

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Abderrahmane-Mira de Bejaïa  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de microbiologie

Mémoire de fin d'études  
Présenté en vue de l'obtention du diplôme de master  
Filière : Science écologique Spécialité : écologie microbienne

# Thème

**Evaluation de la prévalence de *Staphylococcus aureus* et  
d'*Escherichia coli* dans les différentes infections Humaines**

Présenté par :

Melle Idir Leticia/

Melle Kerkour Kenza

Soutenu le : 10 Septembre 2023

Devant le jury composé de :

Mr Ladjouzi R.

MAA

Président

Mme Benachour K.

MAA

Promotrice

Mr Belhadi D.

MCA

Examineur

Année universitaire : 2022 / 2023

## Remerciements

En premier lieu nous tenons à remercier Allah, notre créateur, qui nous a donné la capacité de compléter ce travail et qui nous a aidé à dépasser toutes les difficultés que nous a rencontré.

Nous tenons à remercier notre chère promotrice madame Benachour K., pour sa patience, son soutien tout au long de la période de réalisation de ce travail, la remercier pour sa gentillesse, sa disponibilité, ses conseils intéressants et ses encouragements.

Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble du personnel du CHU Khelil Amrane Bejaia, pour leur collaboration sans failles et pour leur disponibilité dans toute la période de notre stage.

On exprime notre profond remerciement à Dr Benyoucef ; directeur du laboratoire central au CHU Khelil Amrane ainsi que Dr Belkacemi, médecin microbiologiste.

Nous exprimons toute notre reconnaissance à Mr Ladjouzi R. d'avoir bien voulu accepter de présider le jury.

Mr Belhadi D. trouve ici l'expression de nos vifs remerciements pour avoir bien voulu juger ce modeste travail.

Nous témoignons notre reconnaissance envers notre chef de Département Mr Boukhalfa ainsi que tous nos enseignants qui nous ont guidé jusque-là, c'est en une grosse partie grâce à eux que nous sommes arrivée à ce jour, nous vous remercions du plus profond de nos cœurs.

Afin de n'oublier personne, nos vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui nous ont aidés à la réalisation de ce mémoire.

## **Dédicace**

Je dédie ce modeste travail à A mon très cher père Mohamed. Nulle dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon bien être. Ce travail est le fruit des sacrifices que tu as consentis pour ma formation.

### **A ma très chère mère Fouzia**

Aucune dédicace ne saurait être assez verveuse pour exprimer ce que tu mérites, tu es l'exemple du dévouement qui n'a cessé de m'encourager et de prier pour moi, tu m'as accompagné tout au long d'un chemin plein d'entraves au long de mes études. Aucun discours ne pourrait témoigner de mon profond amour et ma reconnaissance tu avais des rêves mais tu les as souvent abandonnées pour nous permettre à moi et mes frères de vivre les nôtres, et surtout aucune dédicace ne pourra acquitter le prix de ton sacrifice. Tu as payé le prix cher en sacrifiant ton avenir et ta carrière pour notre éducation et pour cela je te suis très reconnaissante

### **A mes sœurs Lyliya, Ludmilia et Lina**

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je port pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite

### **A mes petits frères Yahia et Rayane**

Je vous dédie ce modeste travail avec tous mes vœux de bonheur, que dieu vous bénisse et vous guide vers le meilleur.

### **A mon grand-père Nour Dine et à ma grand-mère Houria**

J'exprime à travers ce modeste travail ma profonde gratitude et ma reconnaissance ainsi que mes sincères remerciements pour votre soutien et vos encouragements qui m'ont suivis tout au Long de ma vie, que dieu vous garde pour moi vous êtes les meilleurs grands parents du monde.

### **A la mémoire de mon grand-père Hachemi et à ma grand-mère Tassadit**

Je n'ai pas pu réaliser ce travail en ta présence cher grand père et voilà que je le dédie à ta mémoire, tu me manques énormément et je prie dieu chaque jour pour qu'il t'accueille dans son vaste Paradis. Merci à toi aussi Grand-mère pour ta gentillesse et tes prières.

### **A Tina et Sabrina du laboratoire de CHU Khalil Amrane**

Je dédie mon travail à ses formidables femmes qui ont su m'orienter et me soutenir lors de ma période de pratique.

*Idir Leticia*

## **Dédicace**

Je dédie ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu tout puissant :

### **A ma très chère mère Nora**

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

### **A mon cher père Noureddine**

Aucune dédicace ne saurait traduire la profondeur des sentiments d'affection, d'estime et de respect envers un être cher. J'ai vécu dans l'admiration de ta grande personne, tu es pour moi le symbole de l'honnête, de la justice et de la bonté. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Puisse ton existence, pleine de droiture, de franchise et de sagesse me servir d'exemple dans l'exercice de ma profession

### **A mon chère frère Abdelhakim**

Tu as toujours été présent à mes côtés pour les bons conseils, ton soutien m'a été d'un grand secours au long de ma vie, veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous tes efforts avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Finalement, j'adresse mes chaleureux remerciements à tous les membres de ma famille, mes amies, et à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

***Kerkour Kenza***

# Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction .....	1

## *Partie 01 : Synthèse bibliographique*

I. Infections général .....	3
I.1. Définition .....	3
I.2. Infections bactériennes .....	3
I.2.1. Différents types d'infections bactériennes.....	4
I.3. Chaîne de transmission de l'infection .....	4
I.3.1. Agent infectieux.....	5
I.3.2. Réservoir ou la source.....	5
I.3.3. Porte de sortie.....	5
I.3.4. Mode de transmission.....	6
I.3.5. Porte d'entrée .....	6
I.3.6. Hôte réceptif.....	6
II. <i>Escherichia coli</i> .....	6
II.1. Taxonomie.....	6
II.2. Caractéristiques biochimique et antigénique .....	7
II.3. Infections à <i>Escherichia coli</i> .....	7
II.4. Résistance aux antibiotiques.....	8
II.4.1. Résistance naturelle.....	8

II.4.2. Résistance acquise .....	8
<i>III. Staphylococcus aureus</i> .....	8
III.1. Taxonomie .....	9
III.2. Caractères biochimiques .....	9
III.3. Infections à <i>S. aureus</i> .....	10

## ***Partie 02 : Partie pratique***

I. Matériel et méthodes.....	11
I.1. Lieu et objectif du travail.....	11
I.2. Prélèvements.....	11
I.2.1. Prélèvement à partir des surfaces sèches (nasale) .....	11
I.2.2. Prélèvement à partir des surfaces humides (pus).....	11
I.2.3. Prélèvement à partir du sang (hémoculture) .....	11
I.2.4. Prélèvement à partir des urines (ECBU).....	11
I.3. Conditions de prélèvement et isolement .....	13
I.3.1. Prélèvement nasal .....	13
I.3.2. Prélèvement de pus .....	13
I.3.3. Prélèvement de sang .....	13
I.3.4. Prélèvement d'urine (ECBU) .....	13
I.4. Purification et conservation .....	13
I.5. Identification .....	14
I.5.1. Examens macroscopiques .....	14
I.5.2. Examens microscopiques.....	14
I.5.3. Tests biochimiques .....	15
1) Recherche de la catalase.....	15
2) Recherche de la coagulase.....	15
I.6. Antibiogramme .....	17
II. Résultats et discussion .....	21

II.1. Prélèvement.....	21
II.2. Isolement et identification .....	21
II.2.1. Identification morphologique .....	21
II.2.2. Identification biochimique pour <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
I.3.Fréquence d'isolement de <i>S. aureus</i> .....	23
II.4. Identification biochimique pour <i>E.coli</i> .....	23
II.4.1. Test de nitrate réductase .....	23
II.4.2. Test de RM et du VP .....	24
II.4.3. Recherche de l'utilisation du citrate.....	24
II.4.4. Test du mannitol mobilité .....	24
II.4.5. Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase .....	24
II.5. Résistance aux antibiotiques.....	25
Conclusion .....	26

Références bibliographiques

Résumé

## *Liste de figure*

- Figure 1 : Chaine de transmission des infections..... 5
- Figure 2 : Répartition globale des prélèvements selon le service .....21
- Figure 3 : Répartition des souches selon leur production de coagulase.....23
- Figure 4 : Pourcentage de résistance des *S. aureus*..... 25
- Figure 5 : Pourcentage de résistance des *E. coli* .....25

## ***Liste des tableaux***

- Tableau 1 : Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli*.....7
- Tableau 2 : caractères biochimiques de *S. aureus* ..... 9
- Tableau 3 : Date nature et service des prélèvements .....12
- Tableau 4 : Les Antibiotiques pour *Escherichia coli* .....18
- Tableau 5 : Les Antibiotiques pour les Staphylococcus ..... 19
- Tableau 6 : Résultats de pré-identification par les techniques microbiologiques..... 22

## *Liste des abréviations*

- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **CHU** : centre hospitalier universitaire
- **CLSI** : Clinical Laboratory Standard Institute
- **EAHC** : entéro-hémorragique *Escherichia coli*.
- **ECBU** : examen cyto bactériologique des urines
- **EIEC** : entéro-invasif *Escherichia coli*.
- **EMB** : *Eosine Méthylène Blue*
- **EPEC** : entomopathogènes *Escherichia coli*.
- **ETEC** : entéro-toxinogènes *Escherichia coli*.
- **IVU** : infection des voies urinaire.
- **J1, J5, J10** : jours 1, 5,10
- **ORL** : oto-rhino-laryngologiste
- **RM** : rouge de méthyle
- **SARM** : *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline.
- **SCN** : *staphylocoques* à coagulas négative
- **TRI** : TEM résistant inhibiteur
- **VP** : Voges Proskauers
- **CLSI** : Clinical Laboratory Standard Institute
- **EMB** : Eosine Méthylène Blue
- **ORL** : oto-rhino-laryngologiste

## Résumé :

L'analyse de 30 échantillons issus des prélèvements hospitaliers dont l'objectif est de déterminer la prévalence des infections Humaine à *Staphylococcus aureus* et *d'Escherichia coli* au niveau du CHU de la wilaya de Bejaia, a montré la présence de 06 *S. aureus* avec un pourcentage de 20% et 07 *d'Escherichia coli* avec un pourcentage de 23%.

L'isolement et l'identification des souches de *Staphylococcus aureus* et *d'Escherichia coli* ont été fondés sur des méthodes microbiologiques basées sur les caractères morpho-biochimiques.

On a pu identifier quelques facteurs de risque, et étudier la sensibilité des souches isolées, pour certains antibiotiques à usage thérapeutique, par la méthode de diffusion en milieu gélosé de Mueller-Hinton.

Les résultats de l'antibiorésistance montrent que nos souches isolées de *Staphylocoque aureus* présentent une résistance de 67% à la Tétracycline (**TET**). Pour la Vancomycine (VAN) et la Kanamycine (KMN), le taux de résistance est moins de 44%. Enfin pour l'Oflaxacin (OFX) la résistance est notée par 30% et les souches isolées de *d'Escherichia coli* présentent une résistance de 57,75% à la Céfazoline (CZN). Pour la Ciprofloxacine (CIP), le taux de résistance est de 40,20%, pour l'Amikacine (AKN) la résistance est notée par 14,70% et enfin Céfoxitine (FOX) la résistance est de 12,12%

La majorité des infections Humaine sont due principalement par les *Staphylococcus aureus* et *d'Escherichia coli*.

## Summary:

The analysis of 30 samples from the hospital whose objective is to determine the prevalence of human infections with *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in the CHU of the wilaya of Bejaia, showed the presence of 06 *S.aureus* with a percentage of 20% and 07 of *Escherichia coli* with a percentage of 23%.

The isolation and identification of strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were founded on microbiological methods based on morpho-biochemical characters.

We were able to identify some risk factors, and study the sensitivity of the isolated strains, for some antibiotics of therapeutic use, by the diffusion method in Mueller-Hinton agar medium.

The results of antibiotic resistance show that our isolated strains of *Staphylococcus aureus* have a resistance of 67% to Tetracycline (**TET**). For Vancomycin (VAN) and Kanamycin (KMN), the resistance rate is less than 44%. Finally for Oflaxacin (OFX) the resistance is noted by 30% and the strains isolated from *Escherichia coli* present a resistance of 57,75% of Cefazolin (CZN). for Ciprofloxacine (CIP), the rate of resistance is 40,20%, for Amikacin (AKN) the resistance is noted by 14,70% and finally Cefoxitin (FOX) resistances is 12,12%.

The majority of human infections are mainly caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

# Introduction

L'être Humain peut être infecté par des bactéries de manière endogène, à partir de ses flores bactériennes (commensales ou colonisatrices), ou de manière exogène, en interagissant avec son environnement (air, surfaces, eau, sol, alimentation, etc.) ou d'autres êtres vivants (plantes, insectes, mammifères, etc.), notamment une personne porteuse d'une bactérie pathogène (**Ophélie Perrot, 2022**).

De nombreuses infections sont provoquées par des espèces de bactéries qui sont pourtant présentes chez la plupart des personnes sans causer de maladie. Souvent, ces bactéries deviennent pathogènes lorsqu'elles se trouvent à un endroit du corps où elles ne devraient pas être présentes, ou en nombre anormalement élevé lors d'une baisse des défenses immunitaires. (**Cheriet et al., 2020**).

*Escherichia coli* appartient à la famille des entérobactéries. Celles-ci sont communes dans l'intestin de l'Homme et des animaux sans provoquer de maladie ; en fait, elles sont même utiles et font partie de la flore intestinale normale. Mais *Escherichia coli* peut causer des infections lorsqu'elle est présente dans d'autres parties du corps (infections urinaires, intra-abdominales et méningites). Certaines souches pathogènes d'*Escherichia coli* (la souche O157:H7, qui produit une toxine) circulent entre l'animal, les denrées alimentaires et l'Homme, chez qui elles peuvent provoquer fièvre, nausées, vomissements, crampes d'estomac et des diarrhées, qui exceptionnellement peuvent être fatales.

*Staphylococcus aureus* qui fait partie de la flore microbienne de la peau d'environ un tiers de la population, sans provoquer de maladie. Selon la souche de *Staphylococcus aureus* et l'état du système immunitaire de la personne infectée, il peut provoquer des infections de la peau, des tissus mous, du sang ou même des os. À l'hôpital, il est la cause la plus fréquente d'infections des plaies chirurgicales (**Samou, 2005**).

Les infections causées par ces deux bactéries surviennent plus souvent l'été ; une période où la chaleur et l'humidité favorisent la croissance bactérienne.

Les dépistages épidémiologiques constituent un mécanisme de base pour la reconnaissance des causes, savoir les facteurs de risques et la protection de ces types d'infections ; d'une manière simple et à coût réduit. Cet avantage est d'ailleurs plus important dans les pays de faible niveau socio-économique comme l'Algérie.

# Introduction

Les objectifs de ce travail visent, par le biais des méthodes microbiologiques et des enquêtes épidémiologiques de déterminer la prévalence des infections Humaines à *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* dans le CHU de la wilaya de Bejaia, identifier quelques facteurs de risque, étudier la sensibilité aux antibiotiques de ces bactéries responsable d'infections Humaine.

C'est dans ce contexte général que nous avons été amenés à entreprendre ce présent travail qui a été réalisé au laboratoire de microbiologie du CHU Khalil Amrane Bejaia. L'étude est subdivisée en deux parties :

- La première partie consiste en une synthèse bibliographique donnant des notions générales sur les infections Humaines, généralités sur les *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.
- La deuxième partie est l'étude expérimentale qui englobe la partie matérielle et méthodes utilisées dans ce travail suivi des résultats obtenus et discussion. Enfin ; une conclusion est présentée.



## **Partie 01 : Synthèse bibliographique**

## I. Infections

### I.1.Définitions

Une infection, autrement dit une maladie infectieuse, désigne l'envahissement puis la multiplication d'un micro-organisme pathogène, appelé agent infectieux. Les agents causaux varient chez l'homme. Ils peuvent être responsables de maladies plus ou moins graves et toucher tous les organes ou systèmes de l'organisme. Ces agents peuvent être des bactéries, des virus, des parasites, ou encore des champignons, responsables de mycoses. La prise en charge de ces maladies diffère selon la nature de l'agent infectieux en cause (**Heart et al., 2006**).

Les maladies infectieuses sont les maladies les plus fréquentes, plus de tiers des malades hospitalisés reçoivent au moins un antibiotique. Les infections peuvent être qualifiées de plusieurs façons : par l'agent pathogène (infection bactérienne, virale, mycosique...) ; par le mode de contamination (infection communautaire ou nosocomiale ; infection opportuniste...) ou par l'organe atteint (infection cutanée, pulmonaire ou urinaire...) (**Labayle, 2000**).

### I.2.Infections bactériennes

Une infection bactérienne est une réaction de l'organisme lorsqu'il a été attaqué par des bactéries nuisibles qui augmentent en nombre et provoquent une réaction dans le corps.

Ces bactéries nocives peuvent pénétrer dans l'organisme par une lésion de la peau ou par les voies respiratoires et provoquer des infections. Bien que toutes les bactéries ne soient pas mauvaises, les bactéries pathogènes nous sont nuisibles lorsqu'elles peuvent provoquer des maladies et présentent des symptômes qui peuvent varier en fonction de la localisation de l'infection et du type de bactérie qui en est à l'origine (**Larry et Bush,2018**).

Cependant, certains signes généraux d'une infection bactérienne sont les suivants :

- Fièvre
- Sensation de fatigue
- Ganglions lymphatiques enflammés dans le cou, les aisselles ou l'aîne
- Mal de tête

- Nausées ou vomissements

### I.2.1. Différents types d'infections bactériennes

Tous les micro-organismes n'ont pas les mêmes capacités à provoquer des infections, certains étant pratiquement toujours associés à des manifestations cliniques, alors que d'autres provoquent rarement des maladies (**Petignat et al., 2006**).

Les deux bactéries causales en particulier responsable d'infection les plus communes sont *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*,

Elles peuvent provoquer des otites , et aussi des :

- Infections bactériennes cutanées
- Infections bactériennes ORL
- Infections bactériennes broncho-pulmonaires
- Infections bactériennes digestives
- Infections bactériennes génitales
- Infections urinaires
- Infections cardiovasculaires
- Angines bactériennes

### I.3. Chaîne de transmission de l'infection

La chaîne de transmission de l'infection est composée de six maillons (figure 01), soit : l'agent infectieux, le réservoir, la porte de sortie, le mode de transmission, la porte d'entrée et l'hôte réceptif. La transmission a lieu lorsque les six éléments de la chaîne sont présents. Il est possible de prévenir une transmission en brisant n'importe lequel des maillons de cette chaîne (**Laberge,2018**).

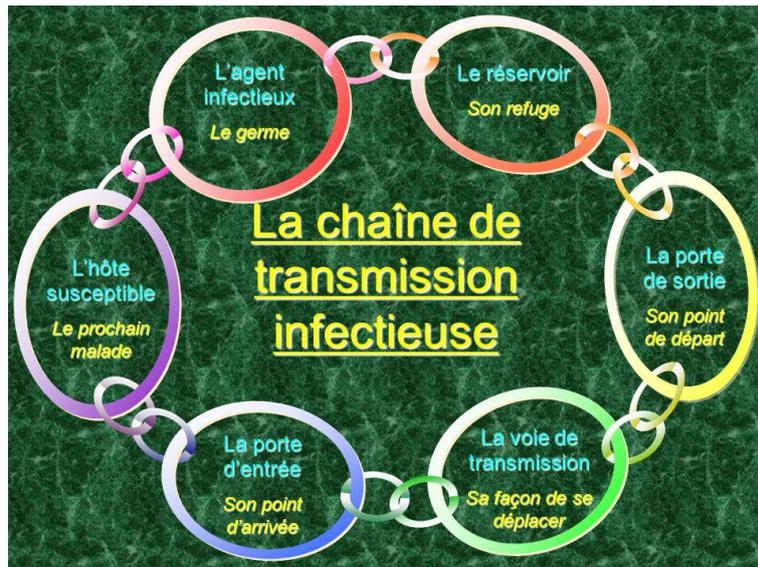


Figure 01 : Chaîne de transmission des infections (Laberge,2018)

### I.3.1. Agent infectieux

C'est un microorganisme transmissible. Il appartient soit à la flore endogène (microorganismes de l'individu) ou à la flore exogène (source externe de la personne infecter).

### I.3.2. Réservoir

C'est un patient, travailleur de la santé ou visiteur pouvant présenter une infection active, être asymptomatique, en période d'incubation d'une maladie infectieuse, être colonisé transitoirement ou de façon chronique par un microorganisme pathogène. Les microorganismes peuvent se retrouver sur la peau, dans le sang, les liquides biologiques, les excréments, les sécrétions, sur la peau, etc. L'environnement inanimé ou le matériel de soins partagé d'un patient à l'autre peuvent également être un réservoir et constituer une source d'infections nosocomiales

### I.3.3. Porte de sortie

C'est la voie par laquelle l'agent infectieux quitte le réservoir, bien que tous les réservoirs n'aient pas une porte de sortie évidente. Lorsque le réservoir est associé à un hôte, il peut s'agir du site anatomique par lequel le microorganisme quitte ce réservoir. Cette porte peut être par exemple, les voies respiratoires qui expulsent des sécrétions contaminées lors d'un éternuement ou la toux. Il pourrait s'agir aussi d'un bris de peau avec un saignement ou une plaie avec un exsudat. Lorsque le réservoir est associé à l'environnement la porte de sortie peut être plus difficile à identifier.

### 1.3.4. Mode de transmission

C'est un moyen que prend l'agent infectieux, en partant de la source, pour atteindre l'hôte réceptif. On distingue la transmission par contact (contact physique ou par l'intermédiaire d'un objet inanimé), par voie aérienne (petites particules se déplaçant sur de longues distances), par un véhicule commun (source contaminée) ou par un vecteur (insectes). Le mode de transmission varie selon le type de microorganismes. De plus, certains agents infectieux peuvent être transmis par plus d'un mode.

### 1.3.5. Porte d'entrée

C'est la voie par laquelle un agent infectieux pénètre dans un hôte. Parmi les portes d'entrée, on compte les muqueuses (ex. : voies respiratoires), la voie génitale, le tractus gastro-intestinal, le tractus urinaire, les lésions cutanées (ex. : les plaies) et les dispositifs invasifs comme les cathéters intraveineux.

### 1.3.6. Hôte réceptif

C'est une personne réceptive à l'égard de l'agent infectieux (microorganisme) soit, par exemple, parce que son système immunitaire est affaibli ou qu'elle ne possède pas les anticorps nécessaires pour lutter contre l'infection, ou qu'elle présente des récepteurs cellulaires appropriés pour accueillir l'agent.

## II. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* est une espèce naturellement présente dans la flore intestinale, certaines souches sont à l'origine des infections intestinales plus ou moins grave. Cette bactérie, potentiellement mortelle, a pour principal habitat l'intérieur des intestins des organismes à sang chaud et de l'Homme. Ceci explique qu'elle soit surtout responsable d'intoxications alimentaires (**Pierre, 2003**).

### II.1. Taxonomie

Selon **Bergey (2012)**, *Escherichia coli* appartient à :

<b>Règne</b>	Bactérie
<b>Embranchement</b>	Proteobacteria
<b>Classe</b>	Gamma Proteobacteria
<b>Ordre</b>	Entérobactériales
<b>Famille</b>	Enterobacteriaceae
<b>Genre</b>	Escherichia
<b>Espèce</b>	<i>Escherichia coli</i>

## II.2. Caractéristiques biochimique

Ce sont des bacilles à Gram négatif, chimio-organotrophes, parfois capsulés, ils possèdent une ciliature péritriche pour les souches mobiles. Ces bacilles fermentent le glucose (avec ou sans production de gaz), ils sont aéro-anaérobies facultatifs et possèdent à la fois un métabolisme respiratoire et fermentatif (tableau I) (Loukiadis , 2007).

**Tableau I : Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli***

Test	Glu	Lac	H2S	Gaz	ONPG	Gel	Mal	LDC	ODC	ADH	URE	TDA	RM	VP	ESC
Résultat	+	+	-	+	+	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	+	-	-

Légende : caractère positif : + / caractère négatif : - / caractère inconstant : +/-

## II.3. Infections à *Escherichia coli*

*E. coli* est responsable de plusieurs 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).

*E-coli* peut provoquer des :

- Infections des voies urinaires (IVU) : Les infections urinaires bactériennes peuvent affecter l'urètre, la prostate, la vessie ou les reins (Talha ,2021).
- Une pneumonie : La pneumonie est une infection des tissus pulmonaires. Cette maladie peut être grave chez les personnes fragiles et/ou souffrantes d'insuffisance respiratoire.
- Péritonite : La péritonite bactérienne spontanée est une infection du liquide d'ascite sans source apparente. Les manifestations peuvent comprendre une fièvre, une sensation de malaise et des symptômes liés à l'ascite et une aggravation d'une insuffisance hépatique préexistante (Tholey,2023).

Les souches d *E coli* responsables des diarrhées sont classées dans quatre groupes :

- *E. coli* entomopathogènes EPEC : responsables de gastro-entérites infantiles
- *E. coli* entéro-invasifs EIEC : syndromes dysentériques (diarrhées mucopurulentes et sanglantes)

## Synthèse bibliographique

- *E. coli* entéro-toxinogènes ETEC : responsables de diarrhées liquidiennes cholériformes (diarrhée du voyageur ou turista)
- *E. coli* entérohémorragiques EHEC : syndrome entéro-hémorragique responsable chez les enfants (1 mois à 3 ans) du syndrome hémolytique et urémique.

### II.4. Résistance aux antibiotiques

#### II.4.1. Résistance naturelle

*Escherichia coli* est une entérobactérie, qui comme toutes les entérobactéries présente une résistance naturelle aux glycopeptides et à la pénicilline G. Elle appartient au groupe 1 des Entérobactéries qui sont naturellement sensibles à l'ensemble des bêta-lactamines (Saidani,2013).

#### II.4.2. Résistance acquise

Certaines souches ont acquis de nouveaux mécanismes de résistance leur permettant d'échapper aux antibiotiques. La résistance d'*E. coli* aux bêta-lactamines est dû à une inactivation de l'antibiotique par l'acquisition d'enzymes. Trois principaux types d'enzymes sont répertoriés : les pénicillinases, une enzyme dite TRI (pour TEM résistant inhibiteur) et les céphalosporinases (Saidani ,2013) .

### III. *Staphylococcus aureus*

Les *Staphylocoques* sont des bactéries à Gram positif inconstamment encapsulées, aéro-anaérobies facultatives, ubiquitaires. Ils se présentent le plus souvent sous l'aspect de coques rassemblées en amas irréguliers, ils sont parfois isolés, par paires ou en très courtes chaînes. Les critères de virulence de la bactérie in vitro sont directement corrélés à un équipement enzymatique complexe avec en premier lieu la capacité ou non de produire une enzyme de type coagulase.

On distingue l'espèce *Staphylococcus aureus* à coagulas positive appelée également staphylocoque doré (élaboration d'un pigment caroténoïde donnant une couleur dorée à la colonie), des autres espèces de staphylocoques à coagulas négative (SCN) que l'on regroupe aussi sous le nom de Staphylocoques blancs (par opposition au doré) : *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*, etc. (Caby et al., 2010). *Staphylococcus aureus* est l'un des agents causaux d'infections bactériennes les plus courantes chez l'Homme vu que c'est son principal réservoir et s'hébergent au niveau des fosses nasales de l'intestin, la peau ou les annexes glandulaires (aisselle, périnée).

## III.1. Taxonomie

Selon **Bergey (1994)** et (**Ross et al, 1990**), *Staphylococcus aureus* appartient à :

Domaine	Bactérie ou Eubactérie
<b>Phylum XIII</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Staphylococcaceae
<b>Genre</b>	Staphylococcus

## III.2. Caractères biochimiques

Les principaux caractères biochimiques sont (Tableau) :

- Métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif.
- Catalase positive à la différence du Streptocoque.
- Capable de fermenter le glucose à la différence des Microcoques.
- Capable de fermenter le mannitol à la différence de plusieurs SCN.

**Tableau II : caractères biochimiques de *S. aureus* (Garrity et al., 2001)**

Caractère	<i>S. aureus</i>
<b>Oxydase</b>	-
<b>Catalase</b>	+
<b>Coagulase</b>	+
<b>Fermentation du glucose sans production de gaz</b>	+
<b>Dégradation du mannitol</b>	+
<b>Production d'indole</b>	+
<b>Production d'acétoïne</b>	+
<b>Uréase</b>	+
<b>Présence de nitrate réductase</b>	+
<b>Réduction du tellurite de potassium en tellure</b>	+
<b>Thermonucléase ou DNase thermostable</b>	+
<b>Présence d'une protéine A</b>	+

### III.3. Infections à *S. aureus*

- L'endocardite infectieuse : L'endocardite infectieuse est une infection de l'endocarde, habituellement due à des bactéries (habituellement streptocoques ou staphylocoques) ou à des champignons. Elle peut entraîner de la fièvre, des souffles cardiaques, des pétéchies, une anémie, des accidents emboliques et des végétations endocardiques (**Guy , 2022**).
- Les infections de la peau et des tissus mous : L'infection nécrosante des tissus mous de type II est monomicrobienne et est le plus souvent causée par des streptocoques bêta-hémolytiques du groupe A ; *Staphylococcus aureus* est le deuxième agent pathogène le plus fréquent. Les patients sont plus jeunes, ont peu de problèmes de santé documentés, mais ils peuvent avoir des antécédents d'utilisation de drogues intraveineuses, de traumatismes ou de chirurgie récente. L'infection peut se propager localement rapidement et induire des complications systémiques telles qu'un choc toxique (**Wingfield et al., 2021**).
- Infections de prothèses : L'infection de prothèses est une complication sévère des arthroplasties totales. Dans 50% des cas, les bactéries responsables sont les staphylocoques coagulase-négative et *S. aureus*. La contamination se fait pendant l'intervention chirurgicale ou par voie hématogène
- Infections pulmonaires : *Staphylococcus aureus* représente 2 à 5 % des étiologies des pneumopathies communautaires. Ces infections surviennent principalement chez des patients âgés avec comorbidité, dans un contexte post-grippal. *S. aureus* est également responsable de pneumonie nécrosante.

Ces bactéries peuvent provoquer des infections invasives et/ou des maladies à médiation par des toxines. comme Les SARM qui sont des agents pathogènes graves à la fois dans les hôpitaux et dans les milieux communautaires (**Tracey et al., 2022**).

## **Partie 02 : partie pratique**

### I. Matériel et méthodes

#### I.1.Lieu et objectif du travail

Le travail a été effectué, aux services : médecine interne, cardiologie et orthopédie de l'Etablissement Hospitalier Khalil Amrane CHU de la wilaya de Bejaia durant un mois (de mai au mois de juin). Ce travail vise à évaluer la prévalence des *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* dans les différentes infections Humaines au niveau de la wilaya de Bejaia.

#### I.2.Prélèvements

Un total de 30 prélèvements est réalisé au niveau de différents services (Tableau III).

##### I.2.1. Prélèvement à partir des surfaces sèches (nasale)

Frotter les surfaces sèches avec des écouvillons stériles préalablement humidifiées avec l'eau physiologique stérile puis introduire dans des tubes contenant 5ml du bouillon nutritif.

##### I.2.2. Prélèvement à partir des surfaces humides (pus)

Frotter directement la surface avec l'écouvillon.

##### I.2.3. Prélèvement à partir du sang (hémoculture)

Prélever environ 5ml de sang du patient en pique de fièvre et injecter dans un flacon de 80ml de bouillon hémoculture.

##### I.2.4. Prélèvement à partir des urines (ECBU)

Récupérer les urines fraîches dans un contenant stérile.

**Tableau III : Date nature et service des prélèvements**

<b>Numéro d'échantillon</b>	<b>Date de prélèvement</b>	<b>Service</b>	<b>Nature du prélèvement</b>	<b>Sexe</b>	<b>Age</b>
1	05/06/2023	Médecine interne	Nasale	Femme	63
2	03/06/2023	Médecine interne	Nasale	Femme	45
3	15/05/2023	Orthopédie	Pus	Femme	54
4	05/05/2023	Cardiologie	E.C.B.U	Femme	77
5	11/05/2023	Orthopédie	Nasale	Femme	68
6	01/06/2023	Médecine interne	E.C.B.U	Femme	50
7	13/05/2023	Médecine interne	E.C.B.U	Homme	28
8	09/06/2023	Médecine interne	E.C.B.U	Homme	45
9	29/05/2023	Médecine interne	Nasale	Homme	41
10	26/05/2023	Orthopédie	Pus	Homme	63
11	10/05/2023	Orthopédie	Nasale	Femme	89
12	02/05/2023	Médecine interne	Hémoculture	Homme	50
13	15/05/2023	Médecine interne	E.C.B.U	Homme	30
14	12/06/2023	Orthopédie	Pus	Homme	59
15	24/05/2023	Médecine interne	Hémoculture	Femme	50
16	09/06/2023	Médecine interne	E.C.B.U	Femme	63
17	15/06/2023	Médecine interne	E.C.B.U	Femme	25
18	27/05/2023	Médecine interne	E.C.B.U	Femme	45
19	08/05/2023	Cardiologie	Nasale	Homme	19
20	08/05/2023	Orthopédie	Nasale	Homme	41
21	08/05/2023	Orthopédie	Nasale	Homme	73
22	08/05/2023	Cardiologie	Nasale	Femme	33
23	02/05/2023	Cardiologie	Hémoculture	Femme	42
24	20/05/2023	Orthopédie	Pus	Homme	40
25	05/06/2023	Médecine interne	E.C.B.U	Femme	65
26	13/05/2023	Cardiologie	Nasale	Homme	59
27	04/05/2023	Médecine interne	Hémoculture	Homme	37
28	24/05/2023	Médecine interne	E.C.B.U	Femme	29
29	03/06/2023	Orthopédie	Pus	Femme	60
30	06/05/2023	Cardiologie	E.C.B.U	Homme	66

### **I.3. Conditions de prélèvement et isolement**

Les prélèvements sont acheminés au laboratoire de l'établissement (CHU) immédiatement.

L'isolement des bactéries prévues à partir des différents prélèvements, est réalisé comme suit :

#### **I.3.1. Prélèvement nasal**

Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures jusqu'à l'apparition de trouble en bouillons nutritif puis ensemencé sur milieu Chapman et EMB par la méthode de stries en surface. Les boîtes sont incubées ensuite à 37°C pendant 24 heures.

#### **I.3.2. Prélèvement de pus**

A partir de l'écouvillon même dont on a prélevé on ensemence directement sur milieu Chapman et EMB par la méthode de stries en surface. Les boîtes sont incubées ensuite à 37°C pendant 24 heures.

#### **I.3.3. Prélèvement de sang**

Les flacons, du bouillon hémoculture mélangé au sang, sont incubés à 37 C pendant 24 heures. À J1, on ensemence toujours par la méthode de stries en surface sur gélose au sang, s'il y a présence de bactéries, on lance l'identification sinon on réincube jusqu'à J5 ou J10.

#### **I.3.4. Prélèvement d'urine (ECBU)**

Dans un tube stérile contenant 10 ml d'eau physiologique, on verse 3 gouttes d'urine fraîche et en ensemence sur milieu Chapman et EMB. Les boîtes sont incubées ensuite à 37°C pendant 24 heures.

### **I.4. Purification et conservation**

Afin de confirmer la pureté des souches, nous avons effectué des repiquages successifs, sur milieu gélosé sélectif Chapman et EMB. Puis les souches sont conservées au réfrigérateur à 4° C pour l'identification.

### I.5. Identification

L'identification comporte une série d'étapes, se succédant le plus souvent dans un ordre déterminé ; les souches isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards pour *Staphylococcus aureus* (la coloration de Gram, catalase et test de coagulase) et pour *Escherichia coli* (la coloration de Gram et test biochimiques). Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.

#### I.5.1. Examens macroscopiques

Sur le milieu Chapman, les colonies jaunes entourées d'une zone jaune, mannitol+ sont des *Staphylococcus aureus*.

Sur le milieu EMB, les colonies de 2 à 3 mm plates violettes très foncé avec reflet métallique vert sont des *Escherichia coli* (Mahamadi et al. ,2016).

#### I.5.2. Examens microscopiques

##### ➤ Coloration de Gram

Le principe de la coloration de Gram repose sur les différences de composition chimique de la paroi des bactéries (1 à 2.5 % des lipides chez les bactéries à Gram positif, 10 à 22% chez les Gram négatif).

##### ➤ Technique

- On dépose sur une lame propre une goutte d'une suspension bactérienne ;
- Faire sécher la lame par passage sur la flamme du bec benzène
- Poser des gouttes du colorant violet de Gentiane sur le frotti, laisser agir pendant 1 minute, puis rincer la lame parfaitement par l'eau physiologique stérile.
- Recouvrir la lame une autre fois par le Lugol et laisser agir une minute puis rincer à l'eau physiologique stérile ;
- Tenir la lame inclinée et faire couler pendant 30 secondes de l'alcool à 95° jusqu'à écoulement incolore, rincer immédiatement à l'eau physiologique stérile ;
- Recolorer avec de la fuchsine pendant 1 min ; rincer à l'eau physiologique stérile et égoutter
- Égoutter entre 2 morceaux de papier buvard et laisser sécher ;
- Observez avec une goutte d'huile à immersion à l'objectif X 100

### ❖ Observation sous microscope

- Couleur rose représente les bactéries à Gram négatives
- Couleur violet représente les bactéries à Gram positives
- On observe aussi la forme des cellules bactériennes (bacille, coccobacille, cocci, diplocoques,...).

### I.5.3. Tests biochimiques

#### Pour *Staphylococcus aureus*

#### 1) Recherche de la catalase

Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes  $H_2O_2$  dont l'accumulation a un effet létal pour les bactéries. La catalase a la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène ( $H_2$  avec dégagement d' $O_2$ ) sous forme gazeuse. (Madian *et al.*, 2007).

#### ❖ Technique

A partir d'un milieu solide et aérobie, prélever une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame.

#### ❖ Lecture :

La présence de catalase est marquée par la formation immédiate des bulles d' $O_2$ .

#### 2) Recherche de la coagulase

La propriété de *Staphylococcus aureus* de provoquer la coagulation d'un plasma recueilli sur anticoagulant est un critère important de son identification. Elle est due à la sécrétion d'une enzyme thermostable ; la staphylocoagulase . Cette enzyme agit en liaison avec la prothrombine et en absence de calcium.

Parmi les *Staphylococcus*, pratiquement seul *S. aureus* possède la coagulase, certaines souches de *S. aureus* peuvent en être dépourvues (10 à 15 % en milieu hospitalier), la perte de la coagulase étant souvent reliée à un traitement d'antibiotique.

## Matériel et méthodes

La recherche de la coagulas de *Staphylococcus* est compliquée par la présence d'un récepteur au fibrinogène provoquant l'agglutination de la souche placée dans un plasma oxalaté (**Madian et al., 2007**).

### ❖ Technique

- Réaliser une suspension bactérienne.
- biens agiter le tube qui contienne de la suspension bactérienne à l'aide de vortex.
- Mettre dans un tube à hémolyse 4 gouttes de bouillon agité et 4 gouttes de plasma humain à 100% ou 80%.
- incuber à 37°C durant 3 à 6h.

### ❖ Lecture :

Une coagulation pourra être observée par une prise en masse du liquide

#### **Pour *Escherichia coli***

##### **-Test de nitrate réductase**

Le bouillon nitraté est un bouillon de culture permettant la recherche de l'utilisation de l'ion nitrate par certains micro-organismes, notamment par respiration nitrate. On met une ou deux gouttes dans du bouillon nitraté cultivé pendant 24 h à 37°C. S'ils sont présents, ils donnent une coloration rose en présence d'acide sulfanilique et d'I-Naphtylamine. Ces réactifs portent le nom de réactifs de Griess.

##### **-Test du Rouge de Méthyle (RM) et du Voges-Proskauer (VP) :**

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 ».

- Le test RM : permet la mise en évidence grâce au rouge de méthyle, de la fermentation acide mixte par acidification du milieu glucosé après fermentation du glucose
- Le test VP : permet la mise en évidence de la production d'acetoïne (ou 3-hydroxybutanone) au cours de la fermentation butylène glycolique en présence d'une base forte (soude ou potasse) et d'I-naphtol, l'acetoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygéné.

## Matériel et méthodes

Ensemencer un milieu Clark et Lubs avec quelques gouttes de la suspension bactérienne et étuver 24 à 48 heures à 37°C.

Après incubation le milieu est partagé en deux tubes pour réaliser les tests.

### **-Recherche de l'utilisation du citrate**

Le milieu citrate de Simmons est un milieu solide qui permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie.

Seules les bactéries possédant une citrate perméase seront capables de se développer sur ce milieu. La pente du milieu estensemencée par des stries sur toute la surface et incubé à 37°C, pendant 24 heures. En cas de réaction négative, prolonger l'incubation de 24 heures.

### **-Test de Mannitol Mobilité**

Le milieu mannitol mobilité est un milieu semi solide qui permet d'étudier simultanément la dégradation du mannitol (la dégradation en anaérobiose conduit à la formation de fructose qui est un produit de dégradation du mannose) et la mobilité. L'ensemencement du milieu s'est fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une anse de platine (fil droit sans boucle). Incubation à 37°C° durant 24 heures.

### **-Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase**

Le milieu urée-tryptophane, improprement appelé urée-indole est un milieu de culture synthétique utilisé en bactériologie permettant la mise en évidence simultanée :

- De la production de l'indole (par hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase)
- De l'hydrolyse de l'urée (par une uréase)

Ensemencer abondamment un milieu urée-indole avec quelques colonies de la souche à étudier et incubé 24 heures à 37°C et a 44°C.

## **I.6.Antibiogramme**

L'antibiogramme a été réalisé par la technique de diffusion sur milieu gélosé selon les normes préconisées par le Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI).(Gillet *et al.*, 2002).

**Tableau IV : Antibiotiques pour *Escherichia coli***

Nom	Abréviation	Charge des disques	Résistant	Intermédiaire	Sensible
Ampicilline	AMP	10	=<13	14.16	>=17
<b>Amoxicilline AC. Clavulanique</b>	AMC	20/10	=<13	14.17	>=18
<b>Céfazoline</b>	CZN	30	=<19	20.22	>=23
<b>Céfalotine</b>		30	=<14	15.17	>=18
<b>Céfoxitine</b>	FOX	30	=<14	15.17	>=18
<b>Céfotaxine</b>	CTX	30	=<22	23.25	>=26
<b>Céftazidine</b>	CAZ	20/30	=<17	18.20	>=21
<b>Azytréonam</b>	ATM	30	=<17	18.20	>=21
<b>Amikacine</b>	AKN	30	=<14	15.16	>=17
<b>Gentamicine</b>	GMN	10	=<12	13.14	>=15
<b>Acide Nalidixique</b>	NAL	30	=<13	14.18	>=19
<b>Ciprofloxacine</b>	CIP	5	=<15	16.20	>=21
<b>Chloramphénicol</b>	CHL	30	=<12	13.17	>=18
<b>Furanes</b>	FTN	300	=<14	15.16	>=17
<b>Fosfomycine</b>	FOS	200	=<12	13.15	>=16
	CRO	200	=<12	13.15	>=23
<b>Triméthoprim + Sulfaméthoxazole</b>	SXT	1.25/23.75	=<10	11.15	>=16
<b>Entapénème</b>	ETP	10	=<18	19.21	>=22
<b>Imipénème Méropénème</b>	IMP	10	=<19	20.22	>=23

Tableau V : Antibiotiques pour *Staphylococcus aureus*

Nom	Abréviations	Charge des disques	Résistant	Intermédiaire	Sensible
<b>Tétracycline</b>	TET	30 µg	<14	15.18	≥19
<b>Pénicilline</b>	PEN	10 µg	≤28	---	≥29
<b>Rifampicine</b>	RIF	5 µg	<16	17.19	≥20
<b>Ciprofloxacine</b>	CIP	5 µg	<15	16.20	>21
<b>Céfoxitine</b>	FOX	30 µg	≤21	----	≥22
<b>Ofloxacine</b>	OFX	5 µg	<14	15.17	>18
<b>Gentamicine</b>	GMN	10 µg	<12	13.14	>15
<b>Kanamycine</b>	KMN	30 µg	≤13	14.17	≥18
<b>Amikacine</b>	AKN	30 µg	≤14	15.16	≥17
<b>Acide Fusidique</b>	FAD	10 µg	<24	---	≥24
<b>Erythromycine</b>	ERY	15 µg	≤13	14\22	≥23
<b>Clindamycine</b>	CMN	2 µg	≤14	15.20	≥21
<b>Pristinamycine</b>	PTN	15 µg	≤15	16.18	≥19
<b>Teicoplanine</b>	TEC	30 µg	≤10	11.13	≥14
<b>Levofloxacine</b>	LVX	5 µg	<15	16.20	≥21
<b>Triméthoprime Sulfaméthoxazone</b>	SXT	1.25/23.75 µg	<10	11.15	>16

### ❖ **Technique :**

- Repiquer une colonie à partir d'une culture pure développée de 18 heures sur un milieu d'isolement dans de l'eau physiologique stérile
- Tremper un écouvillon dans cette suspension.
- Presser fermement contre la paroi intérieure du tube juste au-dessus du niveau du liquide, tourner l'écouvillon pour enlever le liquide excédentaire.
- Étaler à trois reprises sur le milieu Mueller Hinton, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application afin d'obtenir une distribution égale de l'inoculum.
- Appliquer les disques d'antibiotiques sur les boîtes de Pétri après l'ensemencement à l'aide d'une pince stérile.
- Incuber les boîtes à 37°C pendant 18 à 24 heures.

### ❖ **Lecture et interprétation**

Mesurer avec précision les diamètres de chaque zone d'inhibition en mm, et classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante.

### II. Résultats et discussion

#### II.1. Prélèvement

Dans cette étude, nous avons réalisés 30 prélèvements durant la période de stage (1mois), à partir de 3 services au CHU de Bejaia, Parmi les 30 prélèvements, 50% en médecine interne, 30% en orthopédie et 20% en cardiologie (figure 02).

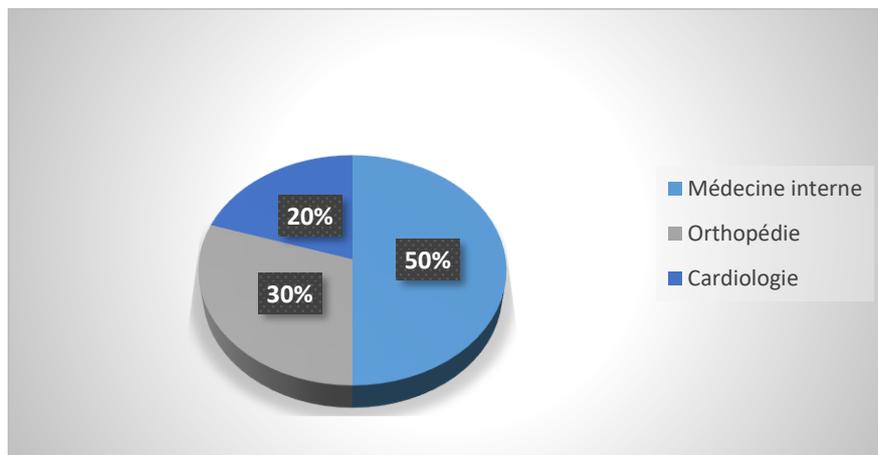


Figure 02 : Répartition globale des prélèvements selon le service

#### II.2. Isolement et identification

Sur les 30 prélèvements analysés, 70% étaient considérés comme positifs.

14 sur milieu Chapman

7 sur milieu EMB

30 sur milieu gélose nutritif au sang cuit.

Il reste l'identification des bactéries recherchées *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

##### II.2.1. Identification morphologique

###### ➤ Examen macroscopique

Sur milieu Chapman, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une couleur jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, sinon les colonies sont de couleur blanche.

## Résultats et discussion

Ces colonies sont arrondies à bords réguliers d'environ 1 mm de diamètre après 24h/37°C

Sur milieu EMB, les colonies apparaissent pigmentées en bleu-noir avec reflet métallique vert, c'est une caractéristique d'*E. coli* sur ce milieu car les autres coliformes ne produisant pas suffisamment d'acide pour provoquer cette réaction.

Sur gélose nutritive au sang cuit, les colonies sont de différents aspect, taille et couleur, d'un diamètre variant entre 1 à 3 mm après 24h/ 37°C.

### ➤ Examen microscopique

La coloration de Gram pour les souches isolées sur milieu Chapman met en évidence des Cocci sphériques, en grappe de raisin ou en paires, colorés en violet, dont on trouve les 14 souches sont à Gram positif, soit un pourcentage de 100% des isolats.

Par contre la coloration de Gram pour les souches isolées sur milieu EMB met en évidence des bacilles, qui se présente sous la forme de bâtonnets allongés, colorés en rose. Les 7 souches sont à Gram négatifs donc un pourcentage de 100% des isolats.

### II.2.2. Identification biochimique pour *Staphylococcus aureus*

#### a. Catalase

Le test de catalase montre une apparition des bulles avec dégagement de dioxygènes produits par une colonie mise en contact avec l'eau oxygénée. Dont on trouve 14 souches à catalase positive par rapport au nombre d'isolats donc 100%.

#### b. Coagulase :

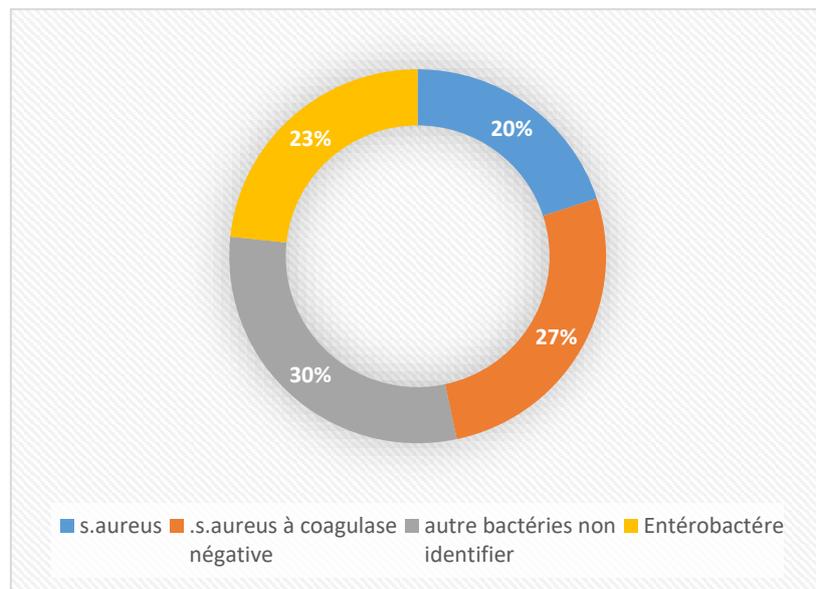
Les cocci à Gram positif, catalase positive, testés pour la production d'une coagulase, présentent un phénotype variable, dont on trouve 6/14 des isolats à coagulase positive soit un pourcentage de 42,80%

**Tableau VI: Résultats de pré-identification par les techniques microbiologiques**

Caractères principaux		Coloration de Gram	Test catalase	Test coagulase
Souches	positive	14	14	06
	négative	00	00	08

Selon **David (2010)**, divers enzymes peuvent être mises en évidence chez *S.aureus* tel que : la catalase qui existé chez tous les *Micrococacceae*. Mais la présence d'une coagulase identifie en pratique courante l'espèce *aureus*, donc nos résultats corroborent à ceux obtenu dans les tests d'identifications biochimiques

L'identification des **30** prélèvements effectués à donner : **06** *S.aureus*, **08** Staphylocoque à coagulase négative, **09** espèces non identifiés et 07 Entérobactérie (figure 03).



**Figure 03 : Répartition des souches selon leur production de coagulase**

### I.3.Fréquence d'isolement de *S. aureus*

Sur les **14** isolats appartenant à la culture positive, **06** souches pures ont été identifiées comme *S. aureus* par la mise en évidence de test de la coagulase libre. Ce qui représente un taux de **42,80%** sur l'ensemble des souches des Staphylocoques isolées (**06/14**), et **20%** sur la totalité des prélèvements testés et identifiés (**06/30**).

### II.4. Identification biochimique pour *E. coli*

Sur les 21 prélèvements positifs, on a 07 qui on put se développer sur le milieu EMB, soit un pourcentage de 33% et on a obtenu un pourcentage de 100% d'*Escherichia coli* après identification

### II.4.1. Test de nitrate réductase

Après l'ajout des réactifs Nit1 et Nit2, nous avons pu observer une coloration rouge du milieu.

### II.4.2. Test de RM et du VP

- a. La voie des acides mixtes est mise en évidence après ajout du réactif de RM dans le milieu. Une coloration rouge désigne une RM+ c'est-à-dire une fermentation acide mixte. Une coloration jaune est un résultat négatif.

La voie du butylène glycolique est mise en évidence après ajout des réactifs VP I et VP II. Une coloration rouge témoigne d'un VP+ et la réaction négative est révélée par l'absence de la coloration rouge. Les colonies que nous avons testées avaient les profils suivants : (RM+ ; VP-).

### II.4.3. Recherche de l'utilisation du citrate

L'utilisation du citrate se traduit par un virage au bleu du milieu. Dans notre cas le milieu n'a pas changé donc elles sont citrate- (coloration verte).

### II.4.4. Test du mannitol mobilité

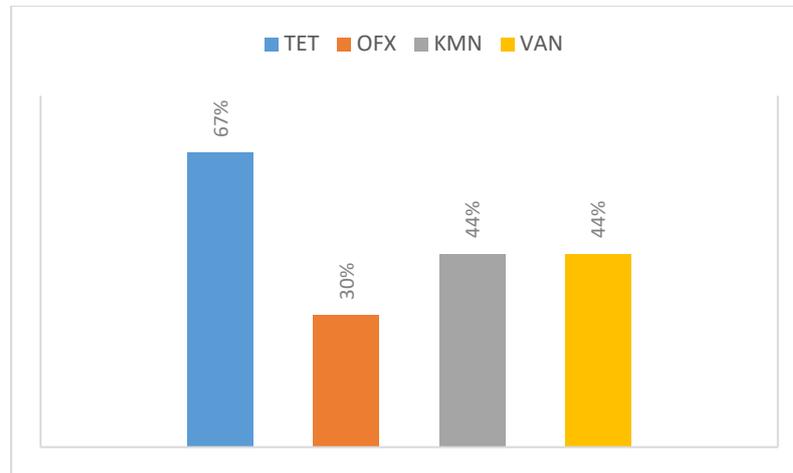
Le virage de l'indicateur coloré rouge de phénol du rouge au jaune témoigne d'une utilisation du mannitol. De plus la mobilité des souches est avérée par la formation de voiles autour de la piqûre centrale avec un trouble du milieu. Les colonies testées sont Mobilité + et mannitol+.

### II.4.5. Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase

La présence de l'uréase se traduit par virage au rouge du milieu urée-indole. Certaines souches possèdent une uréase positive (coloration rouge), d'autres par contre n'en possèdent pas (uréase -). La présence de l'indole est révélée après ajout du réactif de Kovac dans le milieu urée-indole. La formation d'un anneau rouge à 37° et à 44° témoigne de sa présence et un anneau jaune son absence. Pour toutes les souches il a eu formation d'un anneau rouge.

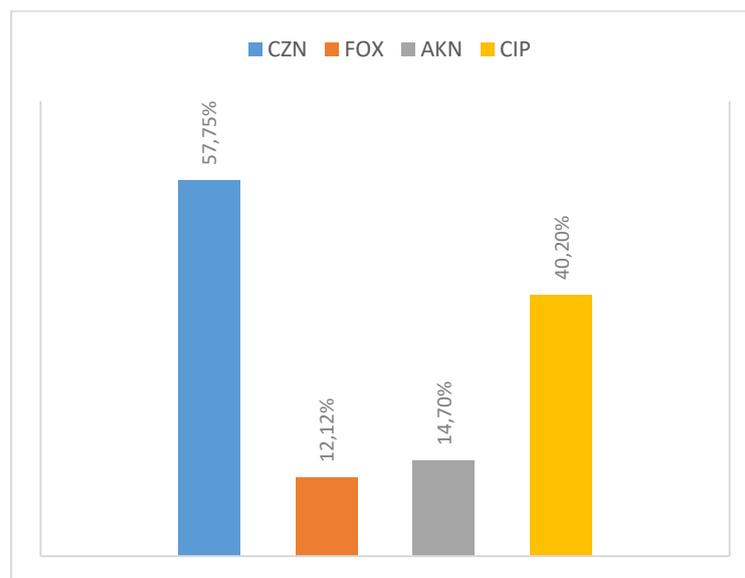
### II.5. Résistance aux antibiotiques

Un antibiogramme a été réalisé sur les 13 souches de *S. aureus* et *E. coli* préalablement isolées et identifiées. Etant donné leurs phénotypes de résistance très différents, les fréquences de résistances pour chaque antibiotique testé ont été calculées et représentées dans les figures(04 et 05).



**Figure 04 : Pourcentage de résistance des *S. aureus***

Les résultats portés sur la figure montrent que les souches isolées des *Staphylocoques aureus* présentent une résistance de 67% à la Tétracycline (TET). Pour la Vancomycine (VAN) et la Kanamycine (KMN), le taux de résistance est moins de 44%. Enfin pour l'Oflaxacine (OFX) la résistance est notée par 30%.



**Figure 05 : Pourcentage de résistance des *E. coli***

## Résultats et discussion

Les résultats portés sur la figure montrent que les souches isolées des *Escherichia coli* présentent une résistance de 57,75% à la Céfazoline (CZN). Pour la Ciprofloxacine (CIP), le taux de résistance est de 40,20%, pour l'Amikacine (AKN) la résistance est notée par 14,70% et enfin Céfoxitine (FOX) la résistance est de 12,12%

# Conclusion

La prévalence des *S. aureus* et *E. coli* constitue un problème majeur pour la santé publique à l'échelle mondiale, pareil pour l'apparition du phénomène de la multirésistance chez ces bactéries qui complique l'état des malades ainsi que la limite des choix thérapeutiques.

La majorité des infections Humaines rencontrées sont essentiellement d'origine bactérienne, plus spécifiquement *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

L'objectif de ce travail a été la recherche et l'identification des *S. aureus* et *E. coli* isolées de divers prélèvements (urines, sang, pus et les prélèvements nasales) et leur résistance par rapport à différentes familles d'antibiotiques.

D'après l'analyse des résultats obtenus, nous avons constaté que *Staphylococcus aureus* est majoritairement retrouvé dans les pus (50%), le sang (33,33%) et les muqueuses dermiques (16%).

Tant dit qu' *Escherichia coli* est fréquemment rencontré dans les urines (85,7%), les pus (14,28%) et le sang en provoquant des inflammations et brûlures urinaires ainsi que des piques thermiques.

Les personnes les plus susceptibles d'être contaminées par ces deux bactéries sont les personnes âgées, sous traitement et aussi le facteur du sexe car les hommes sont plus à risque d'être contaminés par *Staphylococcus aureus* contrairement à la femme qui est plus atteinte par *Escherichia coli*.

Les souches d'*Escherichia coli* isolées du pus sont plus résistantes aux antibiotiques que celles isolées à partir des urines.

Nos résultats restent préliminaires et méritent d'être exploités et complétés pour cela, nos perspectives sont :

- Etudier une population plus importante dans une période plus longue pour décrire une prévalence élargie des infections humaines due aux *S. aureus* et *E. coli*.
- Il est nécessaire d'utiliser des méthodes de détection moléculaire car les méthodes classiques de détection sont lentes, souvent jusqu'à 72 heures et même plus pour certaines (hémoculture) pour confirmer la présence de *S.aureus* ou *E. coli*.

## Conclusion

- Des études sont nécessaires également pour minimiser le risque contagieux de ce germe c'est-à-dire la transmission et les méthodes de lutte contre les propagations des infections humaines due à *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

## Références bibliographiques

- Agence de la santé publique du Canada. Pratiques de base et précautions additionnelles visant à prévenir la transmission des infections dans les établissements de santé. Agence de la santé publique du Canada, Centre de lutte contre les maladies transmissibles et les infections (2014).
- <http://Sante-medecine.net/Faq/> / 7594-*Escherichia-coli*symptômes-et-traitement définition.
- Revue de Pneumologie clinique volume 69 issue 6, page 368-382, Décembre 2013.
- S Abhijit, R Bhaskaran, A Narayanasamy. (2013).Study of urinary isolates with reference to extended spectrum beta-lactamases detection and antibiogram. Journal Vol. 2, Issue 9, p1052.
- A Laberge, S Leroux, St-Onge, Comité sur les infections nosocomiales du Québec (CINQ) (2018).
- Bergey's(2012), Manual of Systematic Bacteriology .Volume 5: The Actinobacteria
- Cheriet H, Belhi I. « Identification des bactéries endophyte au Cadmium isolées des racines de deux plantes steppiques lygeum spartum et hédysarum pallidum » Mémoire master microbiologie général, University Constantine 1Algerie, 2013, 2014.
- Cheriet, N, Boutarfa M, « infections bactériennes infantiles » mémoire master Université de Constantine 2020 Algérie.
- Cosgrove S E, Youlin Qi, Keith SK, Harbarth S, Karchmer AW, Carmeli Y., (2005).The impact of methicillin resistance *S. aureus* bacteremia on patient outcomes: mortality, length of stay and hospital charges. Infect Control Hosp Epidemiol; 26(2):166-174.
- D Tholey, S Kimmel, «Péritonite bactérienne spontanée», Medical College at Thomas Jefferson University 2023.
- F Caby, R Bismuth. P Bossi. (2010). Infections à staphylocoques. Traité de Médecine in EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Akos : 4-1045.
- Garrity.G-M, Bergey's Manuel 2001 of systematic bacteriologies 2<sup>nd</sup> editions volume 1. Taxonomic outline of the Archea and Bacteria New York, berlin, Heidelberg springer, 155-166.

## Références bibliographiques

- Gillet Y., Issartel B., Vanhems P, (2002). Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotizing pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 359: 753-759.
- Guy, P.Armstrong, 2022.Endocardite infectueuse. Waitemata District Health Board and Waitemata cardiology, Auckland.
- Heart T. Shears P.(2006). Atlas de poche de microbiologie. Medicine-Sciences-Flammarion.
- Labayle D. (2001). Guide Pharmaco. Edition lamare, Paris. 568p
- Larry M. Bush, MD, FACP, Charles E.Schmidt college of medicine, Florida Atlantic Université «présentation des bactéries Gram positives» Revus mars 2021 modifié Septembre 2022.
- Larry M, Bush M,D Maria, T Perez, (2018). Infections par klalebsiel, Entérobactérie, et Serratia, journal.
- Loukiadis E. (2007).Facteur de virulence et dissémination dans l'environnement via les effluents d'abattoirs d'animaux de boucherie d'*Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC). Thèse de doctorat Université de Toulouse, France.
- Madian M. R Ummethala. ETRI journal, (2007).Brok : biologie des microorganismes 11 emeed, Pearson. Paris. Page : 1047, France.
- O Perrot cours IFSI-infectiologie et hygiène, les micro-organismes pathogènes, aout 2022.
- Petignat C. Blanc D.et Bally F. (2006). Microbiologie pathogénèse de l'infection, cours assistant stérilisation I, 8 ,14p.
- P Marie Curie. (2002-2003). Bactériologie. DCEM1. Université Paris-VI. Faculté de médecine Pitié-Salpêtrière ,France.
- Ross JI., Eady EA., Cove JH., Cunliffe WJ., Baumberg S., Wootton JC. (1990). Inducible erythromycin resistance in staphylococci, is encoded by a member of the ATP-binding transport supergene family. *Mol Microbiol*, 4(7): 1207-1214.
- Saidani M. (2012-2013). (Epidémiologie des pyélonéphrites et prostatites communautaires : Les traitements probabilistes recommandés sont-ils toujours adaptés ?) Thèse en ligne, Université Paris Diderot - Paris 7 faculté de médecine. France.
- Samou F. S. (2005). Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie de l'hôpital de point G .thèse de doctorat en Médecine. Université de Mali.

## Références bibliographiques

- SOMIPEV, 2017 (société marocaine d'infectiologie pédiatrique et de vaccinologie) le guide pratique des bactéries pathogènes, au Maroc.
- Table régionale en prévention des infections nosocomiales (TRPIN) de la Capitale-Nationale. Guide de prévention et de contrôle des infections, Pratiques de base et précautions additionnelles (2012).
- Tableau extrait du document. Performance Standard for antimicrobien Susceptibility testing ; twenty-third informational supplement, 7<sup>ème</sup> Edition, M100\_S23.Vol.33, n°1.2013.
- Talha H.Imam, Juillet 2021 infection bactériennes des voies urinaires. thèse, University of Riverside school of Medicine, California
- Tortora J. *et al.* (2003). Introduction à la microbiologie, (Edition Du Renouveau Pédagogique INC). Canada. Page : 338-344
- Tracy A.Taylor, Chandrashekhar G.Unakel «Staphylococcus aureus», Université d'Oakland, Université des Antilles, 2022.
- Wingfield E.Rehmus, Février 2021 « cellulite nécrosante ; fasciite nécrosante ; infection sous cutanée nécrosante » thèse, University of British Colombia.

