

Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Etude comparative du portage nasal de
Staphylococcus aureus et des Entérobactéries chez
les patients dialysés et les patients sains du CHU
Frantz Fanon de Bejaia**

Présenté par

KHENNOUS Islem

Soutenu le : 05 /09/2019

Devant le jury composé de :

Mme Tafoukt R.	MAA	Président
Mr Djoudi F.	MCA	Encadreur
Mme Mouici K.	MCB	Examineur

Année universitaire : 2018 / 2019

Dédicaces

Je dédie ce travail

À

**Mes chers parents la lumière de ma vie, pour leurs
Sacrifices qui m'ont tout donné et offert durant
toutes mes études**

À

**tous les membres du club scientifique des sciences
de la nature " kheireddine ,Mahrez ,yughurta, islam,
abderrahmane, hakim, walid, hania ,doria "**
Mon frère : zineddine
Mes chères soeurs " darine, sadika, lilia, hanane"

À

Mes amis :
Rocheddine, lyes, hani, nabil, aissa, lydia, manar,
**Une pensée à mon ami qui nous à quitté que dieu
l'acceuille dans son paradis "Amine Torchit"**

À TOUTE LA PROMOTION MF 2017-2018

Remerciement

**Merci à Dieu qui nous à aidé et dirigé tout le long de
notre chemin, ainsi qu'à tous qui ont contribué dans notre
formation**

Je tiens à remercier :

**Profondément, mon encadreur Mr . DJOUDI F. pour le
Privilège et la confiance qu'il m'a accordée durant
L'étude pratique, et d'avoir accepté de diriger ce travail
avec compétence, pour sa disponibilité, son aide, sa
patience, ainsi que ses précieux conseils.**

**Mme Tafoukt R. et MOUICI K. d'avoir acceptées de
présider le jury pour leurs sympathie et gentillesse.**

**Mes remerciements les plus sincères vont vers les
membres du service d'hémodialyse du CHU Frantz Fanon
ainsi que l'ingénieur de laboratoire de microbiologie.**

**Enfin, je remercie toutes les personnes qui ont
Contribués à la réalisation de ce modeste travail du près
ou de loin.**

Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Microbiome et santé	03
II. <i>Staphylococcus aureus</i>	03
III. Entérobactéries	08

Chapitre 2 : Méthodologie de travail

I. Prélèvements et isolement des souches de <i>S. aureus</i> et entérobactéries ...	12
II.1. Prélèvements	12
II.2. Isolement	12
III. Identification.....	12
III.1. Identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	13
III.2. Identification des entérobactéries	14
IV. Antibiogramme standard	16
IV.1. Préparation de l'inoculum	17
IV.2. Ensemencement	17

Chapitre 3 : Résultats et discussion

I. Caractéristiques des patients	19
I.1. L'antibiothérapie	20
I.2. La fréquence de dialyse	20
I.3. L'ancienneté de soins dans le service	21
I.4. L'intervention chirurgicale	22

II .Etude du portage de <i>Staphylococcus aureus</i>	23
II.1. Le portage de <i>S. aureus</i>	23
II .2. Etude du portage du SARM	24
II.3.Résistance des souches SARM aux autres familles d'antibiotiques	24
III. Etude du portage des entérobactéries	25
Discussion général	26
Conclusion	30
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des figures

Figure 1 : (A) *S. aureus* sous microscope optique (coloration de Gram),
(B) staphylocoques sous microscope électronique a balayage

Figure 2 : Recherche de la production d'une DNase , *Staphylococcus epidermidis* (à gauche) *S. aureus* (à droite)

Figure 3 : Répartition des patients selon l'âge

Figure 4 : Répartition des patients selon l'antibiothérapie

Figure 5 : Répartition des patients selon la fréquence de dialyse

Figure 6 : Répartition des patients selon leur ancienneté de soins dans le service.

Figure 7 : Répartition des patients selon l'intervention chirurgicale

Figure 8 : Fréquences des bactéries isolées dans la flore nasale des patients

Liste des tableaux

Tableau I : Classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine

Tableau II : Les antibiotiques complémentaires testés

Tableau III : Répartition de la population étudiée selon le sexe

Tableau IV : Répartition des taux de portage

Tableau V : Répartition des taux de portage de SARM

Tableau VI : la résistance des souches de SARM isolées

Tableau VII : la résistance des souches d'entérobactéries isolées

Introduction

Depuis plusieurs décennies, *Staphylococcus aureus* et quelques entérobactéries sont reconnus comme des agents pathogènes importants de l'homme, responsables d'une grande variété d'infections mortelles. Ces pathogènes capables de produire plusieurs facteurs de virulence qui les aident dans l'échappement aux défenses de l'organisme et la destruction de ses tissus. Cependant, ils sont reconnus comme des germes commensaux capables de coloniser plusieurs sites du corps humain sans causer d'infections et de résister aux conditions hostiles ainsi qu'aux différentes familles d'antibiotiques (**Weigelt, 2006 ; Yan et al., 2014**). Si les BLSE sont un phénomène contemporain, les principales espèces qui les hébergent, à savoir les entérobactéries, sont, depuis la nuit des temps, des microorganismes qui vivent en symbiose avec l'homme et les animaux à sang chaud (*Escherichia coli*), qui colonisent de façon permanente (*Klebsiella pneumoniae*) ou de façon intermittente (*Enterobacter spp*, *Citrobacter spp...*) le tube digestif de certains sujets ou qui sont entéropathogènes (*Salmonella enteritica*, *Shigella spp*). Face au constat que la famille des entérobactéries, famille bactérienne la plus dense chez l'homme et l'animal, s'arme des BLSE, il y a lieu de s'interroger sur l'ampleur du danger notamment dans une conjoncture où se tarit la production de nouveaux antibiotiques. (**Stecher B. 2015**).

Il a été démontré qu'environ 20% de la population est colonisée de manière permanente par *Staphylococcus aureus*, et ce taux de colonisation est plus important chez des personnes admises dans les services de long séjour, tel que le service d'hémodialyse, où le portage et la colonisation nasal jouent un rôle crucial dans l'infection, vu que cette catégorie de patients est particulièrement exposée au risque infectieux à cause de leur état d'immunodépression quasi permanent due aux différentes maladies chroniques telles que le diabète et l'hypertension artérielle, et des multiples techniques invasives utilisées (cathéters centraux, sondage, fistules), ainsi que du risque de transmission croisée de germes en raison de la multiplicité des soins. (**Williams, 1963 ; Gordon et Lowy, 2008 ; Sivaraman et al., 2010**).

Ceci démontre qu'un service d'hémodialyse a un rôle central dans l'acquisition et la dissémination des bactéries multi-résistantes, et en particulier le SARM et BLSE, pour cela nous avons entamé une étude afin :

- D'évaluer les taux de portage nasal de *Staphylococcus aureus* et du SARM dans le service d'hémodialyse de l'hôpital FRANTZ FANON.

- Identifier quelques espèces d'entérobactéries présente dans la flore nasale des patients.
- Estimer les taux de résistance des souches SARM aux autres familles d'antibiotiques.

Afin de d'atteindre ces objectifs nous avons opté pour la démarche suivante :

- ✓ Isolement et identification des souches de *Staphylococcus aureus*.
- ✓ Etude de la sensibilité des souches de *S. aureus* vis-à-vis de la céfoxitine.
- ✓ Etude des profils de résistances des souches de SARM vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques.
- ✓ Isolement et identification de quelques souches d'entérobactéries.

Synthèse bibliographique

I. Microbiome et Santé

Le microbiote intestinal humain sain est formé par une diversité de 10 puissance 14 bactéries appartenant à plus de 500 différentes espèces sous forme d'un écosystème (Blumberg et Powrie . 2012 ; Nicholson et al . 2012). Ce dernier influencé par un nombre croissant de maladies humaines, tel que les maladies inflammatoires de l'intestin MICI, diabète type II, l'obésité, les allergies, cancer colorectal, modifiant ainsi ce microbiote (Cho et Blaser. 2012) .

La composition du microbiote se varie dans le temps et entre les différentes personnes, dépend aussi de l'environnement (régime alimentaire) et le patrimoine génétique de l'hôte (Lozupone et al .2012) .

Une fois le microbiote intestinal sain et normal crée des conditions dans l'intestin qui défavorisent la colonisation des agents pathogènes entériques, c'est ce qu'on appelle la résistance à la colonisation (RC).

La RC peut être transitoire perturbé, et les agents pathogènes peuvent avoir l'occasion de se développer à des niveaux élevés. Cette perturbation peut être causée par l'exposition à des antibiotiques (Dethlefsen et Relman . 2011, Hill et al 2010) , modification du régime alimentaire (Wu GD et al .2011 , Walker AW et al .2011) , application des médicaments probiotiques (Zhang X et al .2012) , ainsi que divers maladies (Cho et Blaser . 2012) .

II. *Staphylococcus aureus*

Historiquement, *Staphylococcus aureus* est reconnu comme une importante cause de maladies infectieuses dans le monde. Il est à la fois un germe commensal et un pathogène associé aux infections nosocomiales et aux infections acquises dans la communauté. Il est capable de produire plusieurs facteurs de virulence qui lui permettent d'échapper aux défenses immunitaires de l'organisme et d'adopter plusieurs mécanismes pour résister aux antibiotiques (Weigelt, 2006 ; Palavecino et al., 2014). *S. aureus* a été observé et isolé pour la première fois en 1880 par Louis Pasteur dans un pus de furoncle. En 1883, Alexander Ogston distinguât deux types de cocci : ceux qui forment de chainettes et ceux regroupés en grappes de raisin. Il nomma ces derniers par *Staphylococcus*. En 1884, Frederick Rosenbach a

obtenu des cultures pures de ces bactéries qu'il a scindées en deux groupes, l'un donnant des colonies jaunes et l'autre des colonies blanches (Avril *et al.* 1992 ; Dedet, 2008). En 1885, Zopf regroupa les staphylocoques et les microcoques et certains groupes de saprophytes dans la famille des Micrococcaceae. Cependant, durant les années 60, une étude comparative en GC% a permis la distinction entre les deux genres *Micrococcus* et *Staphylococcus*. La comparaison de la composition des parois cellulaires dans les années 70 a confirmé cette distinction (Avril *et al.* 2000 ; Gillespie et Hawaky, 2006) et l'analyse de l'ARNr 16S a montré que les staphylocoques forment un groupe cohérent au niveau du genre (Baron, 1996). Au début du 21^{ème} siècle, plus de 50 espèces et sous espèces sont décrites, dont 17 identifiées chez l'homme (Garrity *et al.* 2007).

Ces bactéries apparaissent sous forme de cocci Gram positif de 0,5 à 1,5 µm de diamètre, groupées en amas, immobiles, non sporulées et généralement non capsulées (Figure 1). Ce sont des aéro-anaérobies, oxydase négative et produisent plusieurs enzymes telles que la coagulase, la DNAase et la catalase, ce qui permet de les distinguer des autres staphylocoques et cocci Gram positif (Denis *et al.* 2005). La culture de ses bactéries est obtenue après 24 heures d'incubation sur milieux ordinaires. Mais *S. aureus* peut également être cultivé en présence de fortes concentrations de sel (gélose Chapman), et généralement les colonies observées sont lisses, rondes, bombées, brillantes et fermentent le mannitol. La pigmentation en jaune doré peut être observée chez certaines souches d'où le nom d'« *aureus* » (Avril *et al.* 2000 ; Touret et Loulergue, 2003).

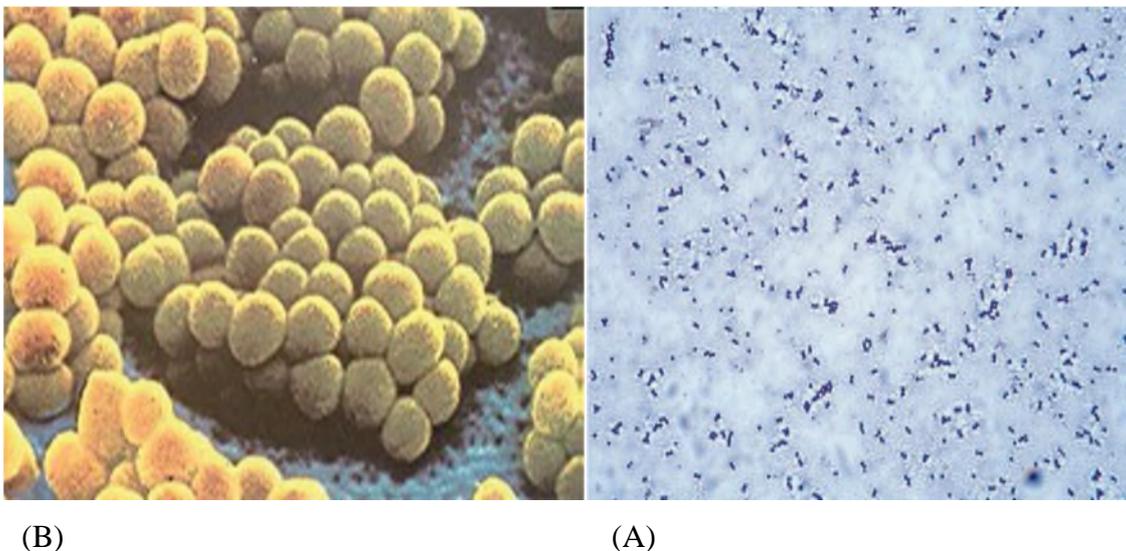


Figure 1 : (A) *S. aureus* sous microscope optique (coloration de Gram), (B) staphylocoques sous microscope électronique à balayage (Denis *et al.* 2011).

Ce germe est responsable de très nombreuses infections acquises à l'hôpital survenant surtout en postopératoire ou en réanimation, mais aussi en dehors de l'hôpital. Il est à l'origine d'une large variété de pathologies, qui peuvent être des infections suppuratives, localisées ou systémiques (**Dumitrescu et al. 2008**), allant des abcès cutanés jusqu'aux infections plus graves telle que la fasciite nécrosante, les pneumonies, les septicémies, l'endocardite, l'ostéomyélite et syndrome de choc toxique. Il est également un agent impliqué dans les intoxications alimentaires (**Arvidson et Tegmark, 2001 ; Diep et al., 2006**).

Une grande partie des infections invasives dues aux SARM sont d'origine hospitalière d'où la fréquence de mortalité élevée chez les patients atteints d'infections nosocomiales par rapport aux infections à SARM communautaire (**Klenens et al. 2007**). Les septicémies sont dues à la dissémination de *S. aureus* dans la circulation sanguine suite à l'implantation d'un cathéter veineux, d'une sonde ou prothèse, ou à la suite d'une infection cutanéomuqueuse mal soignée (**Lowy, 1998**). Le syndrome du choc toxique (TSS), se manifeste avec une fièvre, des éruptions cutanées, une hypotension et des atteintes cérébrales, rénales, hépatiques et musculaires (**Avril et Fauchère, 2002**). C'est une pathologie rare, qui peut être d'origine menstruel causée par les souches de *S. aureus* productrices de la toxine TSST1 (Toxic Shock Syndrome Toxin-1), ou non menstruel suite aux infections staphylococciques suppuratives superficielles ou profondes (**Martin et al. 2000 ; Brosnahan et Schlievert, 2011**). *S. aureus* est également responsable du syndrome de la peau ébouillantée, due à la production d'exfoliatines à partir du site de l'infection (**Vincenot et al. 2008**). D'autres pathologies ont été individualisées, telles que les infections cutanées graves, les furonculoses et la pneumonie nécrosante chez les jeunes enfants en bonne santé, suite à la production de la leucocidine de Pantone et Valentine (**Iwatsuki et al. 2006**). Comme toutes autres bactéries pathogènes, *S. aureus* a la capacité d'exprimer ses facteurs de virulence en fonction des conditions environnementales qui déterminent le succès ou l'éradication de l'infection (**Vincenot et al. 2008**). Cette virulence est multifactorielle en raison de l'action combinée de différentes toxines et enzymes sécrétées. Sur la base de leurs activités biologiques, ces facteurs peuvent être divisés en trois catégories. Ceux qui assurent la médiation de l'adhésion bactérienne aux cellules et aux tissus, ceux qui favorisent le dommage des tissus et la propagation et enfin des facteurs aidant *S. aureus* dans l'échappement aux défenses de l'hôte (**Arvidson et Tegmark, 2001 ; Zecconi et Scali, 2013**). Selon le type de facteur de virulence ainsi que des réponses immunitaires mises en place, ces toxines peuvent induire des manifestations cliniques caractéristiques et influencer la sévérité des symptômes. Parmi ces facteurs, on trouve les

toxines cytolitiques (alpha et bêta hémolyse), les toxines exfoliatines, la leucocidine de Panton et Valentine (LPV), la protéine A, et plusieurs enzymes tels que les adhésines, les lipases, les Staphylocoagulases, et les super-antigènes (**Iwatsuki et al. 2006 ; Palavecino et al., 2014**). Une fois les souches de *S. aureus* envahissent l'épithélium humain, ils utilisent des stratégies qui leur permettent de survivre, proliférer, se disperser et de persister. Pour échapper aux défenses de l'hôte, ces bactéries évitent la phagocytose par la synthèse d'une capsule, l'opsonisation et le complément par la liaison de la protéine A au fragment « Fc » des immunoglobulines G (IgG), inhibition de la chimiotaxie des neutrophiles par la synthèse des protéines appelées les CHIPS (*Chemotaxis Inhibitory Protein of S. aureus*), et bloquent l'action des peptides antimicrobiens tels que l' α -défensines par la liaison des Staphylockinase (**Rooijackers et al., 2005 ; Iwatsuki et al., 2006 ; Gordon et Lowy, 2008**). En plus des facteurs de virulence codés par le chromosome bactérien, certains de ses facteurs sont portés sur des éléments génétiques mobiles accessoires, incluant les plasmides, transposons, séquences d'insertions, bactériophages et cassettes chromosomiques staphylococciques. La synthèse de ces facteurs est sous contrôle du système de régulation « agr » (Accessory Gene Regulator) (**Malachowa et DeLeo, 2010**). Avant la disponibilité des molécules thérapeutiques de type antibiotiques, les infections invasives provoquées par *S. aureus* étaient souvent fatales, mais l'introduction de la pénicilline en 1940 a amélioré le pronostic vital pour ces infections. Cependant après quelques années d'utilisation, l'efficacité de cet antibiotique a été réduite, à cause de l'émergence de souches résistantes à la pénicilline, par production d'enzyme capable de l'hydrolyser (**Chambers et DeLeo, 2009 ; Ji, 2014**). Vers la fin de l'année 1960, les infections provoquées par des souches de *S. aureus* résistantes à la pénicilline sont devenues pandémique et actuellement, cette résistance touche environ 90% des isolats (**Chambers et DeLeo, 2009**). Afin de remédier à ce problème de résistance, la méthicilline fut introduite en 1959. Mais peu de temps après, *S.aureus* a développé une résistance à la méthicilline (SARM), par la synthèse d'une protéine de liaison aux pénicillines (PLP) additionnelle, appelée « PLP2a ». Cette dernière est caractérisée par une faible affinité à toute la famille des bêta-lactamines (**Askarian et al. 2009 ; Palavecino et Ji, 2014**) et elle est codée par le gène *mecA* porté par une cassette chromosomique staphylococcique « SCC*mec* » (**Lowy, 2003**). A partir des années 1970, la résistance à la méthicilline est devenue endémique dans les hôpitaux à travers le monde, ce qui a rendu toute la classe des bêta-lactamines inefficaces (**Diep et Otto, 2008 ; Chambers et DeLeo, 2009**). Un nombre réduit de clone de SARM d'origine hospitaliers (SARM-H) a diffusé de manière épidémique dans les hôpitaux à

l'échelle mondiale (**David et al. 2010**). Cependant, dès le début des années 90 de nouveaux clones de SARM ont fait leur apparition dans la communauté et indépendamment du SARM-H, ils sont dits « SARM communautaire » ou SARM-C (**Otter et French, 2010**). Actuellement, le SARM qu'il soit communautaire ou hospitalier, devient un problème de santé majeur à l'échelle mondiale. De nombreuses études ont signalé des résistances multiples de SARM aux antibiotiques. La résistance aux fluoroquinolones, l'érythromycine, gentamycine, tétracycline, ciprofloxacine et la kanamycine est relativement élevée. Tandis que pour certains antibiotiques, tel que la rifampicine, daptomycine et mupirocine, cette résistance est limitée. Cependant la résistance à la vancomycine ou les glycopeptides et à linézolide reste extrêmement rare (**Lindsay, 2013 ; Yıldız et al., 2014**). La première souche clinique de SARV (*S. aureus* résistant à la vancomycine) avec un très haut niveau de résistance au glycopeptides est décrite en 2002. Cette résistance est due à l'acquisition de l'opéron « *vanA* », porté par des plasmides et provient de souches d'entérocoques résistants à ces antibiotiques (**Sievert et al., 2002 ; Périchon et Courvalin, 2009**). Certaines résistances sont dues à un ou plusieurs SNPs (single nucleotide polymorphisme), tels que la résistance aux fluoroquinolones, rifampicine, linézolide, daptomycine, mupirocine de bas niveau, acide fusidique de bas niveau et la résistance à vancomycine de niveau intermédiaire, tandis que d'autres sont dues à des gènes de résistance codés sur des éléments génétiques mobiles (EGM) (**Lindsay, 2013**). Cependant, cet agent pathogène est également une bactérie de la flore commensale des mammifères. Il fait partie de la flore cutanée et des muqueuses, et il peut se trouver dans le pharynx, tractus gastro-intestinal, vagin et périnée. Les narines semblent être l'habitat préférentiel dont laquelle ce micro-organisme peut être hébergé. Lorsque cette bactérie est éliminée au niveau des narines, elle disparaît également dans toutes les régions du corps. En fonction de la durée de ce portage nasal, trois types de porteurs, peuvent être distingués: porteurs permanents, intermittents et non porteurs (**Williams, 1963 ; Kluytmans et al. 1997 ; Wertheim et al., 2005**). Une propriété fondamentale de cette bactérie est sa capacité à coloniser de façon asymptomatique la population mondiale, dont environ 30% sont des porteurs asymptomatiques (**Chambers et DeLeo, 2009**). Cette colonisation par *S. aureus* est déterminée par plusieurs facteurs, qui contribuent à l'interaction hôte-microbe. Les déterminants bactériens définissent la capacité d'adhérer au tissu humain et d'échapper à l'immunité de l'hôte. La génétique de l'hôte définit la prédisposition humaine à la colonisation. Cependant, les facteurs environnementaux peuvent modifier l'hôte, le microbe et l'interaction hôte-microbe (**Sollid et al. 2014**). Des taux de portage nasal de *S. aureus* chez la population

normale ont été rapportés dans plusieurs études et il a été constaté que le taux de portage augmente en fonction de plusieurs facteurs. Parmi ces derniers, le diabète sucré, l'insuffisance rénale, la maladie du foie et les infections de la peau favorisent ce portage. Il a été également rapporté que les patients atteints du SIDA, les toxicomanes et ceux hospitalisés fréquemment sont les plus exposés à la colonisation par *S. aureus* (Kluytmans et al., 1997 ; Wertheim et al., 2005). La présence de l'un de ces facteurs précédents favorise également l'infection staphylococcique chez les porteurs. Des études antérieures ont établi que le portage nasal de *S. aureus* et de SARM constitue un risque pour les infections endogènes chez l'homme. Dans la communauté, 80% des infections superficielles et des tissus mous sont liées à ce portage, dont lesquels 65% des cas, les mêmes souches sont trouvées au niveau des lésions cutanées et des narines d'un même patient (Kluytmans et al., 1997 ; Wertheim et al., 2005). Cependant une étude sur les bactériémies a montré que 82% des patients avaient les mêmes isolats responsables de septicémies et de portage nasal (Von Eiff et al. 2001). Les antibiotiques ont modifié le pronostic des infections graves comme la staphylococcie maligne de la face, les infections systémiques à staphylocoques. Que ce soit à *S. aureus* ou *S. epidermidis*, elles doivent être traitées par une antibiothérapie bactéricide (Avril et al 2003). Le choix de l'antibiothérapie sera guidé en milieu hospitalier par l'antibiogramme qui est indispensable étant donné la fréquence d'isolement des souches multirésistantes, ainsi que par le contexte clinique (Bronner et al 2004, Ferron A.1984 ; Nauciel C.2005). Pour les infections graves, les pénicillines insensibles aux pénicillinases sont utilisées, comme l'oxacilline , la cloxacilline, la flucoxacilline et les céphalosporines de première et deuxième génération comme la céfalotine, la céfalexine et la céfuroxime (Spicer W.J.2003). Un pourcentage important de souches isolées en milieu hospitalier dans le monde entier sont résistantes à toutes les bêta-lactamines (souches méti R) et sont de règle multirésistantes. Ces souches doivent être traitées par les glycopeptides qui restent fréquemment actifs, mais sont aussi plus lentement bactéricides et plus coûteux. L'érythromycine et les nouveaux macrolides sont employés dans les infections peu sévères (Avril et al 2003, Spicer W.J.2003). Les souches communautaires sont généralement résistantes aux pénicillines G et A, mais sensibles aux pénicillines M (et aux céphalosporines). Elles sont souvent sensibles aux macrolides aux synergistines et aux fluoroquinolones (Nauciel C.2005).

III. Les Entérobactéries

La naissance de la famille des *Enterobacteriaceae* remonte à 1937, lorsqu'Otto Rahn proposa le genre *Enterobacter* pour regrouper les microorganismes. Les Entérobactéries sont

très hétérogènes pour ce qui est de leur pathogénicité. Les espèces qui composent cette famille sont, en effet, soit parasites, soit commensales (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp*), soit encore saprophytes (*Serratia sp*, *Enterobacter sp*) (Pierre, 2002; Marie, 2003 ;Bakhoum, 2004). Les entérobactéries sont définies par un ensemble de caractères généraux communs. Ce sont des bacilles à gram négatif, non sporulés, le plus souvent mobiles grâce à une ciliature péritriche. Cependant, dans certains cas, des bactéries des genres *Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia* sont immobiles. Les entérobactéries sont aérobies-anaérobies facultative, cultivables sur les milieux ordinaires, fermentent le D-glucose avec ou sans production de gaz, réduisent les nitrates en nitrites et possèdent une catalase (sauf *Schigella dysenteriae* sérotype 1). Ces caractères permettent de différencier les entérobactéries des autres bacilles à gram négatif qui poussent sur les milieux usuels (Brenner, 1984). Ces bactéries sont en général des hôtes normaux ou pathologiques, selon l'espèce, du tube digestif de l'homme, des animaux et de l'environnement tels que les sols et les eaux (Carbonnelle et al. 1987 ; Drame, 2001). Les Entérobactéries englobent actuellement 100 espèces classées. Les genres et espèces les plus facilement isolés en bactériologie clinique sont regroupés dans le tableau I.

Tableau I : Classification des espèces d'Entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine (Philippon, 2000).

Genre	Espèce
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>
<i>Shigella</i>	<i>dysenteriae, sonnei, boydii, flexerii</i>
<i>Salmonella</i>	<i>typhi, Paratyphi</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae, oxytoca</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae, aerogenes</i>
<i>Serratia</i>	<i>marcescens</i>
<i>Proteus</i>	<i>mirabilis, vulgaris</i>
<i>Providentia</i>	<i>rettgerii, stuartii</i>
<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i>
<i>Hafnia</i>	<i>alvei</i>
<i>Yersinia</i>	<i>pestis, enterocolitica, pseudotuberculosis</i>

Les Entérobactéries sont des bacilles ayant en moyenne 2 à 3 µm de longueur et 0.6µm de largeur. Ces dimensions varient selon l'âge de la culture, l'espèce, voir la souche. Elles sont généralement mobiles par ciliature péritriches. Certaines entérobactéries peuvent produire des exo-polysaccharides à leurs surfaces qui forment soit une capsule, soit une couche visqueuse fluide appelée « slim » (**Costerton, 1981**).

Les Entérobactéries se développent sur tous les milieux gélosés ordinaires à base de peptone ou d'extraits de viande en 18 heures à 35-37 °C en donnant des colonies rondes, lisses, à contour régulier dont le diamètre est de 2 à 3 mm (**Carbonnelle et al., 1987**).

Les Entérobactéries sont : chimio-organotrophes, fermentent le glucose (avec ou sans production de gaz), possèdent à la fois un métabolisme respiratoire et fermentaire. (**Carbonnelle et al., 1987, Bakhoun, 2004 ; Bourjilat, 2009**).

Le sérotypage des Entérobactéries est défini par différents antigènes :

L'antigène O : est un antigène de paroi, thermostable, c'est-à-dire résistant 2 h à un chauffage de 100°C, très toxique, il s'agit d'une endotoxine.

L'antigène H : est un antigène flagellaire de nature protéique, thermolabile détruit par l'alcool à 50 % et par les enzymes protéolytiques.

L'antigène K : est un antigène capsulaire de nature polysaccharidique (**Larpen et Gourgaud, 1985**).

Il s'agit d'une très vaste famille qui représente près des trois quarts des isollements d'un laboratoire de bactériologie médicale. Elles sont responsables de deux grands types de manifestations pathologiques, Une pathologie spécifique telle que la typhoïde, Une pathologie opportuniste avec, pour certaines, une notion d'hospitalisme infectieux marqué (**Singleton, 1994**).

✓ ***Escherichia coli***

E. coli est responsable d'infections extra-intestinales, infections urinaires, infections abdominales et septicémies avec choc septique dû à l'endotoxine O et d'infections intestinales : l'existence des diarrhées à *E. coli* est connue depuis 1940. Ces diarrhées sont dues à des souches de sérotypes particuliers qui provoquent soit des cas sporadiques, soit des petites épidémies (**Abhijit et al. 2013**).

✓ ***Klebsiella pneumoniae***

Klebsiella pneumoniae est responsable d'infections communautaires et d'infections nosocomiales. Parmi les infections communautaires, *K. pneumoniae* est responsable d'infections bronchopulmonaires incluant les pneumonies lobaires nécrosantes et les abcès

pulmonaires. Cette espèce est également responsable d'infections urinaires et digestives, ainsi que de bactériémies et d'infections neuroméningées post-traumatiques ou post-chirurgicales. Isolée surtout dans le service de réanimation, elle représente 10% des infections hospitalières (**Freney et al. 2007**).

Matériels et méthodes

Description de l'étude

Notre étude s'est intéressée au portage nasal de *Staphylococcus aureus* et entérobactéries chez les patients admis au service de néphrologie durant la période du 03 mars au 20 mai 2019. Ces malades suivent périodiquement des séances de dialyse d'une durée de 4 heures avec des fréquences allant d'une à 3 fois par semaine, au niveau du CHU Frantz Fanon de Bejaia.

Après consentement des patients et des participants, une fiche de renseignement en forme de questionnaire est remplie par des questions directes, ou bien à partir du dossier médicale (annexe n° IV).

L'étude bactériologique a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'Université Abderrahmane Mira de Bejaia.

I. Prélèvements et isolement des souches de *S. aureus* et entérobactéries

I.1. Prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés à l'aide d'un écouvillon stérile, comme suit:

- Introduire l'écouvillon dans les narines du patient.
- Tourner délicatement l'écouvillon sur lui-même 5 fois dans chaque narine.
- Ensemencer l'écouvillon dans un tube de bouillon d'enrichissement B.H.I.B
- Incuber à 37°C pendant 48h.

I.2. Isolement

- Tous les tubes présentant un trouble sont considérés positifs.
- Avec une anse de platine, on prélève une goutte du milieu d'enrichissement et on ensemence par la méthode de stries sur gélose Chapman ;
- Une autre goutte sur gélose V.R.B.L ou Mac Conkey
- Puis incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures
- Réaliser des ré isollements jusqu'à l'obtention d'une culture pure, sur gélose Chapman pour les souches suspectées être *S. aureus* et Mac Conkey pour les entérobactéries.

II. Identification

L'identification des souches isolées est basée en premier sur des tests biochimiques classiques, pour les deux groupes bactériens. En suite des tests spécifiques sont réalisés afin d'identifier les isolats à l'échelle de l'espèce.

➤ **Aspect des colonies**

Sur milieu Chapman les colonies de *Staphylococcus* observées sont lisses, rondes, bombées, brillantes et fermentent le mannitol. La pigmentation en jaune doré peut être observée chez certaines souches d'où le nom d'« *aureus* ».

Sur milieu MacConkey les entérobactéries forment des colonies rondes, lisses, à contour régulier dont le diamètre est de 2 à 3 mm.

➤ **Coloration de Gram :** on réalise une coloration de Gram selon la méthode représentée dans l'annexe (n° I- 2). *S. aureus* apparaît sous forme de cocci regroupés en amas et de couleur violette. Les entérobactéries sont représentées par une couleur rose sous forme de bacille ou de coccobacille parfois incurvés.

➤ **Test de la Catalase :** Sur une lame propre et sèche, déposer l'inoculum prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur, puis ajouter une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂). Une réaction positive se traduit par une effervescence (un dégagement gazeux immédiat).

II.1. Identification de *Staphylococcus aureus*

➤ **Test de la coagulase**

Ce test est utilisé pour différencier *S. aureus* des autres cocci à Gram positif. Cette enzyme est produite sous deux formes ; coagulase liée et libre. La coagulase liée est fixée à la paroi bactérienne et réagit directement avec le fibrinogène dans le plasma qui se précipite en une masse visible. La coagulase libre est une enzyme extracellulaire qui réagit avec un composant de plasma appelée facteur de coagulase-réaction (CRF). La réaction résultante est la formation d'un caillot sanguin par prise en masse du plasma suite à la conversion de la prothrombine en thrombine. Qui, à son tour transforme le fibrinogène en fibrine (**Leboffe et Pierce, 2011**). Pour cela, il faut:

- Mélanger dans un tube à hémolyse stérile 0,5 ml de culture fraîche sur B.H.I.B avec 0,5ml de plasma humain.
- Incuber le mélange à 37°C pendant 24 heures ;
- Effectuer la lecture après 30 minutes, 1 heure, 4 heures et 24 heures.

Un résultat positif se traduit par la prise en masse du plasma humain dans le tube à hémolyse.

➤ **Test de la DNase**

La mise en évidence de la production d'une DNase est effectuée sur une gélose contenant de l'ADN. Les bactéries sont ensemencées en réalisant une strie à la surface de la gélose ; celle-ci est incubée 18 heures à 37°C. L'hydrolyse de l'ADN est révélée en ajoutant de l'acide chlorhydrique. Lorsque l'ADN a été dégradé, un halo clair est visible au pourtour de la strie, alors que l'ADN sous l'action de l'acide est à l'origine d'un précipité blanchâtre.

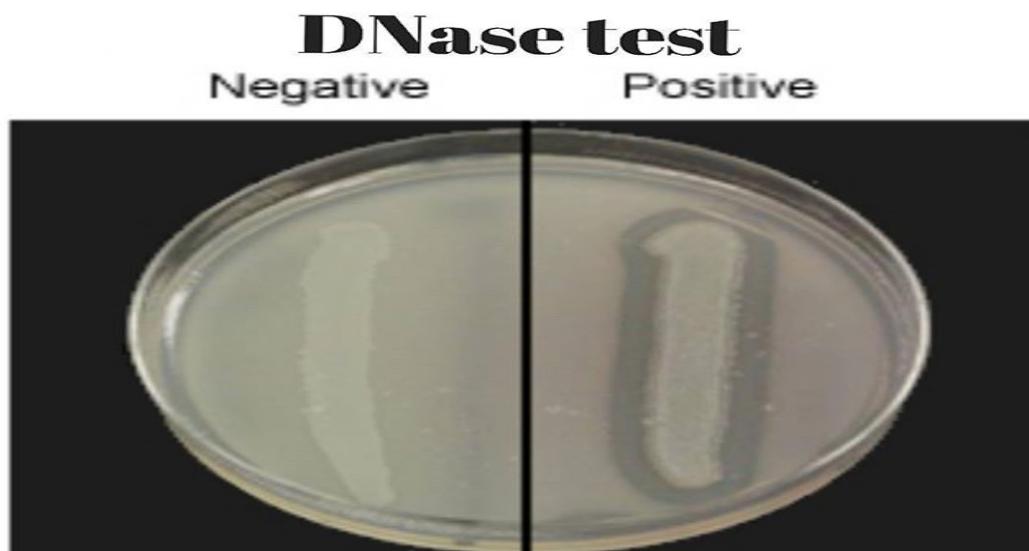


Figure 2 : Recherche de la production d'une DNase , *Staphylococcus epidermidis* (à gauche) *S. aureus* (à droite)

II.2. Identification des entérobactéries : elle est réalisée en se basant sur des mini-galeries, afin de déterminer les caractères biochimiques des souches isolées. Les principaux test réalisés sont les suivant :

➤ **Test TSI**

Il permet de mettre en évidence les fermentations du glucose, lactose et du saccharose, la production d'hydrogène sulfuré (H₂S) et de gaz, après avoir préparé le milieu TSI, les tubes ont été inclinés de façon à obtenir un culot de 3cm de hauteur et une pente oblique. Ensemencer le culot du milieu par piqûre centrale et

la pente en stries serrés, afin d'avoir une culture en nappe avec la souche bactérienne à tester puis incuber les tubes à 37°C pendant 24 heures.

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

a) Fermentation de glucose

- culot rouge : glucose non fermenté
- culot jaune : glucose fermenté

b) Fermentation du lactose et/ou du saccharose

- pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés
- pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s)

c) Production de gaz

- apparition de gaz dans le culot.

d) Formation d'H₂S

- formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

➤ **Test VP et RM**

Le milieu Clark et Lubs permet de rechercher les voies fermentaires des entérobactéries et de différencier la fermentation « acides mixtes » et la fermentation « butylène glycolique ». Onensemence le milieu Clarck et Lubs à l'aide d'une anse de platine avec la souche bactérienne à analyser. Après avoir incubé à 37°C pendant 24 heures, après le milieu a été partagé en deux tubes : en ajoutant quelques gouttes du réactif VP1 et le même Volume du réactif VP2 dans le premier tube, la lecture s'effectue après quelques minutes, une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive ; en additionnant 2 à 3 gouttes de RM 1 et RM 2 dans le deuxième tube, si l'anneau rouge apparait on déduit que le RM est positif.

➤ **Test d'indole**

Le test est réalisé en introduisant dans de l'eau peptonée exempte d'indole quelques colonies bactériennes à l'aide d'une anse de platine, incuber pendant 24 heures à 37 °C puis ajouter du réactif de Kovacs qui montre la production de l'indole qui se traduit par un anneau rouge en surface du milieu.

➤ **Test citrate**

Faire ensemencer toute la surface de la pente du milieu avec des stries séries à l'aide d'une anse de platine stérilisée au bec, incuber à 37°C, pendant 18 heures.

Virage vers le bleu (citrate de Simmons +) .Les bactéries utilisant le citrate comme seule source de carbone bleuissent normalement le milieu (alcalinisation); pas de virage (citrate-) les bactéries ne l'utilisant pas ne cultivent pas. Toutefois, des bactéries peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone sans bleuir (*Enterococcus*) ce qui peut s'expliquer par une utilisation par fermentation puisque les *Enterococcus*, par exemple, ne sont pas capables d'utiliser le dioxygène.

➤ **Test nitrate**

On a ensemencé le milieu par quelques colonies des souches à tester. Après incubation des tubes à 37°C pendant 24 heures, on a ajouté une ou deux gouttes de réactif de Griess (NR1 et NR2) dans le bouillon nitraté cultivé.

-Le milieu devient rouge : présence de nitrites. Donc la bactérie possède une nitrate réductase. **Résultat NR+**

- Le milieu reste inchangé : on ajoute alors de la poudre de zinc qui joue le même rôle que la nitrate réductase vis à vis des nitrates.

*coloration rouge : on a donc eu transformation des nitrates en nitrites par le zinc. La bactérie ne possédait pas cette enzyme. **Résultat NR-**

*pas de coloration : les nitrates ont été transformés par la bactérie au delà des nitrites. La bactérie possède cette enzyme. **Résultat NR+**

➤ **Test uréase**

Se fait sur milieu urée tryptophane ; réalisation d'une suspension sur ce milieu appelé urée-indole et étuver à 37°C pendant 24 heures.

*La coloration rouge traduit une alcalinisation du milieu, suite à l'hydrolyse de l'urée et formation de carbonate d'ammonium : uréase +

* Si le milieu persiste orange alors pas d'alcalinisation test uréase –

III.Antibiogramme standard

La sensibilité de toutes les souches de *S. aureus* isolées a été testée vis-à-vis de la Céfoxitine (FOX) et celle des entérobactéries avec de l'Amoxicilne + Ac.clavulanique (AMC) par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton, selon les recommandations de l'EUCAST 2018.

III.1. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure et fraîche, racler à l'aide d'une anse de platine 3 à 4 colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne au vortex

III.2. Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- Essorer l'écouvillon en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.
- Sur une boîte de Pétri contenant le milieu Muller Hinton, frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose de haut en bas et en stries serrées
- Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Déposer les disques de Céfoxitine (FOX, 30µg) sur la gélose Mueller Hinton et incuber à 30°C pendant 24 à 48 heures pour chaque souche de *S. aureus*
- Déposer les disques d'Amoxicilline (AMC, 30µg) au milieu de la boîte ainsi que Céfotaxime (CTX, 30µg) et la Ceftazidime (CAZ, 30µg) en parallèle afin de révéler la synergie.

Après incubation, on mesure avec précision le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied-a-coulisse. L'interprétation en sensible (S), intermédiaire (I) et résistant (R) est effectuée selon les recommandations du EUCAST 2018.

Les souches de *S. aureus* présentant des diamètres des zones d'inhibition vis-à-vis de la Céfoxitine inférieurs à 22 mm sont considérées résistantes ;

Les souches d'enterobactéries présentant des diamètres des zones d'inhibition vis-à-vis de l'Amoxicilline + Ac. clavulanique inférieurs à 14 mm sont considérées résistantes, l'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'AMC et les disques de Ceftazidime, céfotaxime indique une synergie positive ; la production d'une BLSE (Jarlier et al. 1988).

Un antibiogramme standard est réalisé comme précédemment en respectant les recommandations du **EUCAST (2018)** et l'incubation des boîtes se fait à 37°C pendant 24 heures .

Tableau II : Les antibiotiques complémentaires testés.

	Antibiotiques	Abréviations	Charge de disque (µg)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pénicilline G	P	10
	Erythromycine	E	15
	Triméthoprime	STX	25
	Clindamycine	DA	2
	Rifampicine	RD	30
Entérobactéries	Imipénème	IPM	10
	Ciprofloxacine	CIP	5
	Oxacilline	OX	1

Résultats et discussion

I. Caractéristiques des patients

Cette étude a été réalisée dans le service d'hémodialyse de l'hôpital Frantz Fanon de Bejaia pendant une période allant de 03 mars au 20 mai 2019 . Au total 44 patients ont été concernés.

La population comprend 28 hommes et 16 femmes (tableau n°III)

Tableau III : Répartition de la population étudiée selon le sexe

sex	Féminin	Masculin
nombre	16	28
%	36,36	63,64

Les 44 patients sont répartis en classe d'âge en suivant la méthode de Hidron et ses collaborateurs (Hidron et *al*,2005). 31,81 % sont âgés de plus 60 ans, 51,1 % ont un âge entre 20-60 ans, 9,09 % sont âgés moins de 20 ans (figure n° 3)

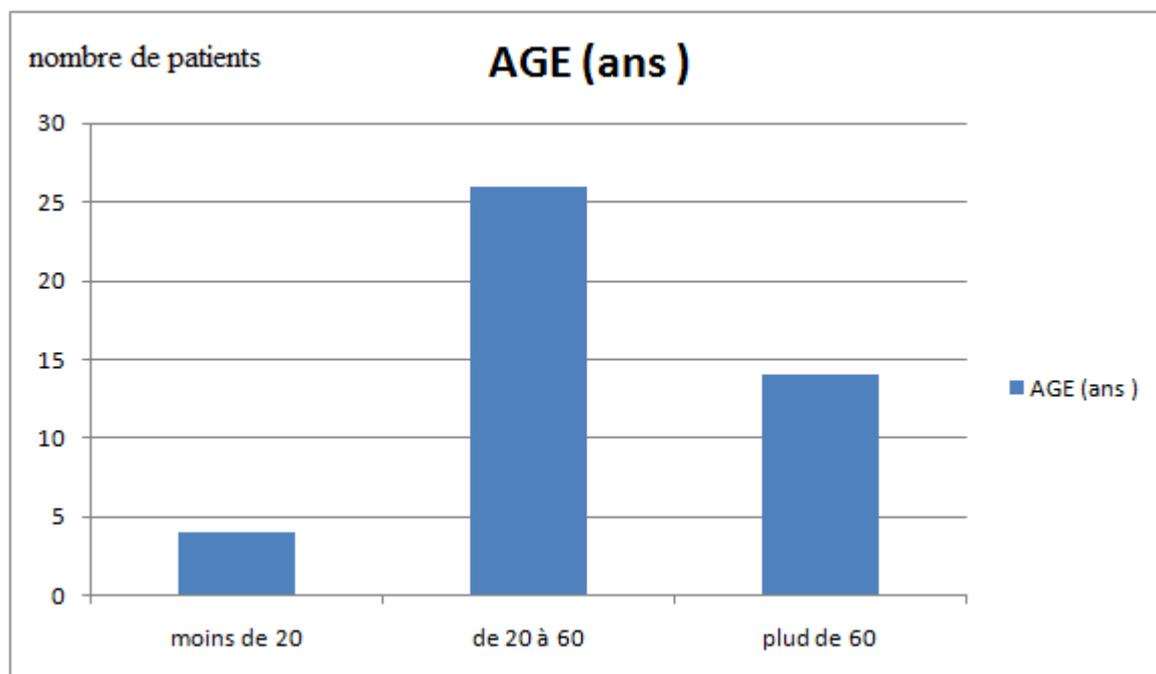


Figure 3: Répartition des patients selon l'âge

I.1. L'antibiothérapie

Sur les 44 patients, 27 ont été sous antibiothérapie ou avait suivi un traitement antibiotique durant le dernier mois, contre 17 patients qui n'ont suivi aucune antibiothérapie récente (figure n° 4)

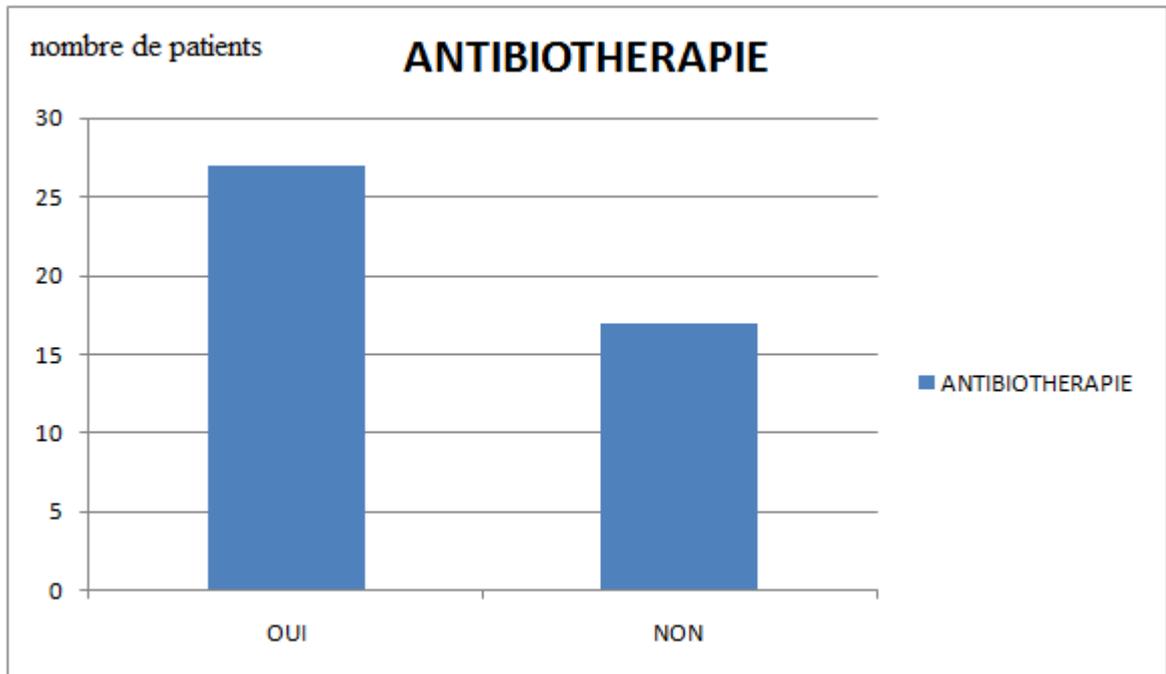


Figure 4 : Répartition des patients selon l'antibiothérapie

I.2. La fréquence de dialyse

La fréquence de dialyse varie selon les besoins et l'état de santé du patient, elle est de 3 fois par semaine pour 36,36 % des patients, de 2 fois pour 54,55 % et d'une fois par semaine pour 9,09 %. La répartition des patients selon leurs fréquences de dialyse est représentée dans la figure n° 5

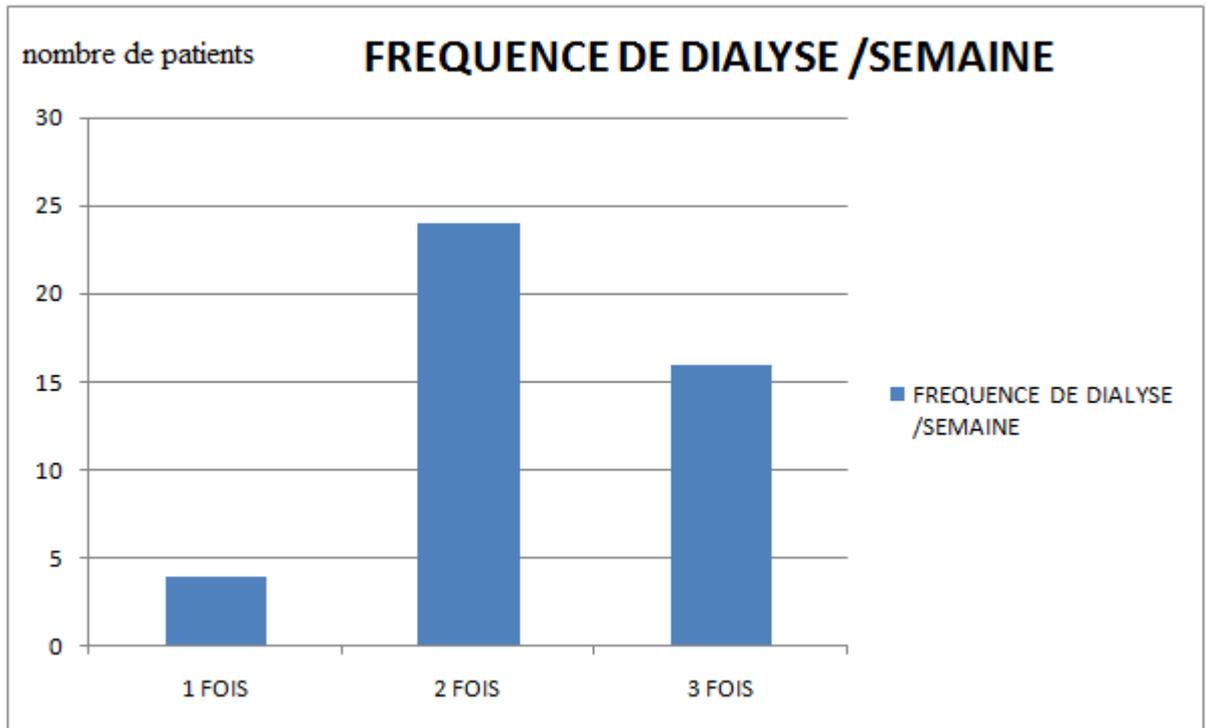


Figure 5: Répartition des patients selon la fréquence de dialyse

I.3. L'ancienneté de soins dans le service:

L'ancienneté de l'admission au service d'hémodialyse a été prise en compte dans cette étude, sur les 44 patients étudiés, 5 ont été admis depuis moins de 6 mois, 12 depuis 6 à 12 mois, mais la majorité d'entre eux (27) ont été admis depuis plus d'une année (Figure n°6)

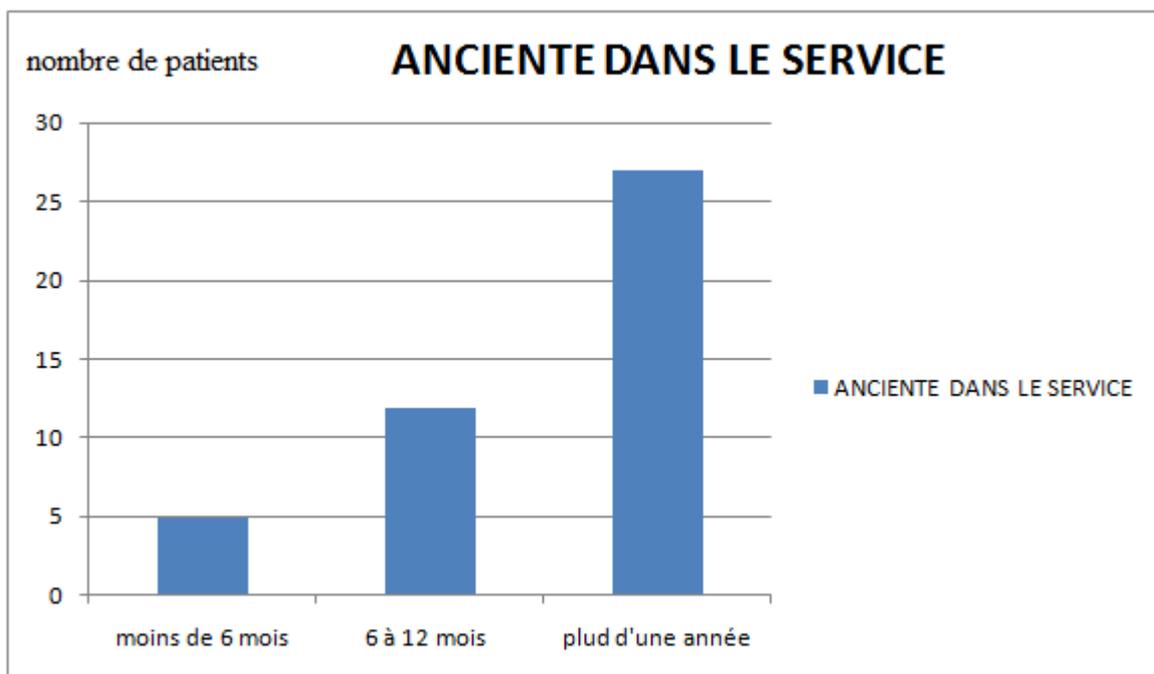


Figure 6 : Répartition des patients selon leur ancienneté de soins dans le service.

I.4. L'intervention chirurgicale

Sur la totalité des patients 28 ont subi au moins une intervention chirurgicale, contre 18 qui n'ont subi aucune (Figure n° 7)

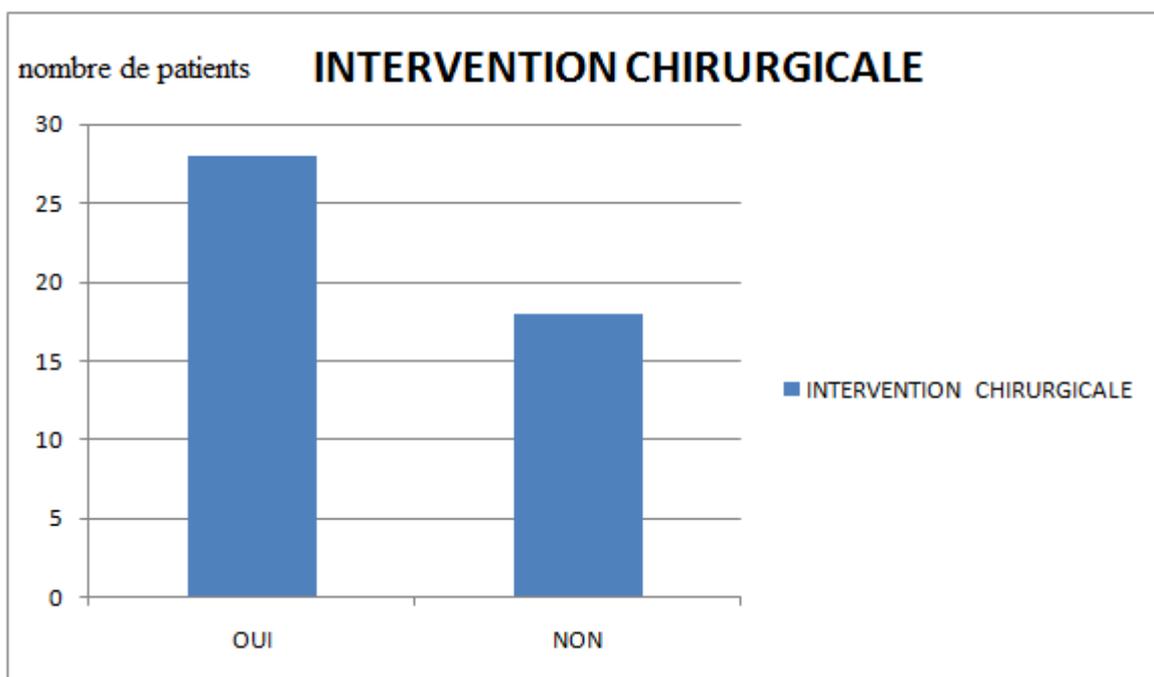


Figure 7 : Répartition des patients selon l'intervention chirurgicale

II .Eude du portage de *Staphylococcus aureus*

Les prélèvements sont effectués une fois pour chaque patient admis au service .

II.1. Le portage de *S. aureus*

Le taux de portage enregistré de *Staphylococcus aureus* est de 25 % . Les taux enregistrés chez les patients sous antibiothérapie, et les patients âgés entre 20 ans et 60ans et dialysés a une fréquence de 3 fois par semaine sont les plus élevés par rapport au patients sous aucune antibiothérapie, appartenant aux autres classes d'âge et de fréquence de dialyse inferieur à 3 fois par semaine. Chez les patients de sexe féminin les taux de portage enregistrés sont également plus élevés que ceux de sexe masculin (tableau n° IV)

Tableau n° IV : Répartition des taux de portage

	Sexe		Age			Antibiothérapie		Fréquence de dialyse		
	H	F	< 20 ans	de 20 à 60ans	60ans <	oui	non	1 fois	2 fois	3 fois
Nombre de patient	15	29	4	26	14	27	17	5	24	15
<i>S. aureus</i>	4	7	1	4	6	10	1	1	6	4
Taux de portage	26,66 %	24,14 %	25%	15,38 %	42,85%	37%	5,88%	20%	25%	26,67%

II .2. Etude du portage du SARM

Les taux de portage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline est de 25 %

Tableau n° V : Répartition des taux de portage de SARM

	Sexe		Age			Antibiothérapie		Fréquence de dialyse		
	H	F	< 20 ans	de 20 à 60ans	60ans <	oui	non	1 fois	2 fois	3 fois
Nombre de patient	15	29	4	26	14	27	17	5	24	15
<i>S. aureus</i>	4	7	1	4	6	10	1	1	6	4
Taux de portage	26,66 %	24,14 %	25%	15,38 %	42,85%	37%	5,88%	20%	25%	26,67%

Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* isolés (11 sur 11) ont été retrouvés résistantes à la méthicilline ; cette résistance a été détectée on utilisant des disques de Céfoxitine et en incubant à 37°C .

II.3.Résistance des souches SARM aux autres familles d'antibiotiques :

L'étude de la résistance des souches de SARM vis-à-vis d'autres familles antibiotiques a été réalisée. Les antibiotiques testés sont la Céfoxitine, Pénicillin G, Erythromycine, Rifampicine, Triméthoprime et Clindamycine. Les résultats sont représenté dans le tableau suivant.

Tableau n° VI : la résistance des souches de SARM isolées

CODE	CX (30)	E (15)	P(10)	DA(2)	RD(30)	SXT(25)
P 06	R	S	R	s	s	S
P 22	R	S	R	s	s	S
P 24	R	S	R	s	s	S
P 27	R	S	R	s	s	S
P 28	R	R	R	s	s	S
P 31	R	R	R	s	s	S
P 33	R	S	R	s	s	S
P 34	R	R	R	s	s	S
P 41	R	s	R	s	s	S
P 43	R	S	R	s	s	S
P 44	R	S	R	s	s	S

III. Etude du portage des entérobactéries :

le taux de portage des entérobactéries est de 34.09 %. L'identification des souches est révélées en utilisant les caractères biochimiques : fermentation des sucres, production de gaz, H₂S, TDA, indole, Citrate de Simmons, VP /RM, absence ou présence de l'uréase, nitrate réductase (voir annexe n° IV)

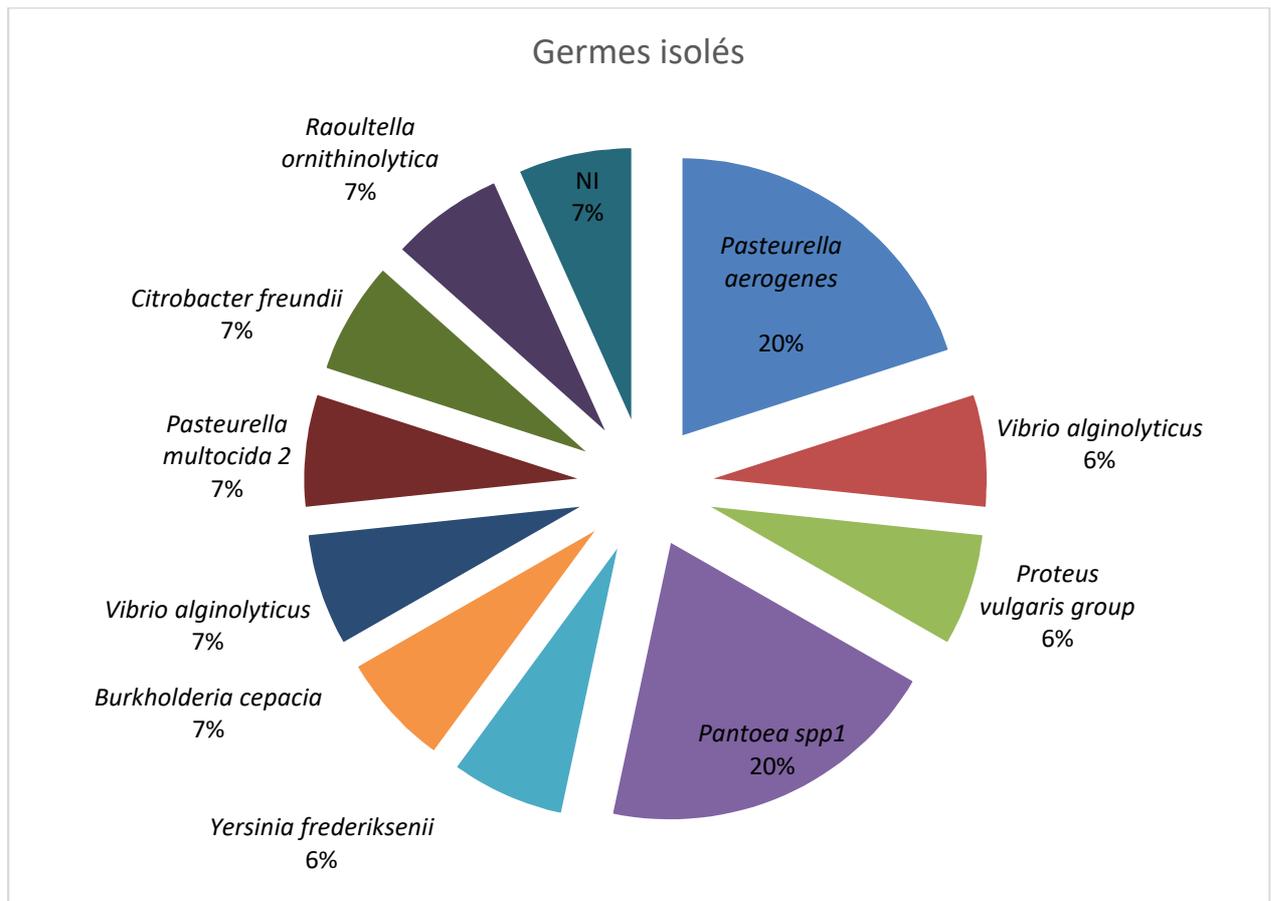


Figure 8 : Fréquences des bactéries isolées dans la flore nasale des patients

Un certain nombre d'antibiotiques est testé sur ces différentes souches afin de définir leurs sensibilités, un taux de 80 % était sensible envers AMC ainsi que les autres antibiotiques complémentaires (tableau n° VII)

Tableau VII : la résistance des souches d'entérobactéries isolées.

CODE	AMC	CAZ	CTX	IPM	OX	CIP
<i>Pasteurella aerogenes</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Vibrio alginolyticus</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Proteus vulgaris group</i>	R	R	S	S	S	S
<i>Pantoea spp1</i>	R	I	S	S	S	S
<i>Pasteurella aerogenes</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Yersinia frederiksenii/intermedia</i>	S	S	S	S	S	S
xxx	S	S	S	S	S	S
<i>Burkholderia cepacia</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Vibrio alginolyticus</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Pasteurella multocida 2</i>	R	I	S	S	R	S
<i>Pantoea spp1</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Citrobacter freundii</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Pantoea spp1</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Pasteurella aerogenes</i>	S	S	S	S	S	S

Discussion générale

Staphylococcus aureus est un germe appartenant à la flore commensale normale de l'homme, et les narines antérieures sont le réservoir primaire du portage et de la colonisation. Chez les patients hémodialysés, le portage nasal de *S. aureus* et le SARM joue un rôle clé dans les infections endogènes des patients et dans la diffusion des souches résistantes dans le service d'hémodialyse (Lederer et al, 2007 ; Alexander et al, 2011)

Le taux moyen de portage de *S. aureus* que nous avons obtenu (25 %) est supérieur à celui rapporté par Alexander et ses collaborateurs aux USA, qui varie de 16 à 24%, cependant, il est inférieur à celui rapporté par Lederer et collaborateurs, qui ont enregistré un taux de 53% (Lederer et al, 2007). Ceci nous conduit à dire que le taux obtenu est proche de ceux rapportés dans la bibliographie d'une manière générale.

Le taux de portage nasal de *S. aureus* rapporté chez les patients de sexe masculin est supérieur à celui du sexe féminin, ce résultat est semblable à ceux qui ont été rapportés aux USA par Alexander et ses collaborateurs et en Espagne par Pena et ses collaborateurs (Pena et al, 2004 ; Alexander et al, 2011). Par contre ce résultat est différent, si on le compare à celui obtenu par Saxena et ses collaborateurs en Arabie Saoudite, qui rapporte un taux de portage de *S. aureus* plutôt élevé chez les femmes.

Le taux de portage est plus élevé chez les patients âgés de plus de 60 ans correspond aux résultats rapportés dans l'étude de Saxena et ses collaborateurs en Arabie Saoudite (Saxena et al, 2004).

Dans toute l'étude , les taux de portage de *S. aureus* obtenus sont plus élevés chez les patients sous antibiothérapie récente que ceux des patients sous aucune antibiothérapie, ceci correspond aux données bibliographiques, notamment dans les travaux de Daeschlein et ses collaborateurs et Lederer et ses collaborateurs qui ont rapporté que l'antibiothérapie est un des facteurs de risque conduisant à une colonisation nasale par *S. aureus* (Daeschlein et al, 2006 ; Lederer et al, 2007).

Le taux de portage de *S. aureus* par fréquence de dialyse obtenu est plus élevé chez les patients qui se dialysent 3 fois par semaine, ceux-ci s'expliquent par le contact fréquent et permanent avec les structures de soins et les autres patients, augmentant ainsi le risque de

transmission des souches. Cette constatation est confirmée par plusieurs travaux, notamment ceux de Ghasemian et ses collaborateurs, Lederer et ses collaborateurs et Saxena et ses collaborateurs (Daeschlein et al, 2006 ; Lederer et al, 2007 ; Saxena et al, 2004).

Dans notre étude le taux de portage de SARM obtenu est de 25 %, il est plus important que ceux rapportés par Lai et ses collaborateurs ont rapporté un taux de 9,48% en Taiwan, Lederer et ses collaborateurs avec un taux de 12% en Allemagne, Saxena et ses collaborateurs de 10.70% en Arabie Saoudite et Alexander et ses collaborateurs, qui ont rapporté que la prévalence du portage de SARM dans un service de dialyse peut varier entre 3-7% (Lai et al, 2010 ; Saxena et al., 2004 ; Lederer et al., 2007; Alexander et al, 2011).

Cette augmentation est favorisée par le contact étroit des malades, qui sont regroupés dans des salles relativement petites ce qui permet de disséminer les souches par simple éternuement ou par transmission croisée entre le personnel soignant et les malades, ou par simple contacte avec d'autres patients. D'autre part, la pression de sélection sur les souches exercée par les traitements antigrippaux permet de sélectionner les souches de SARM, qui à leur tour se disséminent et colonisent d'autres patients.

Le taux obtenu par rapport au sexe sont relativement semblables, ceci est confirmé par l'étude réalisée par Hidron et ses collaborateurs qui ont rapporté des taux de portage de SARM très proche par rapport aux sexes (Hidron et al, 2005). Le taux de portage de SARM par âge était cohérent avec celui rapporté en Arabie Saoudite par Saxena et ses collaborateurs, qui ont enregistré un taux plus élevé chez les patients âgés de plus de 60 ans (Saxena et al, 2004).

Les patients sous antibiothérapie avaient les taux les plus élevés de portage de *S. aureus* résistant à la méthicilline, ceci va avec les résultats obtenus par Daeschlein et Lederer, ceci peut être expliqué par le fait que l'antibiothérapie exerce une pression de sélection sur les souches, permettant ainsi la survie et la colonisation des souches résistantes (Daeschlein et al, 2010 ; Lederer et al, 2007).

Le portage de SARM obtenus est plus élevé chez les patients dialysés 3 fois par semaine, ceci est explicable par la permanence de la fréquentation de l'hôpital et le contact répété avec les autres patients et du personnel soignant. Ces résultats concordent avec ceux observés par Saxena, Lederer et Ghasemian (Saxena et al., 2004 ; Lederer et al., 2007 ; Ghasemian et al, 2010).

La comparaison des profils de résistance des souches de SARM vis-à-vis d'autres antibiotiques nous a permis de conclure que les souches se répétant chez un même patient sont des dérivées de la même souche, car leurs profils de résistance sont très proches. Cette approche dans la caractérisation des doublons a été rapportée par Grohs et kac, qui ont mis en évidence une démarche basée sur la comparaison des profils de résistance des souches, ainsi un doublon a été défini comme une souche isolée dans moins d'un mois chez le même patient et ne présentant pas de différence dans son antibiogramme à plus de 3 antibiotiques par rapport à la première souche (Grohs et kac, 2005). Cependant, la seule manière de confirmer qu'il s'agit d'un même clone est la réalisation d'un typage moléculaire tel que le MLST ou le *spatyping*.

Le taux de portage d'entérobactéries est de 34.09 %, des souches moins connues que celles qui causent plus d'infections dans le monde à savoir *E. coli*, *Salmonella spp*, *Klebsiella spp*.

Trois souches d'entérobactéries ont été retrouvées résistantes à l'amoxicilline contre 12 souches qui étaient sensibles envers tous les antibiotiques testés, ainsi que l'absence de synergie confirmée.

CONCLUSION

Au cours de cette étude une série de prélèvements a été réalisée sur un nombre de 44 patients. 11 souches de *Staphylococcus aureus* ont été isolées et identifiées, donnant un taux de portage de 25 %, la répartition des taux de portage selon les caractéristiques des patients ont été plus importants chez les patients sous antibiothérapie, et les patients plus de 60 ans et ceux qui sont dialysés à une fréquence de 3 fois par semaine.

Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* isolées ont été retrouvées résistantes à la méthicilline, ce qui donne un taux de résistance global chez *S. aureus* de 100 %.

15 souches d'entérobactéries ont été isolées et identifiées donnant un taux de portage de 34,09% ; dont 20 % ont été retrouvés résistantes à l'amoxicilline.

Dans cette étude, il a été démontré que les taux de portage de *S. aureus* et de SARM dans le service d'hémodialyse sont relativement élevés par rapport à la population normale, ce qui augmenterait les risques d'infection pour les patients, de transmission croisée et de dissémination des souches dans le service, pour cela des mesures devront être prises afin de limiter ces risques, telles que :

- Respect des précautions de contact (port de blouse et gants lors des soins).
- Respect des recommandations des pratiques d'hygiène (lavages des mains et utilisation des solutions hydrologiques).
- Faire des dépistages pour identifier les porteurs et les isoler des autres afin de limiter la dissémination.

Cependant ces résultats restent préliminaires et nécessiteraient une étude complémentaire plus approfondie qui comporterait :

- ✓ L'étalement de la période d'étude,
- ✓ L'augmenter le nombre de patients et facteurs étudiés qui seraient impliqués dans le portage et la persistance de la colonisation.
- ✓ Et la confirmation de la clonalité des souches par des techniques de typage moléculaire.

Résumé :

But de l'étude: Estimation des taux de portage nasal de *Staphylococcus aureus* et d'entérobactéries chez les patients admis au service d'hémodialyse. **Méthodes :** des prélèvements nasaux ont été effectués au niveau du service d'hémodialyse à l'hôpital Frantz Fanon de Bejaia. Les isolats de *S. aureus* identifiés, présentant des résistances à la céfoxitine sont considérés comme étant des SARM, un certain nombre d'entérobactéries isolées et identifiées. Une analyse statistique a été réalisée afin de déterminer les facteurs de risque associés. **Résultats :** 11 souches de *S. aureus* ont été caractérisées chez 44 patients, donnant un taux de portage nasal de 25 % et du SARM de 100% .15 souches d'entérobactéries donnant un taux de portage de 39,09 %. **Conclusion :** les taux de portage de *S. aureus* et du SARM sont élevés chez les patients dialysés.

Mots clés: Portage nasal, *S. aureus*, SARM, entérobactéries, patients dialysés, CHU Frantz Fanon.

.....

Summary:

Purpose of the study: Estimation of nasal carriage rates of *Staphylococcus aureus* and enterobacteris in patients admitted to the hemodialysis service. **Methods:** Nasal samples were taken at the hemodialysis service at Frantz Fanon hospital in Bejaia. Isolated *S.aureus* isolates with resistance to céfoxitin are considered to be MRSA, a certain number of enterobacteria isolated and identified. A statistical analysis was performed to determine the associated risk factors. **Results:** 11 strains of *S. aureus* were characterized in 44 patients, giving a nasal carriage rate of 25% and MRSA of 100% .15 strains of enterobacteria giving a carriage rate of 39.09%. **Conclusion:** Carrier rates of *S. aureus* and MRSA are high in dialysis patients.

Key words: Nasal carriage, *S. aureus*, MRSA, enterobacteria, dialysis patients, CHU Frantz Fanon.

Références Bibliographique

1. ABHIJIT A et al. (2013). Study of urinary isolates with reference to extended spectrumbeta lactamases detection and antibiogram.Vol 2, Issue 9, p1052.
2. Alexandre EL, Morgan DJ, Kesh S, Weisenberg SA, Zaleskas A, Chevalier JM, Silberzweig J, Barron Y, Mediavilla JR, Kreiswirth BR et Rhee KY .(2011).Prevalence ,persistence and microbiology of *Staphylococcus aureus* nasal carriage among hemodialysis outpatients at a major New York Hospital Diag Microbiol Infect Dis. 70, 37-44 .
3. Avril J.L., Dabernat H., Denis F. and Monteil H. (2003). Bactériologie clinique. 3 ème édition. ellipses, Paris. 8-28.
4. Avril JL, Dabernat H, Denis F et Monteil H. (2000). Bactériologie clinique. Caractères généraux des Staphylococcus aureus. Ellipses, édition Paris. P. 7- 28.
5. Avril JL, Dabernat H, Denis F et Monteil H. (1992). Bactériologie clinique. 2 nd Edition, Ellipses, Paris.
6. BAKHOUM I. (2004). Contrôle de qualité et validation de différent micro méthodesd'identification bactérienne. Université Cheikh Antadiop de Dakar. Faculté de médecine,de pharmacie et d'endonostomatologie.
7. Blumberg R, Powrie F. 2012. Microbiota, disease, and back to health: ametastable journey. SciTransl Med 4:137rv137.
8. Brenner D.J.(1984).Enterobactereaceae.In :Krieg N.R.and Holt J.G.Bergey 's manual ofsystematic bacteriology.williams and wilkins,baltimore,vol.1,408-516.
9. Bronner S., Monteil H. and Prevost G. (2004). Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. FEMS Microbiol Rev. 28: 183-200.

10. BOURJILAT M. (2009). Etude prospective de la résistance chez E. coli dans l'hôpital de Meknès. Maroc. Eline. Microbial. Rev. 22, p 120-123.
11. CARBONNELLE B., DENIS F., MARMONIER A., PINON G et VARGUES R. (1987). Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. S.I.M.E.P. S. A., Paris, p 121-137;146-155.
12. Cho I, Blaser MJ. 2012. The human microbiome: at the interface of health and disease. Nat Rev Genet 13:260–270.
13. Costerton J.w., Irvin R.T.5, (1981). The bacterial glycocalyx . In: nature and disease. Ann.Rev. Microbiol .35:299-324.
14. Couture B. (1990). Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris. 15-32.
15. Daeshlein G, Assadian O, Daxboek F, et Kramer A (2006) . Multiplex PCR-ELISA for direct detection of MRSA in nasal swabs advantageous for rapid identification of non-MRSA carriers . Eur J Microbiol Infect Dis. 41, 159-66 .
16. Denis F, Ploy MC, Martin C, Bingen E et Quentin R. (2011). 2nd Edition. P. 287-320.
17. Dethlefsen L, Relman DA. 2011. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. Proc Natl AcadSci U S A 108(Suppl 1):4554–4561.
18. Dien Bard J, Hindler JA, Gold HS, Limbago B. Rationale for eliminating Staphylococcus breakpoints for β -lactam agents other than penicillin, oxacillin or cefoxitin, and ceftaroline. Clin Infect Dis. 2014;58(9):1287-1296.
19. DRAME B. (2001). Microméthode d'identification et l'étude de la sensibilité des entérobactéries: intérêts thérapeutique. Thèse pharm. Université Dakar, n ° 86.

20. Ferron A. (1984). Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12ème édition. CROUAN et ROQUES, Paris. 87-94.
21. FRENEY J, RENAUD P, LECLERCQ R et RIEGL P. (2007). Précis de bactériologie clinique. 2ème Ed ESKA. p153 et 1012 1013.
22. Gordon RJ et Lowy FD . (2008). Pathogenesis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection .Clin Infect Dis.46 , 350-359 .
23. Hidron AI, Kourbatova EV, Halvosa JS, Terrell BJ, McDougal LK, Tenover FC, Bumberg HM , et King MD. (2005) . Risk Factors for Colonization with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in patients Admitted to an Urban Hospital : Emergence of Community-Associated MRSA Nasal Carriage .Clin Inf Dis .41, 1559-66 .
24. Hill DA, Hoffmann C, Abt MC, Du Y, Kobuley D, Kirn TJ, Bushman FD, Artis D. 2010. Metagenomic analyses reveal antibiotic-induced temporal and spatial changes in intestinal microbiota with associated alterations in immune cell homeostasis. Mucosal Immunol 3:148–158.
25. Jarlier et al. Bêta-lactamases à large spectre étendues conférant une résistance transférable aux nouveaux agents bêta-lactamines chez les Enterobacteriaceae: prévalence à l'hôpital et profils de sensibilité. 1988 juillet-août; 10 (4): 867-78.
26. Larpent J.P., Larpent-Gourgaud M. (1985). In : élément de microbiologie. Hermès, Paris.
27. Leboffe, MJ et Pierce, BE (2011). Atlas photographique pour le laboratoire de microbiologie: Test de catalase. 4e édition, Morton Publishing Company, Englewood, 75.
28. Lederer SR, Riedelsdorf G et Shiffl H. (2007). Nasal carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* : The prevalence , patients at

- risk and the effect of elimination on outcomes among outclinic haemodialysis patients . Eur J Med Res . 12, 1-5 .
- 29.Lostrup CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. 2012.Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. Nature489:220–230.
- 30.Nauciel C. (2005). ABREGES connaissances et pratique « Bactériologie médicale ». 2ème édition. MASSON, Paris. 83-85.
- 31.Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, Pettersson S. 2012. Host-gutmicrobiotametabolic interactions. Science336:1262–1267.
- 32.PHILIPPON A. (2000). Cours de bactériologie général : Entérobactéries. Faculté demédecine Cochin-Port-Royal Paris, France.
- 33.PIERRE, MARIE CURIE. (2002-2003). Bactériologie. DCEM1. Université Paris-VI.Faculté de médecine Pitié-Salpêtrière.
34. SAXENA A., PANHOTRA B., CHOPRA R. 2004. Advancing age and the risk of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among patients on long-term hospital-based hemodialysis. Ann Saudi Med. 24: 337-342 .
- 35.SINGLETON P. (1994). Abrégés de bactériologie. Ed Masson, Paris. p122
- 36.Sivaraman A, Seifried SE, Zhu L, Srivastava DK ,Perkins R, Shenep JL, Bankowski MJ, et Hayden RT. (2010). Increasing Prevalence of Nasal and Rectal Colonization with Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Children with Cancer .Ped Blood Cancer .DOI.10.1002/pbc.22815 .
- 37.Skov R, Matuschek E, Sjölund-Karlsson M, et al. Development of a pefloxacin disk diffusion method for detection of fluoroquinolone-resistant *Salmonella enterica*. J Clin Microbiol. 2015;53(11):3411-3417.
- 38.Spicer W.J. (2003). Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 28-29.

39. Stecher B. 2015. The Roles of Inflammation, Nutrient Availability and the Commensal Microbiota in Enteric Pathogen Infection, *Microbiol Spectrum* 3(3):MBP-0008-2014
40. Walker AW, Ince J, Duncan SH, Webster LM, Holtrop G, ZeX, Brown D, Stares MD, Scott P, Bergerat A, Louis P, McIntosh F, Johnstone AM, Lopley GE, Parkhill J, Flint HJ. 2011. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *ISMEJ* 5:220–230.
41. Weigelt . (2006). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. USA . Medical College of Wisconsin State. Pp. 1-3.
42. Williams REO. (1963) Healthy carriage of *Staphylococcus aureus* : its prevalence and importance .*Bacteriol Rev* .27, 56-71.
43. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, Bewtra M, Knights D, Walters WA, Knight R, Sinha R, Gilroy E, Gupta K, Baldassano R, Nessel L, Li H, Bushman FD, Lewis JD. 2011. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 334:105–108.
44. Yan X, Song Y , Tao X, Yan J, Luo F, Zhang H, Li Q, He L, Li S , Meng F, Zhang J et Grundmann H. (2004). Factors associated with *Staphylococcus aureus* nasal carriage among healthy people in Northern China . *Clin Microbiol Infect*. 21, 157-162.
45. Zhang X, Zhao Y, Zhang M, Pang X, Xu J, Kang C, Li M, Zhang C, Zhang Z, Zhang Y, Li X, Ning G, Zhao L. 2012. Structural changes of gut microbiota during berberine-mediated prevention of obesity and insulin resistance in high-fat diet-fed rats. *PLoS ONE* 7:e42529.

ANNEXE I : milieux de culture utilisés

1. Milieux de culture et composition

- Milieu gélosé de Chapman

Extrait de viande1g
Chlorure de sodium75g
Peptone10g
Gélose.....15g
Mannitol.....10g
Rouge de phenol.....0.025g
PH = 7,4

- Mac Conkey

Peptones de viande20g
Chlorure de sodium5g
Cristal violet0.001g
Sels biliaires1.5g
Rouge neutre0.05g

Sucre10g

Agar-Agar15g

PH = 7,2

- Milieu V.R.B.L

Peptone pepsique de viande7g
Extrait autolytique de levure3g
Lactose10g
Sels biliaires.....1.5g
Chlorure de sodium5g
Rouge neutre0.03g
Cristal violet0.002g
Agar agar bactériologique12g
PH = 7,4

- Milieu Muller-Hinton

Infusion de viande de bœuf300g
Hydrolysant de caséine17.5g
Amidon1.5g
Gélose.....10g
pH = 7,4

-Bouillon cœur-cerveille (BHIB)

Extrait cœur-cerveille	450g
Peptone pancréatique de gélatine	10g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate disodique	2.5g
Glucose	2g
pH = 7,4	

2. Coloration de GRAM

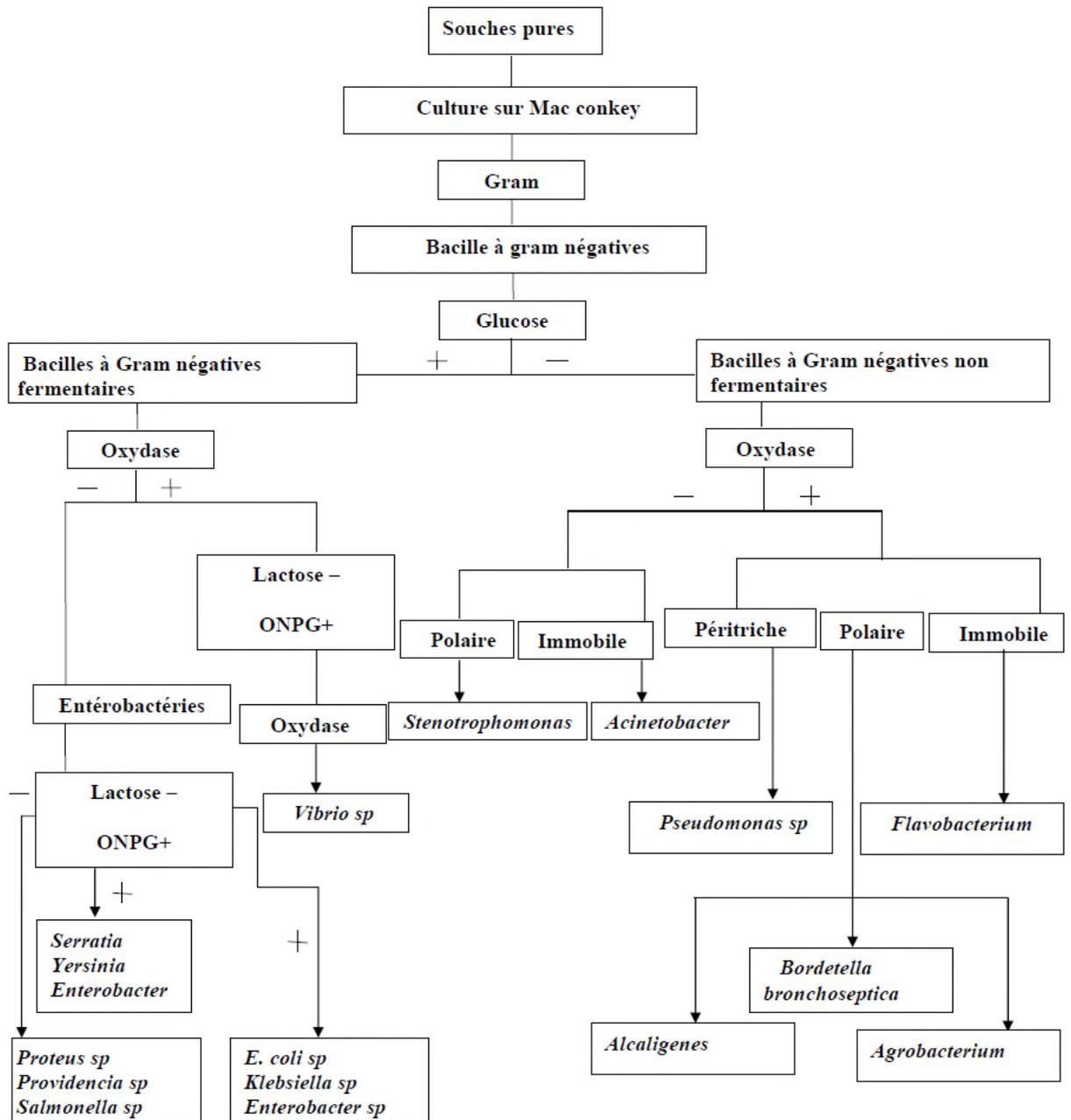
Préparation de frottis

- Prélever une goutte de la suspension bactérienne et la déposer au centre de la lame ;
- Étaler avec l'anse sur la lame, de façon à obtenir un étalement mince de 1 à 2 cm ;
- Sécher et fixer en portant la lame au-dessus de la flamme du Bec Bunsen.

Coloration

- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane sur le frottis fixé, et laisser agir 1 minute puis jeter l'excès ;
- Déposer quelques gouttes de lugol, laisser en contact quelques secondes ;
- décolorer à l'éthanol absolu jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes) ;
- Rincer à l'eau rapidement ;
- Contre-colorer en déposant la Fushine diluée pendant 1 minute ;
- Rincer à l'eau ;
- Laisser sécher à l'air ;
- Déposer une goutte de l'huile à immersion ;
- Observer au microscope optique (G : 100), la forme, la couleur, et le Gram (Gram + : couleur violette ; Gram - : couleur rose).

Annexe II: Algorithme d'identification des principaux genres de bacilles à Gram Négatives



Annexe III: Principaux caractères biochimiques différentiels des genres et espèces d'Entérobactéries rencontrés fréquemment en pathologies humaines. (D'après Le Minor et Richard ,1993).

	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Levinea</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus morganii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
Mobilité	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Teste ONPG	-	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	+	+
H ₂ S	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
LDC	+	-	-	d	-	+	-	+	-	-	-	-	-
ODC	+	-	+	d	d	-	+	+	-	+	+	+	-
ADH	-	-	d	d	d	-	+	-	-	-	-	-	-
Uréase	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
TDA, PDA	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Indole	-	-	+	+	d	-	-	-	+	-	+	d	-
Citrate de Simmons	+	+	+	-	-	+	+	d	d	d	-	-	-
Malonate	-	-	d	-	-	+	+	d	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	+	+	+	-	d	-	d	-
TTR	+	+	d	-	-	-	-	d	+	+	+	d	-
Gélatinase	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Gaz/Glucose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
Mannitol	+	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	+	+
Rhamnose	+	+	+	d	d	+	+	+	-	-	-	-	+
Saccharose	-	d	d	d	-	+	+	-	+	d	d	+	-
Arabinose	+	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	+	d
Inositol	d	-	-	-	-	+	d	-	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	d	-	-	+	d	-	-	-	-	-	-
Galacturonate	-	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	+	d

+ : positif en 1 et 2 jour

- : négatif

d : différents types biochimiques

TTR : tétrathionate-réductase

ONPG : orthonitrophényl-β-D-galactopyranoside

VP : réaction de voges-proskauer

TDA, PDA : désaminase du tryptophane et de la phénylalanine

LDC : lysine-décarboxylase

ODC : ornithine-décarboxylase

ADH : arginine-dihydrolase

Annexe IV : renseignements sur les patients

CODE	DANS BHIB	1 ^{er} dialyse	maladies
P 01	positif	oct-89	hépatite C,hyperparatheroide,tumeur de sein,erythropétine
P 02	positif	03/11/2010	hypertension arteriel, Anémie
P 03	positif	29/12/2009	HTA, anémie
P 04	positif	23/04/2018	Cardiomyopathie dilatées,
P 05	positif	14/05/2018	Diabète, HTA
P 06	positif	11/11/2002	HTA, polyarthrite rhumatoide, infection peau
P 07	negatif	26/12/2017	Diabète,HTA,cécité
P 08	positif	juin-90	HTA
P 09	positif	août-97	endocardite, dialyse péritoniale
P 10	positif	05/09/2016	spina bifida, vascularite ophtalmique, incontenance urinaire
P 11	negatif	22/02/2015	HTA, handicapie
P 12	negatif	08/06/2007	HTA
P 13	positif	21/03/2013	Diabète, HTA
P 14	positif	14/06/2012	HTA, cécité
P 15	positif	16/05/2012	Diabète, HTA, rétinopathie diabétique
P 16	positif	juin-18	HTA, diabète, goutte, calcul renaux bilatéraux
P 17	positif	sept-18	insufisance rénale indeterminée
P 18	negatif	21/04/2016	hyalinose segmentaire et focale (HSF)
P 19	positif	22/04/2015	HTA, Diabète
P 20	positif	déc-01	HTA, Arthrose
P 21	positif	févr-19	HTA, Eukistose , cardiopathie
P 22	positif	24/01/2019	insufisance rénale indeterminée
P 23	positif	25/03/2003	HTA, dialyse péritoniale,
P 24	positif	26/03/2008	HTA, diabète, rétinopathie diabétique
P 25	positif	21/01/2014	HTA

P 26	positif	août-17	Polykystose rénale
P 27	positif	25/12/2004	HTA, dialyse péritoniale, arthrose
P 28	positif	06/09/2018	HTA
P 29	positif	15/03/2018	insuffisance rénale indéterminée
P 30	negatif	févr-19	Diabète, Anémie
P 31	positif	14/02/2012	HTA, gastrite
P 32	negatif	12/07/2015	HTA
P 33	positif	févr-19	HTA (décidé)
P 34	positif	18/08/2007	Polykystose rénale
P 35	positif	30/04/2018	HTA, cholécystectomie ,
P 36	negatif	sept-93	HTA, goitre multinodulaire (GMN),gastrite antrale érosive
P 37	negatif	mai-18	Diabète, HTA
P 38	negatif	janv-18	insuffisance rénale indéterminée
P 39	positif	31/07/2009	HTA, GMN, Fibrillation auriculaire (ACFA)
P 40	negatif	12/03/2007	Amygdalectomie, HTA, gastro oesophagite
P 41	positif	11/07/2016	HTA
P 42	positif	08/02/2019	insuffisance rénale indéterminée
P 43	positif	06/06/2016	vessie neurologique, scoliose lombaire
P 44	positif	02/11/2016	HTA, GMN