



UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEM ALGERIE

FACULTE SNV/STU



Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire,

Au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE)

مخبر الميكروبيولوجيا التطبيقية لأغذية للبيوطيبو للبيئة

MEMOIRE DE MASTER

Filière : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Option : MICROBIOLOGIE

Présenté par :

M^{me}METADJERNouria

Intitulé du thème

**Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatifs
isolées dans le service de chirurgie A du CHU de Tlemcen**

Soutenu le : 21-09-2014

Devant le Jury composé de :

Mr REBIAHI Sid Ahmed

Maitre de conférences B

Promoteur

Mr BARKASalih

Maitre de conférences B

Président

Mr BELYAGOUBI Larbi

Maitre de conférences B

Examineur

Année Universitaire 2013/2014

Remerciement

Au terme de ce travail, il m'est agréable d'exprimer mes remerciements à tous ce qui ont contribué de près ou de loin a l'élaboration de ce mémoire

Je tiens tout d'abord à remercier Mr Rebiahi; maitre de conférence B a la Faculté des sciences de la nature et de la vie, Science de la terre et de l'univers, de l'université Abou-Bakr-Belkaid de Tlemcen, pour son encadrement, ses précieux conseils, et les encouragements qui m'ont permis de réaliser ce travail

Je vous voudrais remercier aussi monsieur Barka Salih maitre de conférence B à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Science de la terre et de l'univers de l'université Abou-Bakr-Belkaid de Tlemcen d'avoir accepté de me faire l'honneur de présider ce jury.

Mes très vifs remerciements vont aussi à monsieur Belyagoubi Larbi maitre de conférence B à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Science de la terre et de l'univers de Abou-Bakr-Belkaid pour avoir contribuer par sa participation à l'examination de ce travail.

Je tiens également à remercier Mr Benamarale Médecin assistant du service chirurgie « A » du CHU Tlemcen.

Mes remerciements aussi a

Madame Rebiahi pour sa gentillesse et son aide

Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

A Dieu, tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail.

A mes parents qui m'ont éclairé le chemin de la vie par leur grand soutien et leurs encouragements, je les remercie pour tout ce qu'ils m'ont fait.

A mes beaux parents qui m'ont aidé, encouragé et conseillé.

A mon cher mari qui m'entoure de son amour, sa sollicitude et son aide morale.

A ma fille malek, ma sœur imene et belles sœurs wassila et ikram, et frères faycal et arslane.

A tous ce qui m'ont apporté d'aide de près ou de loin.

Résumé

Les infections nosocomiales demeurent un problème de santé publique et ce, malgré la bonne intention du ministère de la santé qui a endigué les effets négatifs sur la population et sur l'économie hospitalière.

L'objectif de notre travail est d'isoler et identifier une collection de souches bactériennes à partir des plaies infectées et non infectées dans le service de chirurgie A du CHU de Tlemcen, et de déterminer le niveau de résistance de ces bactéries aux antibiotiques.

Au terme de trois mois d'études portant sur l'infection de la plaie opératoire dans le service de chirurgie A du CHU de Tlemcen, 30 souches ont été identifiées par le système Api 20E. Cette identification montre la dominance des entérobactéries.

La résistance aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé selon les normes du Comité d'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2012).

Les souches isolées présentent une multi résistance vis-à-vis de plusieurs antibiotiques dont l'amoxicilline+acide clavulanique avec un taux de (97%), concernant la Ticarciline+acide clavulanique et le Céfotaxime (50%) le taux de résistance à la Kanamycine (23.33%), Gentamycine (13.33%).

Mot clés : infections nosocomiales, Bactéries à gram négatif, antibiorésistance.

Abstract

Nosocomial infections remain a public health problem, despite the good intention of the Ministry of Health which had limited the negative effects on the population and hospital economics.

The aim of our work is to isolate and identify a collection of strains from infected and non-infected wounds in the surgical ward of the University Hospital of Tlemcen A, and determine the level of resistance of bacteria to antibiotics.

After three months of study of the infection of the surgical wound in the surgical ward of the University Hospital of Tlemcen A, 30 strains were identified by the API 20E system. This identification shows the dominance of Enterobacteriaceae.

Antibiotic resistance was determined by disk diffusion method on agar according to the standards of the susceptibility of the French Society for Microbiology (CA-SFM, 2012) Committee.

The isolated strains showed resistance to multi-vis several antibiotics, including amoxicillin-clavulanic acid with a rate of (97%) on the Ticarciline and cefotaxime (50%) the rate of resistance to kanamycin (23.33 %), Gentamicin (13.33%).

Key words: Nosocomial Infection, Gram-negative Bacteria, antibiotic resistance

ملخص

تتبع عدوى المستشفيات مشكلة صحية عامة، على الرغم من حسن النية من وزارة الصحة التي تسدد الآثار السلبية على اقتصاديات السكان والمستشفى.

الهدف من عملنا عزل و تحديد مجموعة من السلالات البكتيرية من الجروح المصابة و الغير المصابة في قسم الجراحة مستشفى تلمسان و تحديد مستوى مقاومة هذه البكتيريا للمضادات الحيوية.

بعد ثلاثة أشهر من الدراسة في قسم الجراحة في مستشفى جامعة تلمسان، تم تحديد 30 سلالة أين كانت هيمنة المكورات المعوية تم تحديد المقاومة للمضادات الحيوية باستخدام طريقة انتشار القرص وفقاً لمعايير قابلية الجمعية الفرنسية لعلم الأحياء المجهرية أظهرت السلالات المعزولة مقاومة متعددة تجاه العديد من المضادات الحيوية، بما في

amoxicilline+acide clavulanique (97%), la Ticarciline+acide clavulanique et le Céfotaxime (50%) Kanamycine(23.33%), Gentamycine(13.33%).

الكلمة عدوى المستشفيات، بكتيريا سلبية الغرام، المقاومة البكتيرية

SOMMAIRE

Introduction	01
Synthèse bibliographique	
1 Définition de l'infection nosocomiale	02
2Epidémiologie.....	02
3Fréquence.....	03
4 Les facteurs favorisant l'infection nosocomiale.....	03
4-1 Age du malade.....	03
4-2Les thérapies.....	03
4-3Les techniques de soins invasives.....	03
4-4 Personnel de soins.....	03
4-5 L'infrastructure hospitalière.....	04
4-6Les mouvements de personnes dans les services:	04
5Mode de contamination.....	04
5-1Contamination exogène:.....	04
5-2 Contamination endogène (auto-infection).....	04
5-3Contamination mixte.....	04
6Les agents infectieux.....	05
6-1Les entérobactéries	06
6-1-1 <i>Escherichia coli</i>	06
6-1-2 <i>Klebsiella</i>	06
6-1-3 Enterobacter.....	06
6-2 Moraxellacées	06
6-3 Les <i>pseudomonas</i>	06
2 Infection du site opératoire : INSO	08
1Critères diagnostiques des infections du site opératoire.....	09
2 Physiopathologie.....	10
2-1 Contamination per opératoire.....	10
2-2 Contamination postopératoire.....	10
3-Moyens de surveillance des infections.....	11
3-1 La classification d'Altemeier.....	11
3-2 Le score ASA	11
3 Antibiotique	13

1 La resistance bacterienne aux antibiotiques	14
1-1 Résistance naturelle (ou intrinsèque).....	15
1-2 Résistance acquise.....	15
2-Mécanisme de résistance	16
2-1 Inhibition enzymatique.....	16
2-2 Réduction de la perméabilité cellulaire.....	16
2-3 Altération (ou modification) des sites de liaison.....	16
2-4 Pompes (transporteurs) à efflux.....	16
3 La résistance des gram négatif aux antibiotiques.....	17
3-1 Résistance aux β -lactamines.....	17
3-2 Résistance aux quinolones.....	18
3-3 Résistance aux aminosides	18
3-4 Résistance aux sulfamides.....	18
4 Matériel et méthodes	
1-Origine des prélèvements.....	19
2 Matériels.....	19
2-1 Les milieux de culture.....	19
2-2 Tests biochimiques.....	19
2-3 Réactifs.....	19
2-4 Antibiotiques en disque.....	20
3 Méthodes.....	20
3-1 Prélèvement.....	20
3-2 Isolement.....	20
3-3 Purification.....	20
3-4 Coloration de Gram.....	20
3-5 Tests de catalase.....	21
3-6 Galerie API 20E.....	21
3-7 Antibiogramme.....	23
5 Résultats et discussion	
1 Résultats.....	25
1-1 La population.....	25
1-2 Pourcentage de résultats positifs et négatifs.....	25
1-3 La répartition des souches.....	26
1-4 La résistance aux antibiotiques.....	28
2 Discussion.....	29
2-1 Les entérobactéries.....	29

2-2 La résistance aux antibiotiques	29
Conclusion	31
Références bibliographiques	32
Annexe	36

Liste des figures

Figure1	Mode de transmission de l'infection nosocomiale (Hygie, 1998).....	05
Figure 2	Les niveaux d'infection du site opératoire (chadli et al 2005).....	09
Figure 3	Cibles des principaux antibiotiques (Benmouden et Hakkou, 2007).....	14
Figure 4	Préparation de la galerie Api 20E.....	22
Figure5	Dépôts des disques a la surface de la gélose.....	24
Figure 6	La répartition de la population étudiée en fonction du sexe.....	25
Figure 7	Pourcentage de résultats positifs et négatifs.....	26
Figure 8	Répartition des différents souches identifiées a partir des prélèvements sur les plaies	26
Figure 9	Exemple des résultats d'identification des bactéries selon Api 20 ^E infectées.....	27
Figure 10	Exemple de résultat d'antibiogramme des bactéries.....	28
Figure 11	Pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries au niveau du service de chirurgie A du CHU de Tlemcen.....	28

Liste des tableaux

Tableau 1	Présentation des principaux agents infectieux responsables d'infections nosocomiales avec leurs principales pathologies (signe clinique)(CCLIN Sud-Est.,2004).....	07
Tableau 2	Critères diagnostiques des infections du site opératoire (selon CTINLS). (Sfar,SRLF,2009).....	09
Tableau 3	Classification d'Altemeier proposée pour les actes opératoires.....	12
Tableau 4	Les principales familles d'antibiotiques (Avril,Fauchere,2008).....	13
Tableau 5	Mécanisme de résistance : (Mendel et al.,2009).....	17

Liste des abréviations

AME :Enzymes-Modifiant les Aminosités

Api20E :Appareillage et Procédé d'Identification

ASA :American Society of Anesthesiologists

ATB : Antibiotique

BGN :Bactérie Gram Négative

BHIB : Bouillon brainheart infusion broth(Bouillon Cœur Cerveau)

BMR :Bactériemultirésistante

C3G:Céphalosporinetroisième génération

CA-SFM:Comité d'antibiogramme de la société Française de Microbiologie

CDC :Centre for diseases control and prevention

CHU :Centre Hospitalier Universitaire

CLIN : Comité de lutte contre les infections nosocomiales

CTIN :Comité technique national des infections nosocomiales

IN :Infection nosocomiale

ISO : Infection du site opératoire

R :Résistante

S :Sensible

Introduction

L'hôpital est un lieu où l'on traite mais c'est également un lieu où le risque d'infection est très important et où les germes deviennent de plus en plus résistants. De ce fait, les infections contractées au niveau de l'hôpital sont reconnues comme des problèmes majeurs de santé publique de par leur fréquence, leur coût et leur gravité qui touche aussi bien les patients et leurs entourages que l'ensemble des professionnels de santé.

Ces infections dites nosocomiales, sont beaucoup plus liées aux procédures de soins et figurent parmi les principales causes de mortalité et de morbidité chez les patients hospitalisés, d'autant plus qu'au cours de ces dernières années, ces infections se sont considérablement diversifiées et sont devenues plus difficiles à prévenir, à diagnostiquer et à traiter (Stringre et Verdeil, 2002).

Les infections nosocomiales représentent un fardeau tant humain qu'économique pour les hôpitaux et pour la collectivité.

Actuellement, une forte pression est exercée pour introduire la qualité dans les établissements hospitaliers afin de les rendre plus efficaces et surtout répondre aux besoins de la population qui devient de plus en plus exigeante en matière de qualité et de sécurité des soins (Hygis, 1998).

En chirurgie les infections du site opératoire (ISO) sont également très fréquentes, surtout après certaines chirurgies (médiastiniques post-stéréotomie ou péritonite postopératoire, par exemple), ces infections sont responsables d'une mortalité qui peut atteindre 30%. L'infection du site opératoire résulte de la multiplication d'un agent infectieux.

Cette infection peut se manifester après un délai variable suivant la contamination qui peut elle-même se produire avant, pendant ou après l'intervention (Migaud et al., 2005).

Face aux problèmes que présente l'infection des plaies opératoires, nous avons essayé de réaliser une étude sur une durée de trois mois, (avril-juin 2014) dans le service de chirurgie A du CHU de Tlemcen.

L'objectif de notre travail a été de sélectionner et d'identifier les bactéries à Gram négatif responsables d'infections nosocomiales.

La démarche à suivre pour mener cette étude est la suivante :

- Identifier les bactéries à Gram négatif isolées dans le service de chirurgie A ;
- Etude du profil de résistance aux antibiotiques.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

1 Définition de l'infection nosocomiale

L'infection nosocomiale (**IN**) est une maladie infectieuse (bactérienne, fongique, parasitaire, virale) cliniquement ou microbiologiquement identifiable, contractée dans une structure de soins. Elle peut concerner soit le malade à la suite de soins ou d'investigations réalisés au cours d'une hospitalisation ou en ambulatoire, soit le personnel soignant, du fait de son activité. (Veyssier et al, 1996).

Nosocomial est un mot d'origine grecque venant de **nosos** (maladie) et de **komein**(soigner), terme latin **Nosocomium**=hôpital, utilisé pour définir les infections contractées en milieu hospitalier. (Montani et al., 2006).

L'infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation et si elle était absente à l'admission à l'hôpital. Ce critère est applicable à toutes les infections. Lorsque la situation précise à l'admission n'est pas connue un délai de 48h après l'admission est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire. (Missika et al., 2001).

Ce délai, correspondant à l'incubation minimal d'une infection aigue liée à une bactérie à croissance rapide, par exemple: entérobactérie, staphylocoque, est choisi de façon arbitraire pour faciliter le tri entre infection communautaire et infection nosocomiale pour la plupart des infections aiguës. (Veyssier et al., 1996).

Pour les infections du site opératoire on considère comme nosocomiale les infections survenues dans les 30 jours suivant l'intervention ou s'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant dans l'année qui suit l'intervention (Missika et al., 2001).

2Epidémiologie

Elle comporte trois maillons:

- Les agents infectieux
- Le mode de transmission
- Les sujets réceptifs

L'enchaînement de ces maillons est influencé par toute une série de causes circonstanciées qui vont faciliter le développement des germes, rendre plus efficace la transmission, fragiliser les malades. que nous appelons les "causes secondes". (Hygie, 1988).

3Fréquence

Les IN constituent actuellement un problème majeur de santé publique, de par sa fréquence, sa morbidité et la surmortalité qu'elle entraîne ainsi que par le coût de prise en charge. (Vaubourdolle, 2007).

En Algérie, une prédominance des infections urinaires symptomatique (30,8%) était observée dans l'enquête de 2001 suivies par les infections du site opératoire (26,9%) et les pneumonies(23,1%).

Lors des enquêtes de 2002 à 2004, les infections du site opératoireprédominaient suivies par les infections urinaires symptomatiques.

Enfin,les pneumonies étaient le site infectieux le plus recensé dans l'enquête de 2005 (41.7%).(Atif et al. ;2006).

4 Les facteurs favorisant l'infection nosocomiale

4-1Age du malade

IN se développera plus facilement chez un patient âgé et dont les défenses immunitaires sont affaiblies.

4-2Les thérapies

Certainespratiques thérapeutiques peuvent affaiblir les défenses immunitaires, comme les corticoïdes, les antibiotiqueset les immunodépresseurs.

Certaines bactéries deviennent résistantes au traitement anti-infectieux. Cette résistance est souvent liée à l'emploi d'antibiotique.

4-3Les techniques de soins invasives

Certaines techniques malgré les progrès considérable de l'asepsie, restent des actes à risque pour le patient, plus particulièrement: les poses de sondes urinaires, perfusion de drains de cathéter, la réalisation d'endoscopie.

4-4 Personnel de soins

Dans certains services, le personnel peut être en nombre limité ou insuffisamment formé et encadré, ce qui peut nuire à l'application des bonnes méthodes d'hygiène.(Gassier , 2006).

4-5 L'infrastructure hospitalière

L'infrastructure hospitalière et tout ce qu'elle comporte d'installation: les circuits d'alimentation en eau, en air, les revêtements muraux, les faux plafonds sont des réservoirs de germes.

4-6 Les mouvements de personnes dans les services:

L'hôpital est un lieu de soins pour les malades, de travail, pour le personnel et d'accueil pour les visiteurs. De nombreuses personnes rentrent fréquentent à l'hôpital à toutes les heures de jour et de la nuit. Et ceci tout au long de l'année. En conséquence, les risques de contamination des malades et du personnel par des micro-organismes pathogènes y sont élevés. (Gassier , 2006).

5 Mode de contamination

5-1 Contamination exogène:

La contamination exogène (**Exo= extérieur**) est la plus fréquente, elle peut se faire directement ou indirectement:

- De malade à malade ;
- De soignant à malade, ou de malade à soignant ;
- La contamination interhumaine est le principal mode de contamination avec un rôle majeur joué par les mains (transmission manu portée).

5-2 Contamination endogène (auto-infection)

Le malade s'auto-infecte avec ses propres germes, il a des défenses naturelles très amoindries ou parfois inexistantes. De ce fait sa propre flore microbienne naturelle devient agressive et nuisible et l'infection se déclenche (c'est souvent le cas avec l'infection urinaire à colibacilles) (Gassier et al.,2006).

5-3 Contamination mixte

D'abord exogène, par acquisition d'un germe hospitalier, qui s'intègre à la flore saprophyte de l'hôte et qui, plus tard, à l'occasion d'une défaillance des défenses immunes peut créer une infection. (Kernbaum., 1996).

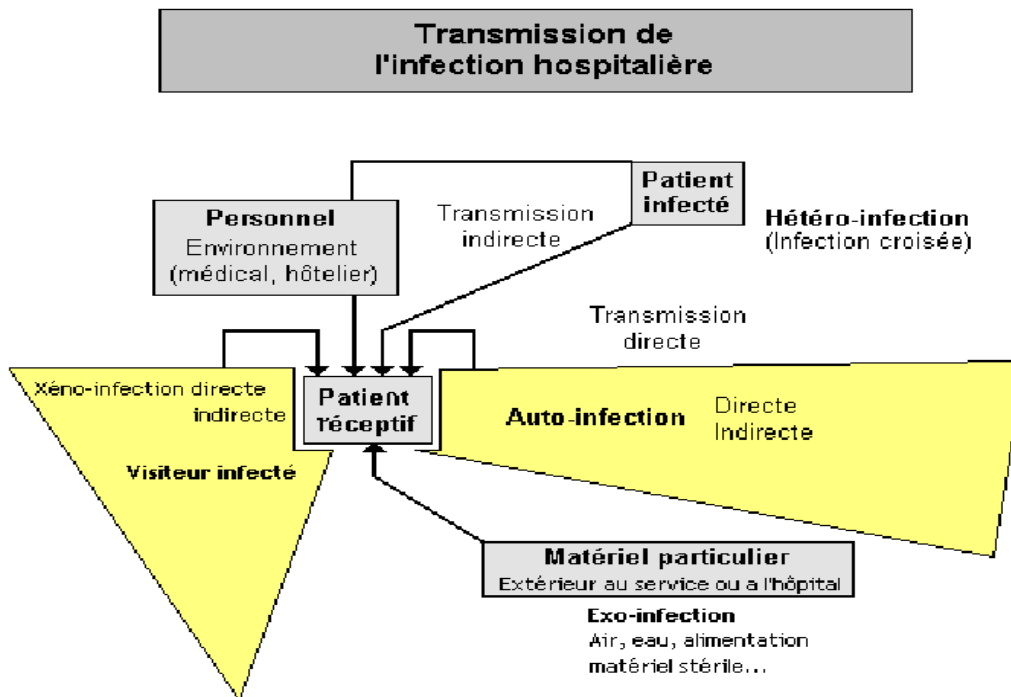


Figure-1 : Mode de transmission de l'infection nosocomiale (Hygie, 1998)

6 Les agents infectieux

Tous les micro-organismes cellulaires peuvent jouer un rôle lors d'infection. Ce sont les bactéries, les champignons, les protozoaires unicellulaires, qui se multiplient sur l'organe ou le tissu lésé, entraînant une pathologie dont l'évaluation dépendra de leur nombre ou de la production de métabolites ou de substances toxiques.

Les virus sont également des agents infectieux, mais ils dépendent du métabolisme de la cellule de l'hôte pour se répliquer.

Les prions ou agents transmissibles non conventionnels sont responsables de maladies neurologiques transmissibles d'un individu à l'autre mais ne possèdent ni une structure cellulaire, ni une structure virale, on parle alors seulement de transmission d'une infectiosité. (Darbord et al., 2003).

Les trois bactéries les plus fréquemment isolées des infections nosocomiales sont:

- ❖ *Escherichia coli*;
- ❖ *Staphylococcus aureus*;
- ❖ *Pseudomonas aeruginosa*

6-1 Les entérobactéries

Les entérobactéries représentent une des principales familles de bacilles à Gram négatif responsables d'infections humaines graves (Hamze, 1999).

6-1-1 *Escherichia coli*

Escherichia coli ou colibacille est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. C'est une entérobactérie qui se développe en 24h à 37°C dans les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées (Avril et al., 1992).

Leur facteur de pathogénicité se distingue dans la capsule qui est de nature polysaccharidique, les adhésines qui peuvent induire une adhésion à des globules rouges ou à des cellules épithéliales, et sa capacité de produire des toxines (Nauciel, 2000).

Escherichia coli provoque 40 à 50% dans toutes les infections nosocomiales (Verhaegen, 2004).

6-1-2 *Klebsiella* :

Les *Klebsiella* sont des bactéries responsables des infections opportunistes chez les malades fragilisés.

Ce sont des bacilles à Gram négatifs entourés d'une capsule mais il y a un cas exceptionnel environ 60% de *Klebsiella pneumoniae* et 18% de *Klebsiella oxytoca* sont dépourvues de capsule sont présentes dans le tube digestif (Euzéby, 2004).

6-1-3 *Enterobacter*

Sont des bacilles à Gram négatifs, anaérobies facultatives généralement mobiles.

Elles sont responsables d'infections nosocomiales dont les deux principales espèces sont *E. aerogenes* et *E. cloacae* (Delarras, 2007).

6-2 Moraxellacées

C'est une vaste famille dont le germe le plus étudié responsable des infections nosocomiales est *Acinetobacter*.

C'est un bacille à Gram négatif, aérobie strict, non fermentatif, immobile, oxydase négative, habituellement saprophyte, ubiquitaire et rencontré aussi dans la flore de la peau humaine (Avril et Fauchère, 2002).

6-3 Les *Pseudomonas*

Pseudomonas se distingue des entérobactéries est aujourd'hui reconnu comme un pathogène nosocomial majeur chez les patients immun compromis ou affaiblis (Pier, 2005).

Pseudomonas aeruginosa, autrement connu sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie Gram négative. Les bacilles sont fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire : ciliature monotriche, dépourvus de spores et de capsules.

P. aeruginosa fait partie des trois bactéries les plus souvent impliquées dans les infections opportunistes en médecine humaine (Minchella et al., 2010).

Tableau 1 : Présentation des principaux agents infectieux responsables d'infections nosocomiales avec leurs principales pathologies (signe clinique) (CCLIN Sud-Est., 2004).

Les bactéries	Habitat	Principales pathologies nosocomiales	Mention particulière
Bacilles à Gram négative (entérobactéries)			Une surveillance particulièrement vigilante doit être mise en œuvre pour dépister les entérobactéries porteuses de gènes de multi-résistance aux antibiotiques (beta-lactamases à spectre élargi ou BLSE, imipénémases) pour éviter leur propagation nosocomiale.
<i>Escherichia coli</i>	TD humain TD animal Environnemental (eau, aliments)	Diarrhée ; Suppuration ; Infection urinaire et génital ; Bactériémie	
<i>Klebsiella sp (K. pneumoniae)</i>	TD humain TD animal Environnemental	Suppuration ; Infection urinaire et génital ; Bactériémie ;	

	eau,sol,végétaux)	pneumopathie	
<i>Enterobactersp</i> (<i>E.aerogenes</i>)	TD humain TD animal Environnemental(eau,sol, Végétaux)	Suppuration ; Infection urinaire et génital ;Bactériémie ;pne umopathie	
Autre bacilles a Gram négatif			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Suppuration ; Infection urinaire et génital ; Bactériémie ; pneumopathie ;infection de la peau et des parties molles(plaie,brulure)	Bactérie souvent multi résistante aux antibiotiques et notamment a la Ticarcilline.
<i>Acinetobacterba umanii</i>	TD humain Environnemental (eau,sol)	Pneumopathie,Bactériém ie	Bactérie souvent multi résistante aux antibiotiques

TD :tube digestif

2-Infection du site opératoire : INSO

Infection du site opératoire est la 3^{ème} cause d'infection nosocomiale et la 1^{er} cause de morbidité et de mortalité en chirurgie. La mortalité attribuable est très variable selon le type de chirurgie et le terrain.

Une infection du site opératoire est une infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention, ou dans l'année s'il y a eu pose d'une prothèse (implant définitif tel que : valve cardiaque, prothèse articulaire, ...)(Osman,2007).

Il existe 3 niveaux d'infection (voir figure 2) :

- Les infections dites superficielles (60% des infections du site opératoire)
- Les infections profondes (25%)
- Les infections d'organe (15%) (Chadli et al., 2005).

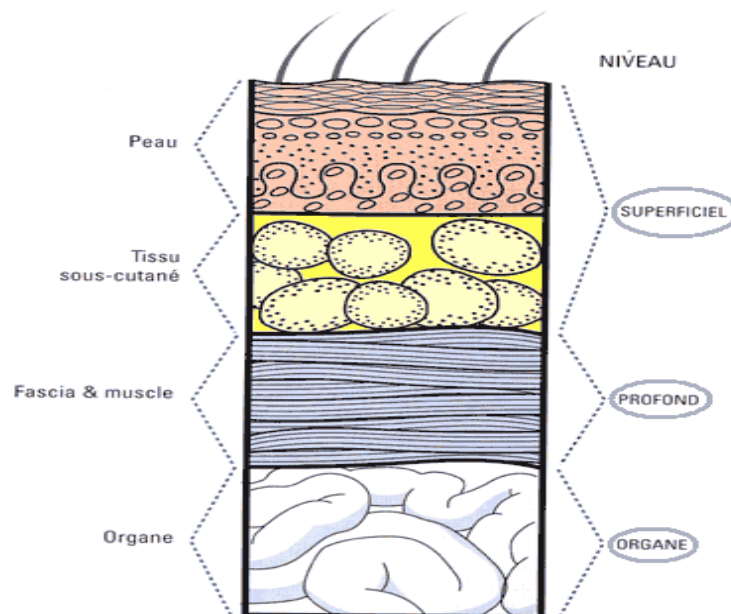


Figure Erreur ! Il n'y a pas de texte répondant à ce style dans ce document. :Les niveaux d'infection du site opératoire (chadli et al 2005).

Tableau2 :Critères diagnostiques des infections du site opératoire (selon CTINLS).(Sfar,SRLF,2009)

Infection superficielle de l'incision

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention et affectant la peau (ou les muqueuses), les tissus sous-cutanés ou les tissus situés au-dessus de l'aponévrose de revêtement, diagnostiquée par cas 1, 2 et 3.

Cas 1 :Écoulement purulent de l'incision.

Cas 2 : Microorganisme associé à des polynucléaires neutrophiles à l'examen direct, isolé par culture obtenue de façon aseptique du liquide produit par une incision superficielle ou d'un prélèvement tissulaire.

Cas 3 :Ouverture de l'incision par le chirurgien. Et présence de l'un des signes suivants : douleur ou sensibilité à la palpation, tuméfaction localisée, rougeur, chaleur.

Et microorganisme isolé par culture ou culture non faite (une culture négative, en l'absence de traitement antibiotique, exclut le cas).

Infection profonde (de l'incision ou de l'organe espace)

Infection survenant dans les 30 jours suivant l'intervention, ou dans l'année s'il y a eu mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique, affectant les tissus ou organes ou espaces situés au niveau ou au-dessous de l'aponévrose de revêtement, ou encore ouverts ou manipulés durant l'intervention, diagnostiquée par cas 1, 2 et 3.

Cas 1 : Écoulement purulent provenant d'un drain sous-aponévrotique ou placé dans l'organe ou le site ou l'espace.

Cas 2 : Déhiscence spontanée de l'incision ou ouverture par le chirurgien et au moins un des signes suivants : fièvre supérieure à 38,8°C, douleur localisée ou sensibilité à la palpation. Et microorganisme isolé par culture, obtenue de façon aseptique, d'un prélèvement de l'organe ou du site ou de l'espace ou culture non faite (une culture négative en l'absence de traitement antibiotique, exclut le cas).

Cas 3 : Abscesses ou autres signes d'infection observés lors d'une réintervention chirurgicale, d'un examen histopathologique, d'un examen d'imagerie ou d'un acte de radiologie interventionnelle

2 Physiopathologie

Les infections du site opératoires résultent de 2 types de contamination:

2-1 Contamination per opératoire

Le plus souvent à partir de bactéries endogènes de patient colonisé ou mal préparé, ou à partir de bactéries exogènes par manu portage.

L'infection endogène ou les germes en cause n'est pas originaire de l'hôpital, mais la maladie est consécutive à un acte médical qui permet leur multiplication (Ellenberg, 2005).

2-2 Contamination postopératoire

Très rarement, à partir de bactéries exogènes par manu portage lors des soins postopératoires (pansement, drains.) (Osman, 2007).

3 Moyens de surveillance des infections

Les indicateurs utilisés pour apprécier le risque de l'IN en chirurgie confirment tous le rapport existant entre le taux IN et la gravité de la situation du patient, la durée de l'intervention.

Cela démontre l'impossibilité de réduire complètement ce risque.

Trois indicateurs sont primordiaux :

3-1 La classification d'Altemeier

Elle reconnaît quatre types d'intervention tenant compte du type de chirurgie réalisée : propre, propre contaminée, contaminée, sale.

3-2 Le score ASA

Est celui de l'*American Society of Anaesthesiologist*

Il s'agit d'un score allant de 1 à 5 selon l'état général du patient.

Le score 1 correspond à un patient sans facteur de risque et le score 5 à un patient moribond où seule l'intervention chirurgicale peut offrir une chance de survie

- Un index de risque a été élaboré dans le cadre du réseau NNIS (National Nosocomial Infection Surveillance) appelé score NNIS des CDC.

Il utilise trois variables :

- La classe de contamination selon Altemeier ;
- L'état général du patient selon ASA ;
- La durée de l'intervention selon qu'elle s'étend sur moins ou plus de 2 h. Chaque variable est mesurée 0 si elle est absente ou 1 si elle est présente avec un index de risque variant de 0 à 3 (lobel, 2002).

Tableau 3 : Classification d'Altemeier proposée pour les actes opératoires
(Altemeier et al., 1984)

Classe I : Chirurgie propre

- Absence de traumatisme
- Pas d'inflammation dans la zone opératoire
- Pas de faute d'asepsie
- Pas d'ouverture des voies digestives,ou non génito-urinaire.

ClasseII :Chirurgie propre contaminée :

- Ouverture minime des voies digestives ou respiratoires
- Appendicectomie
- Chirurgie de l'oropharynx
- Chirurgie dans le vagin
- Chirurgie génito-urinaire en l'absence d'infection urinaire
- Chirurgie biliaire en l'absence d'infection biliaire faute d'asepsie

ClasseIII :Chirurgie contaminée

- Faute d'asepsie importante
- Ouverture large des voies digestives
- Plaie récente datant de moins de 4h
- Chirurgie urinaire ou biliaire avec liquide infectés

Classes IV : Chirurgie sale

- Inflammation aigue
- Abord d'une collection de pus plaie ouverte depuis plus de 4h,contenant des tissus nécrotiques

3 Antibiotique

L'utilisation des antibiotiques (ATB) a largement contribué à améliorer la santé des populations dans les 60 dernières années.

Un antibiotique est une substance d'origine biologique, c'est-à-dire produite par des microorganismes (champignon microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes.

Pour être efficace l'antibiotique doit pénétrer dans la bactérie sans être détruit ni modifié et se fixe sur une cible et perturbe la physiologie bactérienne. (Yala et al., 2001).

Tableau 4 Les principales familles d'antibiotiques (Avril et Fauchere, 2008)

Antibiotique	Mode d'action
Beta-lactamines Glycopeptides Fosfomycines	Action sur la paroi bactérienne
Polypeptides	Action sur la membrane cytoplasmique
Aminosides Tétracyclines Phénicoles Oxazolidines	Action sur la synthèse des protéines
Quinolones Sulfamides	Action sur la synthèse des ADN
Rifampicines	Action sur la synthèse d'ARN

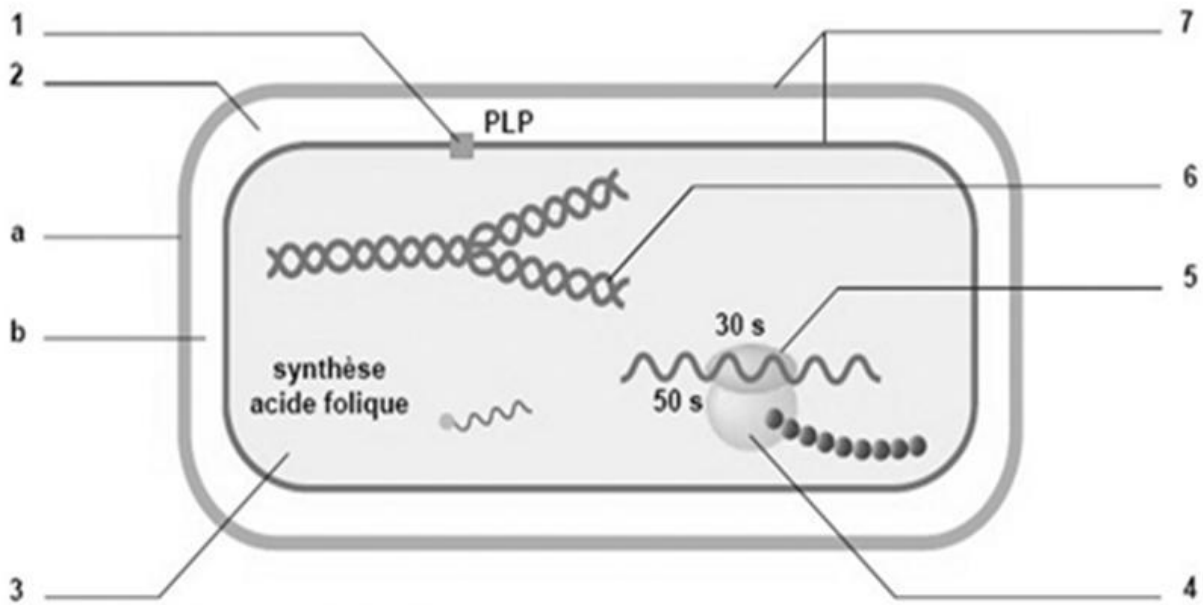


Figure 3. Cibles des principaux antibiotiques (Benlmouden et Hakkou, 2007).

a. Paroi bactérienne ; b. Espace périplasmique ; 1. β -lactamine (PLP) ; 2. Glycopeptides (Dala) ; 3. Dihydroptérorate synthétase (sulfamides) ; 4. Fixation à la sous-unité 50 S du ribosome (macrolides, synergistines, lincosamides, phénicolés) ; 5. Fixation à la sous-unité 30 S du ribosome (aminosides, tétracyclines) ; 6. Acides nucléiques (quinolones, rifamycines, nitro-imidazolés) ; 7. Membranes cytoplasmiques (polymyxines).

3-1 La résistance bactérienne aux antibiotiques

L'évolution rapide de la résistance bactérienne aux antibiotiques est un phénomène actuellement préoccupant dans les pays en voie de développement où les pathogènes résistants aux antibiotiques peuvent avoir une plus forte prévalence dans certains pays africains (Baba Ahmed et al., 2014).

L'Algérie est un pays du nord de l'Afrique où les récentes données de résistance aux antibiotiques indiquent une situation inquiétante.

En effet, ces dix dernières années ont été marquées par l'émergence et la dissémination de nouveaux gènes de résistance notamment dans le nord du pays. Les défis majeurs de cette résistance ont été rencontrés principalement chez différentes espèces d'entérobactéries dont les *Salmonella*, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter baumannii* (Paterson, 2006).

Les entérobactéries sont parmi les souches les plus fréquemment isolées chez les patients hospitalisés. Elles sont souvent responsables d'infections urinaires, pulmonaires, de septicémies mais également d'autres infections intra-abdominales(Paterson,2006).

3-1-1 Résistance naturelle (ou intrinsèque)

Les gènes de résistances font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à Gram négatif à la vancomycine est naturelle.

La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale)(Mendel et al.,2009)

3-1-2 Résistance acquise

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme. (Yamashita,2000)

3-2 Mécanisme de résistance

3-2-1 Inhibition enzymatique

Le micro-organisme produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique.

La production enzymatique peut être induite par un facteur externe (un autre antibiotique) ou constante (non affectée par stimuli externes).

On appelle inductible une résistance qui se produit à la suite d'une exposition à un agent d'une classe pharmacologique donnée et constitutive lorsque les gènes à l'origine de la résistance s'expriment en permanence, même en l'absence de tout antibiotique (**Tableau 5**).

3-2-2 Réduction de la perméabilité cellulaire

La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'antibiotique sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie. Une altération des porines dans la paroi des bactéries à Gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action.

3-2-3 Altération (ou modification) des sites de liaison

Phénomène engendré par des chromosomes ou des plasmides, ce mécanisme de résistance produit une baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action.

Voici quelques exemples de ce mécanisme de résistance :

1. Altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) aussi connues sous PBP (*Penicillin Binding Protein*) plus rarement, chez *Haemophilus influenzae*
- 2- Altération des sites de liaison ribosomiaux
- 3- Altération de l'ADN-gyrase et du topo isomérase
- 4- Altération des précurseurs cibles de la paroi cellulaire bactérienne
- 5- Altération des enzymes ciblées (Yamashita et al., 2000)

III-2-4 Pompes (transporteurs) à efflux

L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action par pompage actif de l'antibiotique à l'extérieure de la bactérie (efflux).

Les transporteurs d'efflux de plusieurs médicaments sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens.

Ces pompes ont besoin d'énergie. L'exposition aux antibiotiques favorise une surexpression par mutation de transporteurs, entraînant une hausse de la résistance bactérienne (Pitout et al., 2004).

Tableau 5 : Mécanisme de résistance : (Mendel et al., 2009)

Mécanismes de résistance	Conséquences
Inhibition enzymatique	Production d'une enzyme qui inactive ou détruit l'antibiotique ; Mécanisme de résistance le plus répandu.
Réduction de la perméabilité cellulaire	Changements de perméabilité de la paroi ou de la membrane bactérienne empêchant le médicament d'atteindre sa cible.
Altération des sites de liaison cibles par l'antibiotique	Baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action.
Pompes à efflux	Antibiotique éjecté de la cellule par transport actif et site d'action devenant inaccessible.

3-3 La résistance des gram négatif aux antibiotiques

3-3-1 Résistance aux β -lactamines

Les β -lactamines demeurent les antibiotiques les plus utilisés dans la pratique clinique courante. Cette large utilisation est principalement liée à leur faible toxicité, à leur pouvoir bactéricide et à la diversité des molécules. (Robin, 2012).

En effet, depuis l'introduction de la pénicilline G en thérapeutique dans les années 1940, un grand nombre de molécules incluant les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes a été développé. (Robin., 2012).

Cependant, les bactéries à Gram négatif hébergent naturellement et ont acquis différents mécanismes limitant leur activité. Ces résistances sont liées à un défaut d'accumulation au contact de la cible suite à une imperméabilité ou à un efflux de l'antibiotique, à des modifications des protéines liant la pénicilline (PLP) ou à la production d'enzymes inactivatrices appelées β -lactamases. (Ambler, 1980).

Ces enzymes sont capables d'ouvrir le cycle β -lactame en créant un intermédiaire acyl-enzyme instable, menant au final à la perte d'un groupement carboxyle (Ambler,1980).

III-3-2 Résistance aux quinolones

Les quinolones sont des antibiotiques de synthèse dont les cibles d'action sont les topoisomérases II (ADN gyrase) et topoisomérase IV. Ces molécules sont généralement classées en générations en fonction de leur spectre d'activité et leur date de mise sur le marché (Ball,2000).

la résistance chromosomique aux quinolones chez les entérobactéries résulte essentiellement d'accumulation de mutations dans l'ADN gyrase (GyrA, GyrB), puis dans la topoisomérase IV (ParC). (Ruiz,2003).

III-3-3 Résistance aux aminosides

Les aminosides continuent à jouer un rôle important dans le traitement des infections sévères dues aux pathogènes à Gram négatif souvent en association avec les β -lactamines à très large spectre. Ces antibiotiques agissent en se liant au site Aminoacyl (site A) de l'ARN16S de la petite sous-unité ribosomale 30S des procaryotes et interfèrent avec la synthèse des protéines. (Magnet et al.,2005).a liste des aminosides utilisés en thérapeutique humaine est restreinte puisque limitée à la Gentamicine, la Tobramycine, l'Amikacine et la Netilmicine. Leur utilisation a contribué à la sélection de souches résistantes par différents mécanismes incluant : les enzymes-modifiant les aminosides [AME], la diminution de la perméabilité membranaire, l'altération structurale de la cible ribosomale et l'expulsion de l'antibiotique par système d'efflux (Courvalin ,2008).

III-3-4 Résistance aux sulfamides

Les sulfamides (SUL) et le Triméthoprime (TMP) sont des antibiotiques de synthèse utilisés pendant plusieurs décennies en tant qu'agents antibactériens efficaces et bon marché en médecine humaine et vétérinaire.

La résistance aux sulfamides est apparue très peu de temps après leur utilisation en clinique. Chez les bacilles à Gram négatif, la résistance peut être due, soit à des mutations dans le gène chromosomique de la DHPS (folP) qui résultent en une diminution de l'affinité de la DHPS pour les sulfamides, soit à l'acquisition de gènes alternatifs (sul) qui codent des DHPS avec une affinité réduite aux sulfamides (Huovinen., 2001).

Matériel et méthodes

1 Origine des prélèvements

Notre étude allant de trois mois a pour but d'identifier les germes isolés à partir des plaies infectées et non infectées des patients ayant subi une intervention chirurgicale au niveau du service de chirurgie A.

2 Matériel

- * Ecouvillons stériles
- * Anse de platine
- * Pipette pasteur
- * Pipette graduées
- * boites de pétri
- * Tubes à essais
- * Tubes à hémolyse
- * Lames et lamelles
- * Etuve
- * Bec bunsen
- * Vortex

2-1 Les milieux de culture

Milieu de culture solide : Gélose Mac conkey

Milieu de culture liquide : Bouillon cœur cerveau (BHIB)

2-2 Tests biochimiques

Galerie API20E

2-3 Réactifs

VogesProskauer (VP1 ,VP2)

Disque d'oxydase

Huile de paraffine

Autre produit

Eauoxygénée

Eau distillé

Violet de gentiane

Lugol

Fuchsine

2-4 Antibiotiques en disque

Amoxicilline+acide clavulanique (AMC), Ticarciline (Tic) et Céfotaxime (CTX), Gentamycine(GEN),Kanamycine(K),Tobramycine(TOB),Imipéneme(IMP).(voir annex)

3 Méthodes

3-1 Prélèvement

Des prélèvements par écouvillonnage ont été réalisés à partir des plaies infectées et non infectées, la méthode consiste à faire passer un écouvillon stérile dans la plaie du malade de la façon profonde.

Les prélèvements sont ensuite acheminés dans une glacière au laboratoire de microbiologie(LAMAABE) etensemencés dans dans 5 ml de bouillon nutritif puis incubés pendant 24h à 37°C.

3-2 Isolement

L'isolement a été réalisé par ensemencement sur le milieu sélectif (gélose Mac conkey), ensuite les boites ont été incubées pendant 24h à 37°C.

3-3 Purification

Afin de confirmer la pureté des souches, nous avons effectué des repiquages successifs en alternant milieu liquide(bouillon nutritif) et milieu gélosé sélectif (Mac conkey), l'incubation a été faite à 37°C pendant 24h.

3-4 Coloration de Gram

La coloration de Gram est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie médicale; elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram +) ou pas (Gram -). L'intérêt de cette coloration est de donner une information rapide et médicalement importante.

Technique :

Cette coloration nécessite tout d'abord la fixation de la bactérie sur une lame (frottis).

1- Etalement: Avec une anse de platine stérilisée à la flamme du bec, étaler en un film mince et régulier une goutte de bouillon.

2- Stériliser l'anse de platine à la flamme du bec

3- Séchage du frottis: Laisser sécher la lame en la maintenant dans l'air chaud de la veilleuse du bec bunsen.

La technique de coloration

1-La coloration primaire: Recouvrir de violet de gentiane en versant le colorant en bout de lame et en le faisant glisser le long de la lame. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée pour éliminer l'excédent de colorant.

2-La fixation au lugol: Pencher la lame et éliminer le violet de gentiane en faisant couler sur la lame la solution de lugol. Laisser agir 30 secondes. Rincer à l'eau déminéralisée pour éliminer l'excédent de lugol.

3-La décoloration à l'alcool: Verser quelques gouttes d'alcool sur le frottis tenu verticalement jusqu'à ce que l'alcool s'écoule non teinté (5 secondes environ). Rincer avec un jet de pissette d'eau déminéralisée. Nettoyer le dessous de la lame à l'alcool puis à l'eau.

4-La coloration secondaire: Recolorer par de la fuschine en versant le colorant en bout de lame et en le faisant glisser le long de la lame. Ne pas verser la fuschine sur le frottis pour éviter une coloration trop intense. Laisser agir de 10 secondes à 20 secondes. Rincer avec un jet de pissette d'eau déminéralisée. Laisser sécher.

3-5 Tests de catalase

La catalase est une enzyme catalysant la dis mutation de l'eau oxygéné(peroxyde d'hydrogene en eau et oxygene). Cette enzyme est utilisée en bactériologie systématique pour l'identification des bacteries.

Technique

- Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes,
- A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien
- Observer immédiatement.
- Au contact d'une colonie isolée ou sur la pente d'une culture en gélose, déposer une goutte d'eau oxygénée
- Observer immédiatement

3-6 Galerie API 20E

Le système API 20^E (Appareillage et procede d'identification) est version miniaturisée etStandardisée des techniques conventionnelles pour l'identification des bacteries.

La galerie API20E comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratés.

Les tests sont inoculés avec une suspension bacterienne qui reconstitue les milieux.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélées par l'addition de réactifs.

Technique

Préparation de l'inoculum

Faire une suspension bactérienne, dans un tube d'eau distillé stérile avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé (**Figure3**)

Préparation de la galerie

réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation. (**Figure3**)



(1)



(2)



(3)



(4)

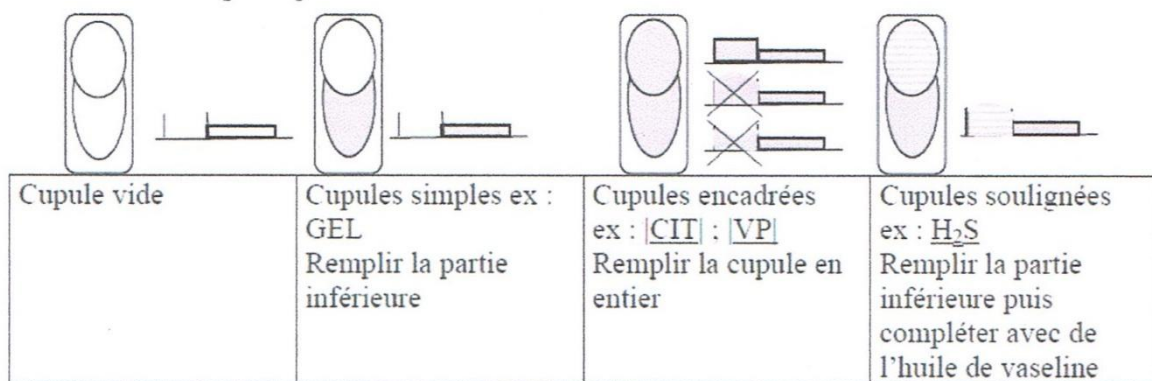
Figure 4 :Préparation de la galerie Api 20^E

(Photo personnel)

Inoculation de la galerie

Remplir les cupules de suspension en évitant les bulles d'air

Mode de remplissage :

**Lecture :**

Après incubation à 37 °C pendant 24h, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture, puis la lecture se fait avec un logiciel d'identification.

3-7 Antibiogramme

L'antibiogramme a été effectué par la méthode classique de diffusion de l'antibiotique sur gélose à partir des disques d'antibiotiques selon la recommandation du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2011).

Technique

- La gélose Mueller Hinton doit être coulée en boîtes sur une épaisseur de 4mm et séchées avant l'emploi.
- A partir d'une culture jeune de 18h à 24h, préparer une suspension d'une à deux colonies dans 10ml de BHIB et incubé sous agitation pendant 5h.
- Préparer une suspension bactérienne à partir de cette culture avec de l'eau physiologique stérile 0.9% son opacité doit être équivalente à une densité optique de 0.08 à 0.1 lue à 265nm (**Figure4**).
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne de la cuve afin de la décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas par stries serrées.

- Répéter l'opération deux fois, en retournant la boîte de 60° à chaque fois et il faut pivoter l'écouvillon sur lui même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

-Déposer les disques à la surface de la gélose en les appliquant délicatement

-Incubé 37°C-18h à Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurée et comparés aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture, puis la bactérie est classée dans des catégories :sensibles,intermédiaire ou résistante.

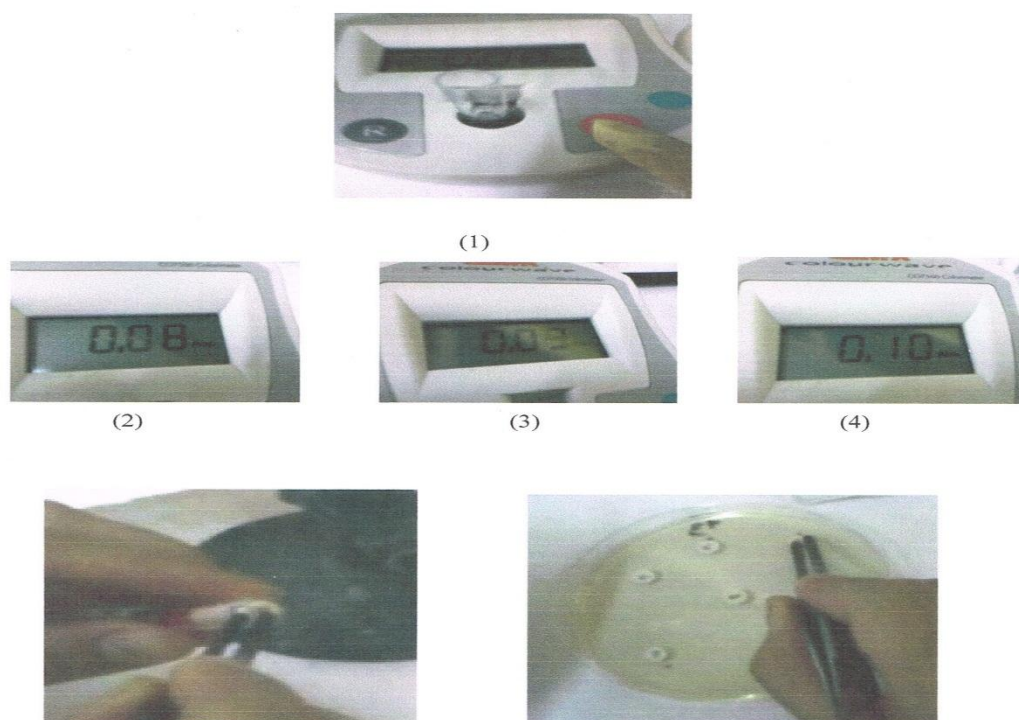


Figure 5 : Dépôt des disques à la surface de la gélose

Résultats et Discussion

5 Résultats et discussion

1 Résultats

1-1 Population étudiée

Durant la période d'étude allant d'Avril à Juin 2014, 74 prélèvements ont été effectués au niveau du service de chirurgie A du CHU de Tlemcen. A partir des patients opérés et hospitalisés, il s'agit de 41 femmes (55.40%) et 33 hommes (45%) (Figure 6).

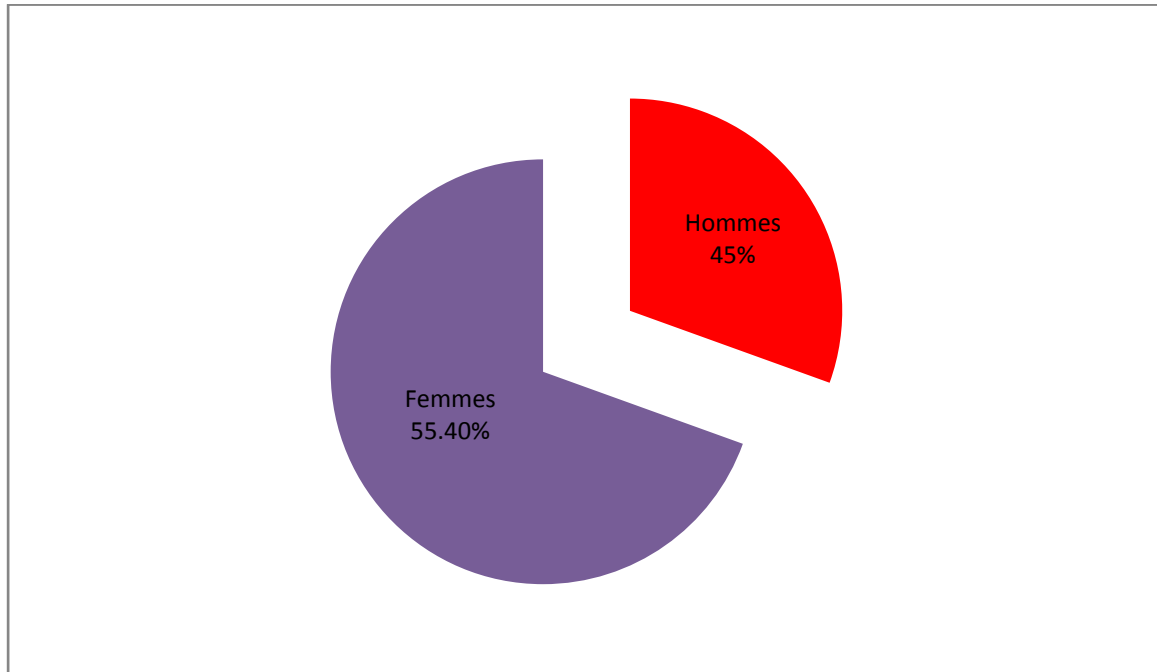


Figure 6 : Répartition de la population étudiée en fonction du sexe

1-2 Pourcentage des cultures positifs et négatifs

Sur les 74 prélèvements effectués dans le service, 53 cas se sont avérés positifs (cultures positives) (71.62%) ; et 21 cas négatifs (cultures négatives) (28.37%) (figure 7).

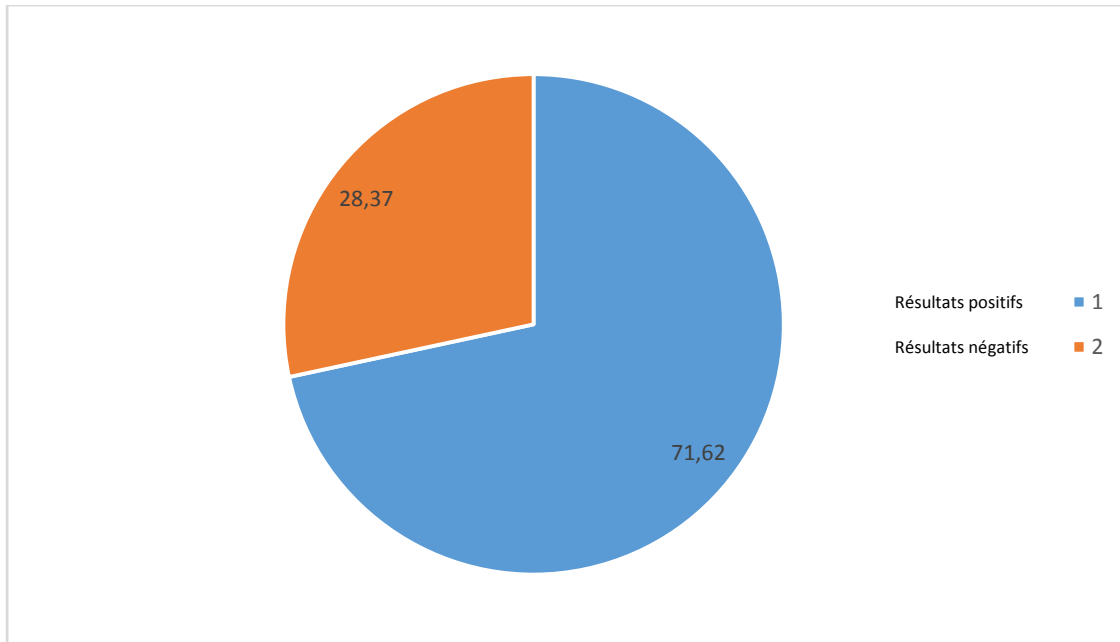


Figure 7 : Pourcentage des cultures positifs et négatifs

1-3 La répartition des souches

31 souches ont été identifiées avec la galerie Api 20E (figure 8).

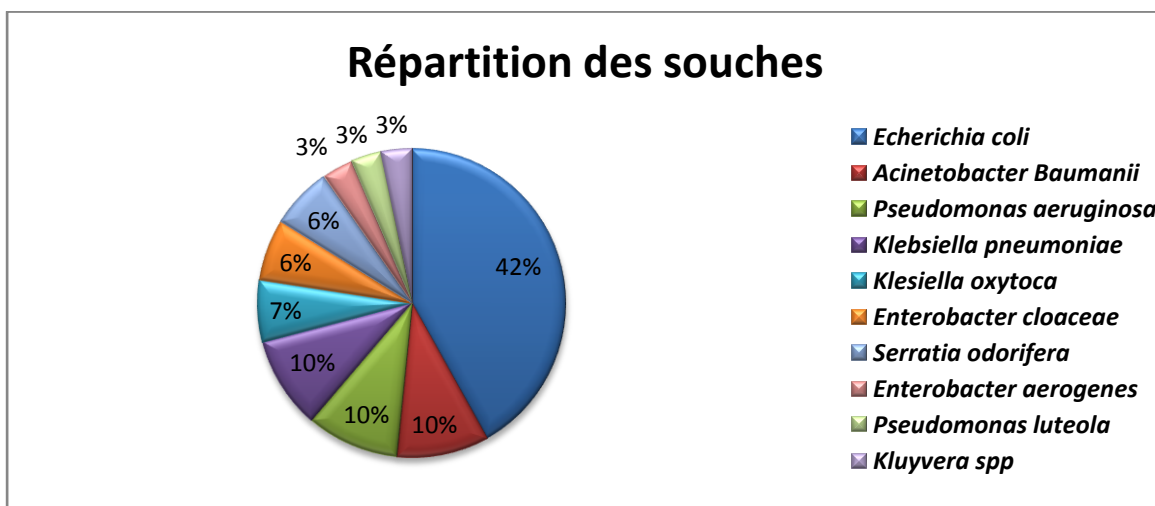


Figure 8 : répartition des différentes souches identifiées à partir des prélèvements sur les plaies infectées

D'après nos résultats, nous avons constaté que parmi les entérobactéries, l'espèce *E. coli* a été la plus dominante par rapport aux autres espèces avec un taux de 42 %, suivie de l'espèce *Acinetobacterbaumanii*, *Klebsiellapneumoniae* 10%, *Klebsiellaoxytoca*,

Entérobactercloaceae 6% et 7% , *kuyveraspp*, *Serratiaodorifera* 3%. *Entérobacter aerogenes* 3%.

Les autres BGN *Pseudomonas aeruginosa* 10% et *Pseudomonas luteola* 3%.

Les résultats d'identification par galerie Api 20E ont permis de révéler des espèces différentes (Figure9).



Kluyveraspp



Enterobacteraerogenes



Pseudomonasaerogenosa



Escherichia coli

Figure 9:Exemple des résultats d'identification des bacteries selon Api 20E

1-4 La résistance aux antibiotiques

Les souches identifiées ont été testées pour leur sensibilité aux antibiotiques par la méthode d'antibiogramme (annexe).(Figure9)



Figure 10 :Exemple de resultatd'antibiogramme des *Kluyveraspp*

a- Les entérobacteries

La fréquence des résistances des entérobactériesdiffère :Amoxicilline+acide clavulanique avec un taux de (97%),concernant la Ticarciline+acide clavulanique et Céfotaxime(50%).le taux de résistance de la Gentamycine(13.33%),Kanamycine(23.33%).

Nous avons enregistré aussi une sensibilité totale à l'Imipénème et à la tobramycine (figure 10).

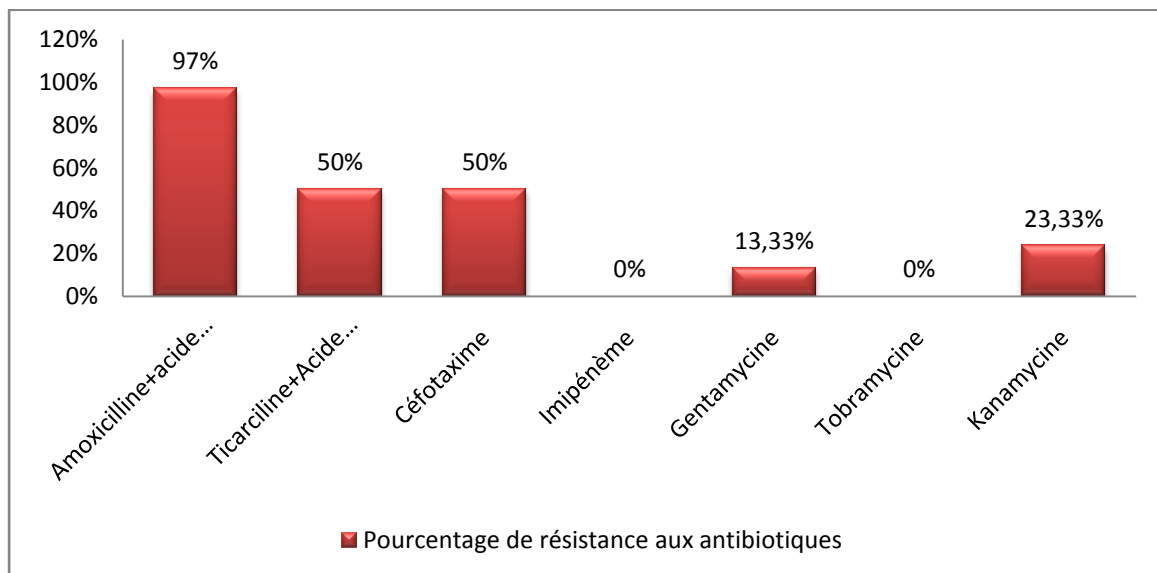


Figure 11 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries au niveau du service de chirurgie A du CHU de Tlemcen

2 Discussion

Au cour de cette étude, nous nous sommes intéressées à la flore a Gram négatif isolée a partir des plaies infectées et non infectées des patients afin d'évaluer le profil de résistance des bactériesincriminéesdans les infections nosocomiales.

Ces isolements nous ont permis néanmoins d'avoir une idée sur la constitution bactériologique de la flore microbienne hospitalière.

2-1 Les entérobacteries

Notre travail a permis d'isoler les bactériesà Gram négative (BGN) avec un taux de 58,49%, comparé aux autres pays, ce résultat reste inférieur à celui signalé par une étude tunisienne dans les hôpitaux de Charles Nicole de Tunis(Ennigrou et al(1992) et de Sousse (Dahmen,(2005) où les BGN représentent respectivement(70%)et (71,3%)des germes isolés.Parmi ces BGN, les entérobacteries qui sont responsables de la majorité des infections nosocomiales avec un taux de **87.09%**(27 souches).

Les entérobactéries sont également impliquées dans l'infection des plaies opératoire au même Titre que les staphylocoque au niveau service de chirurgie.ils sont dominés par l'espèce *Escherichia coli*(42%), suivie par*Acinetobacterbaumanii*, *Klebsiellapneumoniae*(10%),ensuite*Entérobactercloacae*,*Serratiaodorifera*(6%),*entérobactera erogenes*, *,kluuveraspp*(3%).

Ces resultats concordent parfaitement avec l'etude menée par (Messai et al(2007); Nadmia et al(2010)ou l'ensemble des entérobactéries isolées, *Escherichia coli* reste l'espèce la plus fréquente (37.1%), suivie par *Klebsiellapneumoniae*(21.4%).

L'espèce *P. aeruginosa* et *P. luteola* ont été également retrouvées avec des taux de (10%)et(3%).

2-2 La résistance aux antibiotiques

Les entérobacteries deviennent de plus en plus résistantes aux antibiotiques et commencent a franchir les limites de l'hôpital pour émerger dans la communauté.

la dissémination de ces bactéries présente une menace grave qui met en cause la validité de l'arsenal antibiotique actuellement disponible, d'autant plus qu'aucune classe nouvelle d'antibiotique n'est attendue dans les prochaines années.(Mkaouar et al (2008).

Pour la resistance a l'amoxicilline+acide clavulanique (**97%**) dans notre étude, ce taux est superieur a celui(Ferjani et al (2010) (**1,7%**) et a celui retrouvé a sidi bel Abbes avec (**86.4%**) (Souna(2010).

Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) occupent une place importante dans les infections nosocomiales. Ces bactéries deviennent de plus en plus résistantes aux antibiotiques et commencent à franchir les limites de l'hôpital pour émerger dans la communauté (Mkaouer et al., 2008) dans notre étude la résistance à la céfotaxime est de (50%).

Concernant la kanamycine (23.33%) des souches se sont révélées résistantes, cette prévalence étant supérieure à celle retrouvée dans l'étude de (Sorra et al., 2011) qui était de (8.7%).

Pour la gentamycine (13.33%) des souches étaient résistantes, contrairement à ce qui a été trouvé par (Menchella et al., 2008) dont le taux de résistance à la gentamycine était de (5%).

Selon l'étude de (Sorra et al., 2011) 100% des germes ont été résistants à ces antibiotiques.

Ces dix dernières années, nous avons constaté une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en Algérie en particulier chez les bacilles à Gram négatif. La nature de cette résistance devient de plus en plus inquiétante.

Ces souches ont été identifiées sous forme de petits foyers dans le nord de l'Algérie. Face à cette situation, une réflexion sur une meilleure utilisation des antibiotiques et la mise en place d'une politique pertinente de la surveillance de la résistance s'imposent afin de limiter la circulation des souches multirésistantes. (Magiorakos, 2012).

Conclusion

L'hôpital d'aujourd'hui doit conjuguer l'accessibilité, le confort, la technicité mais surtout la sécurité et la qualité des soins. Ces dernières sont beaucoup plus liées à la lutte contre les infections nosocomiales et à la promotion des bonnes pratiques d'hygiène.

Au terme de notre étude, sur 53 cultures positives, 31 souches ont été purifiées identifiées en tant que bactéries à Gram négatifs.

D'après les résultats, les entérobactéries ont été les plus dominants dont l'espèce *E coli*, *Acinetobacter baumannii*, *klebsiella pneumoniae*, *Entérobacter cloacae*, *Serratia odorifera*, *Entérobacter aerogenes* et *Kluyvera spp*.

D'autres espèces ont été retrouvées : *P aeruginosa* , et *P luteola*.

La majorité des souches isolées présente une multi résistance accrue vis-à-vis de la plus part des antibiotiques testés excepté pour Ipm et Tob.

Une meilleure maîtrise en termes d'hygiène hospitalière (renforcement de la formation du personnel aux règles préventives, précocité du dépistage. . .) et un meilleur contrôle de la consommation d'antibiotiques au sein de l'établissement seraient toutefois des facteurs favorisant une meilleure maîtrise des risques (**Belmonte,2010**).

Plus que jamais, c'est donc un travail de fond, continu que nous devons accomplir, et chaque acteur doit bien connaître sa place dans le système de santé, ce qui est une condition nécessaire de son autonomie professionnelle.

En perspective de ce travail,

- Il serait judicieux d'identifier ces gènes de résistance par des techniques moléculaires ;
- Allonger la période d'étude pour une population plus importante ;
- Identifier les cocci à Gram négatif.

Références

Bibliographiques

Altemeier W.A, Burke J.F, Pruitt B.A, Sandusky W.R. (1984).Manual on control of infection in Surgical Patients.Philadelphia,PA :J.B. Lippincon

Ambler RP(1980). The structure of beta-lactamases. Philos Trans R SocLond B Biol Sci;289:321–31.

Atif M.L, BezzaouchaaA, MesbahaS, DjellatoaS, BoubechouaN, Blounib R.(2006).

Evolution de la prévalence des infections nosocomiales dans un centre hospitalier universitaire en Algerie(2001a2005).Medecine et maladies infectieuses 36 423-428.

Avril J-L,DabernathH,Denis F, Monteil H.(1992).Bacteriologie Clinique 2eme edition,ParisEllupses:p 149-151.

AvrilJ-L,FauchèreJ-L(2002).Bactériologie générale et médicale,Paris :Ellipses.p :259-280-281.

Baba Ahmed-Kazi Tani Z, Arlet G.(2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. Pathologie Biologie, Volume 62, Issue 3, 169-178

Benmouden A. et Hakkou F. (2007). Antibiotiques : Mécanismes d'action et de résistance. Service de Pharmacologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc. La Chronique Ibn Rochd; 1: 46-54.

CCLIN (Centre de coordination et de lutte contre les infections nosocomiales). Prélèvements capillaires pour surveillance glycémiques. Recommandations de bonnes pratiques 2004.

ChadliM,RtabiN,AlkandryS,KoekJ.L,AchourA,BuissonY,BaajA.(2005). Incidence des infections du site opératoire etude prospective a l'hopital militaire d'instruction Mohamed-Vde Rabat,Maroc.Medecine et maladies infectieuses 35 218-222.

CourvalinP(2008). New plasmid-mediated resistances to antimicrobial agents. Arch Microbiol;189:289–91.

Dahmen S.(2005).Etude descriptive des bacteriesmultiresistantes dans les services a haut risque de l'hopitalSahloul durant l'année 2004.Mémoire de fin d'étude de Master

d'hygiène hospitalière. Faculté de Médecine de Sousse.

Darbord JC, Callanquin M, Dumartin C, Fleur F.(2003) Désinfection et stérilisation dans les établissements de soins. Paris Masson Ed :p3-55-110.

DelarrasC(2007).Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire,Paris :TEC&Doc. Lavoisier :20-25.

Ellenberg E.(2005).Analyse terminologique des définitions données à l'infection nosocomiale et proposition d'une définition La revue de medecine interne 20 572-577.

EnnigrouS,BenHassenA, Ben HamidaA,BaqueroF.(1992).Incidence de l'infection hospitalière dans 4 service a risqué.Maghreb Med :8-13

EuzébyJ-P(2004).Klebsiella.Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.Disponible sur :[http :www.caducee.net/dossierspecialises/infection/nosocomiales.asp](http://www.caducee.net/dossierspecialises/infection/nosocomiales.asp).

Ferjani A, Marzouk M, Ben Moussa F, Boukadida J,(March 2010).Résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées de prélèvements d'origine urinaire vis-à-vis de l'association amoxicilline–acide clavulanique et divers antibiotiques. Médecine et Maladies InfectieusesVolume 40, Issue 3 161–164

Gassier J, Le neures K, Peruzza E.(2006) .Guide aide-soignant. Paris Elsevier Masson Ed :p 424-425-431

HamzeM, hard D.(1999).Sensibilité des entérobacteries aux antibiotiques. Situation en 1997 au Nord du liban Med Mal Infect 29 :527-31.

HuovinenP(2001). Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole. Clin Infect Dis;32:1608–14.

Hygie V. (1988). Hygiène hospitalière. C&R Ed :p 18-21-55.

HygisN .(1998).Hygis N. Audurier A. Soussy CJ. Gulian C et all. Hygiène. Collection azay. Presses universitaires de LyonEd.1998:p13-35

Kernabaum S.(1996).Element de pathologie infectieuse. Paris Masson 6ème Ed.:p97

Lobel B. (2003). Infections urinaires nosocomiales (IN) en chirurgie (dont urologie) : qui traiter, quand traiter et comment traiter ?. Médecine et maladies infectieuses 33 483–487

MagiorakosA.P,Sirinivasan A, Carey R.B, Carmeli Y, alagas M.E, Giske C.G, et al.18 (2012) Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance ClinMicrobiol Infect, 268–281.

Magnet S, Blanchard JS(2005). Molecular insights into aminoglycoside action and resistance. *Chem Rev*;105:477–98.

Mandel G.L,BennettJ.E,DolinR,Mandell.(2009).Douglas and Bennrtt’s principles and practice of infectious diseases.Sixiemeedition,Elsevier,Churchill Livingstone editeurs,USA

Menchella A, MolinariL, DefezFougeronC,Lavigne J P, Sotto A, Bouziges N.(2008).Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Serratiamarcescens*,*Providenciastuartii**Morganellamorganii* au CHU de Nimes :2002-2006. Elsevier Masson SAS.

Messai L., Achour W. et Ben Hassen A. 2007. Profil épidémiologique des entérobactéries isolées chez des patients neutropéniques. *Pathologie Biologie*; 55: 230-234.

Migaud H, Senneville E, Gougeon F, MarchettiEAmzallagM,LaffargueP.(2005). Risque infectieux en chirurgie orthopédique EMC-Rhumatologie orthopédie 2151-172.

MinchellaA,MolinariL,Alonso S, BouzigesN,SottoA, LLavigne J-P(2010).Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006.*Pathologie Biologie.*;58:1-6

Missika P, Drouhet G. (2001). Hygiène, asepsie, ergonomie un défi permanent. CdPEd.2001:p115.

MkaouarD,MahjoubiF,Mezghani S, ZnazenA,KtariS,Hammami A,(2008).Etude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisiémegeneration dans les hopitaux de Sfax, Tunisie(1999-2005).*Medecine et maladies infectieuses* 38 293-298.

MontaniD ,Tcherakian C.(2006). Pneumologie. Paris Masson Elsevier Ed :p 23-24.

Nadmia H., Elotmani F., Talmi M., Zerouali K., Perrier-Gros-Claude J.D. et Timinouni M. 2010. Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes communautaires à El Jadida (Maroc). *Médecine et maladies infectieuses*; 40: 303-305.

Nauciel C. Vildé JL(2000). Bactériologie médicale. Paris Masson Ed :p5-15-47-128-148

Osman D. Bonnet MP. Boufferrache K(2007). Urgence réanimation. Paris Elsevier Masson Ed.2:p193

- Paterson DL(2006).** Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *Am J Infect Control*;34:S20–8.
- Pier G,Ramphal R.(2005).***Pseudomonas aeruginosa*.In :Principles and Practice of Infectious Diseases(MandellG,Bennett J and Dolin R eds)pp 2587-2615.
- Pitout JD, Hanson ND, Church DL, LauplandKB(2004).** Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended-spectrum β s-lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M Genes. *Clin Infect Dis*;38:1736-41.
- Robin F, Gibold L, Bonnet R.(2012)**Resistances naturelles et acquises aux b-lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne. *RFL*;445:47–58.
- Ruiz J(2003).** Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *J Antimicrob Chemother* ;51:1109–17.
- SchabregD.R,CluverD.H,Gaynes R.P.(1991).**Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection;*AM J Med*,91/72S-75S.
- SchabregD.R,CluverD.H,Gaynes R.P.(1991).**Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection;*AM J Med*,91/72S-75S.
- Société française d’anesthésie et de réanimation (Sfar), Société de réanimation de langue française (SRLF). (2009).** Prévention des infections nosocomiales en réanimation (transmission croisée et nouveau-né exclus).*Annales Françaises d’Anesthésie et de réanimation* 20 912-920.
- Soraa N.(2011).**Epidémiologie et profil de sensibilité des isolats d’hémocultures dans un centre hospitalo-universitaire marocain.*Revue Tunisienne d’infectiologie* 5(2) :78-81.
- Souna D.(2010).**Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au CHU de Sidi Bel Abbès. Mémoire de magister.
- Stringre;Verdeil X, 2002 .** -Stringre D. Verdeil X. Les infections nosocomiales. Les études hospitalières Ed.2002:p41-101-106
- Vaubourdolle M. (2007).**Infectiologie. Collection le moniteur internat. Wolterskluwer Ed :p 642-643.
- Verhaegen J(2004).** les entérobactéries. Disponible sur :[http :www.kuleuven.be/vesalisonline/UNIKEN%20KONGO.doc](http://www.kuleuven.be/vesalisonline/UNIKEN%20KONGO.doc).
- VeyssierP ,Domart Y.(1996).**Infections nosocomiales. Paris Masson Ed :p 1-63-71-79-82
- Yala D,MeradA.S,Mohamedid,Ouar KorichM.N2001.**classification et mode action des

antibiotiques.medecine du maghreb n°91.

Yamashita SK, Louie M, Simor AE, RachlisA(2000). Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit. *Can J Infect Dis*;11:107-11.

ANNEXES

Annexe N°01 : Tableau de lecture de la galerie API 20E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Resultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl galactosidase	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Orangé
CIT	Citrate de Sodium	Utilisation de citrate	Vert pale/jaune	Bleu
H2H	Thiosulfate de Sodium	Production d'H ₂ S	Incolore/grisatre	Dépôt noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA Immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND/2min	Anneau rouge
			Jaune	
VP	Pyruvate de Sodium	Production d'acétone	VP1+VP2/10min	
			incolore	Rosé/rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatine	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
MAN	Manitol	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
INO	Inositol	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/Oxydation	Bleu/bleu-vert	jaune

Annexe 2 : Valeurs critiques des antibiotiques utilisés pour les entérobactéries (CA-SFM, 2012)

Antibiotique	Symbole de disque	Charge de disque	Concentration critique (mg/L)		Diamètre critique (mn)	
			S	R	S	R
Amoxicilline/ac clavulanique	AMC	20/10 µg	≤4/2	>8/2	≥21	<16
Gentamycine	GN	15 µg.(10UI)	≤2	>4	≥18	<16
Kanamycine	K	30 UI	≤8	>16	≥17	<15
Tobramycine	TOB	30 µg	≤2	>4	≥18	<16
Céfotaxime	CTX	30 µg	≤1	>2	≥26	<23
Céfoxitine	FOX	30 µg	≤8	>32	≥22	<15
Ciprofloxacine	CIP	5 µg	≤0.5	>1	≥25	<22
céfuroxime	CXM	30 µg	≤8	>8	≥22	<22
Ofloxacine	OFX	5 µg	≤0.5	>1	≥25	<22
Acide nalidixique	NA	30 µg	≤8	>16	≥20	<15

Annexe3 : Tableau des résultats d'identification des entérobactéries isolées a partir des prélèvements sur les plaies infectées

Service	Type de prélèvement	Souches identifiées	Nombre de souche identifiée
Chirurgie A	Les plaies infectées	<i>E coli</i>	13
		<i>Acinetobacterbaumanii</i>	03
		<i>Klebsiellaoxytoca</i>	02
		<i>Klebsiellapneumoniae</i>	03
		<i>Entérobactercloacae</i>	02
		<i>Entérobacteraerogenes</i>	01
		<i>Serratiaodorifera</i>	02
		<i>Pseudomonas aerugenosa</i>	03
		<i>Pseudomonas luteola</i>	01
		<i>Kuyverasp</i>	01
Totale			31

Annexe4 :Tableau des résultats d'antibiogramme pour les souches isolées

	K	IPM	TOB	CTX	TCC	AMC	CN
<i>E coli</i>	S	S	S	S	R	R	S
<i>Ecoli</i>	S	S	S	S	R	R	S
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	S	S	S	S	S	R	S

<i>Klebsiellaoxytoca</i>	S	S	S	R	R	R	S
<i>Enterobactercloacae</i>	S	S	S	S	S	R	S
<i>Entérobacteraerogenes</i>	S	S	S	S	S	R	S
<i>Pseudomonas luteola</i>	S	S	S	R	R	R	S
<i>Pseudomonas aerugenosa</i>	S	S	S	R	S	R	S
<i>Kluyverasp</i>							
<i>Serratiaodorifera</i>	S	S	S	S	S	R	S
<i>Acinetobacterbaumani</i>	R	S	S	R	R	R	R