce	-	+	-	-	-	-	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+
Mobilité	+	+	+/-	+	+	+	++
Indole à 37C°	+	-	+	-	+	+	+
Indole à 44C°	+	-	-	-	-	-	-

ANNEXE VII : Origine des souches d'entérobactérie

Code	Date d'entrée	Type des prélèvements	Age	Sexe	Service	Date des prélèvements
SA1	20/01/2017	Pus	21	H	Chirurgie	05/02/2017
SA5	02/02/2017	Urine	30	F	Médecine interne	06/02/2017
SA19	20/01/2017	Prélèvements de gorge	82	F	Médecine interne	12/02/2017
SA25	30/01/2017	Prélèvements de gorge	53	F	Médecine interne	14/02/2017
SA26	12/02/2017	Prélèvements de gorge	67	F	Médecine interne	14/02/2017
SA28	07/02/2017	Pus	35	F	Chirurgie	14/02/2017
SA29	25/01/2017	Pus	85	H	Chirurgie	14/02/2017
SA41	09/02/2017	Pus	40	H	Chirurgie	15/02/2017
SA47	15/02/2017	Pus	44	H	Chirurgie	19/02/2017
SA49	16/02/2017	Urine	4	F	Pédiatrie	19/02/2017
SA55	19/02/2017	Perte vaginale	25	F	Maternité	22/02/2017
SA58	23-févr	pus	7	H	Pédiatrie	26/02/2017

SA60	24/02/2017	Perte vaginale	37	F	Maternité	26/02/2017
SA64	21/02/2017	Urine	65	F	Médecine interne	27/02/2017
SA68	22/02/2017	Pus	78	F	Chirurgie	27/02/2017
SA70	28/02/2017	Pus	35	F	Chirurgie	05/03/2017
SA71	01/03/2017	Perte vaginale	29	F	Maternité	05/03/2017
SA73	01/03/2017	Perte vaginale	33	F	Maternité	05/03/2017
SA74	02/03/2017	Perte vaginale	26	F	Maternité	05/03/2017
SA75	01/03/2017	Urine	10	F	Pédiatrie	05/03/2017
SA78	28/02/2017	Urine	87	H	Médecine interne	05/03/2017
SA84	01/03/2017	Perte vaginale	38	F	maternité	06/03/2017
SA85	02/03/2017	Perte vaginale	34	F	Maternité	06/03/2017
SA89	04/03/2017	Urine	26	F	Médecine interne	06/03/2017
SA90	02/03/2017	Urine	29	F	Maternité	06/03/2017
SA91	04/03/2017	Urine	37	F	Maternité	06/03/2017
SA97	06/03/2017	Urine	31	H	Médecine interne	08/03/2017
SA98	06/03/2017	Urine	32	F	Médecine interne	08/03/2017
SA105	11/02/2017	Urine	31	F	Maternité	16/03/2017
SA108	13/03/2017	Pus	64	F	chirurgie	20/03/2017
SA111	14/03/2017	Pus	73	H	Chirurgie	21/03/2017
SA114	13/03/2017	Urine	84	F	Médecine interne	22/03/2017
SA116	19/03/2017	Prélèvements de gorge	86	H	Médecine interne	22/03/2017
SA118	17/03/2017	Urine	95	H	Médecine interne	25/03/2017
SA120	14/03/2017	Pus	77	F	Chirurgie	25/03/2017

ANNEXE XIII : Origine des souches de staphylocoque

Code	Date d'entrée	Age	Sexe	Service	Type des prélèvements	Date des prélèvements
SA03S	24/01/2017	50	F	Chirurgie	Pus	05/02/2017
SA18S	07/02/2017	37	H	Chirurgie	Pus	09/02/2017
SA29S	25/02/2017	85	H	Chirurgie	Pus	14/02/2017
SA32S	09/02/2017	47	H	Chirurgie	Pus	14/02/2017
SA47S	15/02/2017	44	H	Chirurgie	Pus	19/02/2017
SA54S	29/01/2017	56	H	Chirurgie	Pus	22/02/2017
SA55S	19/02/2017	25	F	Maternité	Perte vaginale	22/02/2017
SA58S	23/0/2017	7ans	H	Pédiatrie	Pus	25/02/2017
SA62S	23/02/2017	27	F	Maternité	Perte vaginale	26/02/2017
SA63S	22/02/2017	37	F	Maternité	Perte vaginale	26/02/2017
SA65S	16/02/2017	22	H	Chirurgie	Pus	27/02/2017
SA68S	22/03/2017	78	F	Chirurgie	Pus	27/02/2017
SA69S	15/02/2017	58	F	Chirurgie	Pus	27/02/2017
SA70S	28/02/2017	35	F	Chirurgie	Pus	05/03/2017
SA72S	02/03/2017	39	F	maternité	Perte vaginale	05/03/2017
SA92S	06/03/2017	33	F	Maternité	Perte vaginale	09/03/2017
SA93S	01/03/2017	56	F	Chirurgie	Pus	12/03/2017
SA110S						
SA113	14/03/2017	77	H	Chirurgie	Pus	21/03/2017
SA119	12/03/2017	45	H	Chirurgie	Pus	25/03/2017

ANNEXE :IX : Origine des souches d'entérocoques

code	Date d'entrée	Age	sexe	service	Type des prélèvements	Date des prélèvements
SA10	03/02/2017	31	F	Médecine interne	urine	07/02/2017
SA15	05/02/2017	71	H	Médecine interne	urine	08/02/2017
SA19	20/01/2017	82	F	Médecine interne	P. gorge	12/02/2017
SA21	09/02/2017	28	F	Médecine interne	urine	13/02/2017
SA29	11/02/2017	46	H	Chirurgie	pus	14/02/2017
SA32	12/02/2017	30	F	Maternité	urine	15/02/2017
SA33	13/02/2017	40	H	Médecine interne	urine	15/02/2017
SA39	09/02/2017	40	H	Chirurgie	pus	15/02/2017

Résumé

But : Le but de cette étude est de caractériser des bactéries impliquées dans les infections nosocomiales et d'étudier leur profils de résistance vis-à-vis des antibiotiques au niveau de l'hôpital de Sidi Aich durant une période de 2 mois.

Méthodologie : Un total de 120 prélèvements biologiques a été réalisé au sein de différents services de l'EPH Sidi Aich. Par des tests biochimiques, l'isolement et identification des entérobactéries, des staphylocoques et des entérocoques a été effectué. La sensibilité des souches aux antibiotiques a été évaluée par méthode de diffusion sur gélose Muller Hinton. La détection de BLSE a été déterminée par l'utilisation de DD-test. De plus, les CMI de la vancomycine ont été déterminées.

Résultats : Isolement de 35 souches d'entérobactéries présentant des taux importants de résistance aux β -lactamines avec quatre souches productrices de BLSE et 3 isolats présentant une éventuelle céphalosporinase. De plus, 20 isolats de *Staphylococcus aureus* dont 11 SARM et 8 souches d'*Enterococcus faecalis* présentant des taux élevés de résistance vis-à-vis des aminosides et des macrolides ont été caractérisés.

Conclusion : Un taux élevé d'infection nosocomiale au niveau de l'hôpital de Sidi Aich (45,83%) dont les germes responsables présentent une multirésistance vis-à-vis de plusieurs antibiotiques.

Mots clés : Infection nosocomiale, entérobactérie, staphylocoque, entérocoque, multirésistance, Sidi Aich.

Abstract

Aim: The aim of this study was to isolate and characterize bacteria implicated in the nosocomial infection and to study their antibiotic resistance, between February to April at the hospital of Sidi Aich.

Methodology: A total of 120 biological samples were obtained from the different services of the hospital of Sidi Aich. Using the biochemical analysis, we isolated and identified bacteria belonging to *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* and *Enterococcus*. The sensitivity to the antibiotics of strains isolated is performed by standard susceptibility. Therefore, the detection of ESBL was analysed by the synergic test and the MIC to vancomycin were determined.

Results: In total, 63 strains were collected among them 35 *Enterobacteriaceae* were isolated and presenting an important rate of resistance to the β -lactamines and the producing of ESBL concerned four isolates but three others produced an eventual cephalosporinase. In addition, 20 *Staphylococcus aureus* including 11 MRSA and 8 *Enterococcus faecalis* with high rates of resistance to aminoglycosides and the macrolides were characterized.

Conclusion: High rates of nosocomial infection were carried in EPH of Sidi Aich (45, 83%) and the bacteria implicated were found to be multi-resistant to many antibiotics.

Key words: Nosocomial infection, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, antibiotic resistance, Sidi Aich.