

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie  
Filière : Science biologique  
Spécialité : microbiologie fondamentale



Réf :.....

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

**MASTER**

*Thème*

**Caractérisation phénotypique des souches  
de SARM et de E-BLSE isolées d'El-Kettar**

Présenté par :

**CHALAL Lydia & HADDAD Saïda**

Soutenu le : **25 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M. NABTI El Hafid  
M. DJOUDI Ferhat  
Melle. YANAT Betitra

Professeur	Président
MCA	Encadreur
MCB	Examinatrice

**Année universitaire : 2017 / 2018**

# DEDICACE

A mes chers parents pour toute leur affection, les sacrifices consentis a mon égard, leur soutien et leurs encouragements, qui m'ont permis d'aller de l'avant et de toujours donner le meilleur de moi-même.

A mes sœurs et a mon grand frère pour leur présence a mes cotés.

A mon époux pour son affection et son soutien sans faille.

A mes amis en témoignage d'amitié qui nous unie et des souvenirs de tous les moments qu'on a passé ensemble, je vous dédie ce travail et vous souhaite une vie pleine de santé et bonheur.

A ma chère binôme Lydia

**SAIDA**

# DEDICACE

A mes chers parents pour toute leur affection, les sacrifices consentis a mon égard, leur soutien et leurs encouragements, qui m'ont permis d'aller de l'avant et de toujours donner le meilleur de moi-même

A mes petits frères pour leur présence a mes cotés, leur amour et leurs encouragements.

A mes amis pour leur soutien, leur aide et pour l'ambiance studieuse, fraternelle et sympathique qui a toujours règne entre nous, je vous dédie ce travail et vous souhaite une vie pleine de santé et bonheur.

A ma chère binôme Saïda

**LYDIA**

# REMERCIEMENTS

A Mr DJOUDI, nous vous sommes reconnaissantes pour avoir accepté de diriger ce travail. Vos conseils, vos encouragements nous ont permis de surmonter les difficultés rencontrées au cours de la réalisation de ce travail. Nous tenons à vous exprimer notre reconnaissance pour vos conseils apportés tout au long de ce parcours.

Messieurs les membres du jury, recevez nos plus vifs remerciements pour avoir accepté de juger ce travail.

Enfin, toute ma gratitude à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce document.

# SOMMAIRE

## Liste des abréviations

## Liste des tableaux

## Liste des figures

Introduction .....	1
--------------------	---

### Partie I : synthèse bibliographique

I- Les infections à <i>S. aureus</i> et entérobactéries dans le milieu hospitalier.....	2
I.1 Staphylocoques.....	2
I.1.1 Rappel historiques .....	2
I.1.2 Habitats et caractères généraux .....	2
I.1.3 Pathogénie et pouvoir pathogène.....	3
I-2 Entérobactéries .....	5
I.2.1 Rappel historiques .....	5
I.2.2 Habitat et caractère généraux .....	5
I.2.3 Pathogénie et pouvoir pathogène.....	6
II- Le staphylococcus aureus résistant à la méthicilline(SARM).....	7
II.1 Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline(SARM).....	7
II.2 Origine du SARM.....	7
II.3 Mécanismes de résistance à la méthicilline .....	8
III- Résistance des Entérobactéries aux $\beta$ lactamines.....	9
III.1 Résistance par production de $\beta$ -lactamases .....	9
III.2 Mécanismes d'action des $\beta$ -lactamases .....	10
III.3 Classification des $\beta$ -lactamases.....	11

### Partie II : Matériels et méthodes

I- Présentation de l'établissement hospitalier KATAR.....	15
II- Recueil des souches .....	15
III- Isolement et identifications .....	16
IV- Etude de la résistance.....	22

### Partie III : résultats et discussion

I- Identification des souches.....	28
------------------------------------	----

II-	Répartition des isolats en fonction de l'âge et du sexe .....	30
III-	Répartition des isolats selon la provenance des prélèvements.....	32
IV-	Prévalence des infections dues aux entérobactéries et aux staphylococcus aureus à l'hôpital El Kettar depuis 2014 .....	33
	<b>Conclusion.....</b>	<b>45</b>
	<b>Références bibliographique</b>	
	<b>Annexes</b>	

### Abréviations

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : Acide Ribonucléique

**BMR** : Bactéries Multirésistantes

**CHIPS** : Chemotaxis Inhibitory Protein of *S.aureus*

**ECBU** : Examen Cytobactériologique des Urines

**LCR** : Liquide Céphalorachidien

**BLSE** :  $\beta$ -lactamases à spectre élargi

**MLS** : Macrolides Lincosamides et Synergistine

**PLP** : Protéine Liant à la Pénicilline

**SARM** : *Staphylococcus aureus* Résistantes à la Méthicilline

**SCN** : Staphylocoque à Coagulase Négatif

**LPV** : Leucocidine de Panton et Valentine

**SCCmec** : Staphylococcal Cassette Chromosome mec

**MSCRAM** : Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules

**CFA-SFM** : Comité Français de L'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**EUCAST** : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

**PG** : Peptidoglycane

**OFX** : Ofloxacin

**PEN** : Pénicilline

**CTX** : Céfotaxime

**CAZ** : Céfotazidime

**FOX** : Cefoxitine

**ATM** : Aztréonam

**AMC** : Amoxicilline + acide clavulanique

**OXA** : oxacilline

**GMN** : Gentamycine

## Liste des abréviations

---

**RIF** : Rifampicine

**TEC** : Teicoplanine

**TET** : Tétracycline

**VAN** : Vancomycine

**CMN** : Clindamycine

**KAN** : Kanamycine

**AMK** : Amikacine

**IPM** : Imipinème

**ERY** : Erythromycine

**CRO** : Ceftriaxone

**FSF** : Fosfomycine

Liste des Tableaux

**Tableau I** : La classification des  $\beta$ -lactamases..... 10

**Tableau II** : Différents tests d'identification sur les souches isolées..... 18

**Tableau III** : Antibiotiques testés pour les entérobactéries et valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions selon l'EUCAST 2018..... 22

**Tableau IV** : Antibiotiques testés pour les staphylocoques et valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition selon l'EUCAST 2018 ..... 23

**En annexe**

**Tableau V** : Renseignement collectés aux cours de l'étude pour les souches d'entérobactéries ..... 49

**Tableau VI** : Identification des souches d'entérobactéries ..... 50

**Tableau VII** : Renseignement collectés au cours de l'étude pour les souches de staphylocoques ..... 51

**Tableau VIII** : Identification des souches de staphylocoques ..... 51

**Tableau IX** : Profils de résistances des souches d'entérobactéries vis-à-vis des divers antibiotiques ..... 52

**Tableau X** : Profils de résistance des souches staphylocoques vis-à-vis des divers antibiotiques ..... 53

Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : Position géographique de l'hôpital EL Hadi Flici ex El Kettar.....	15
<b>Figure 2</b> : Protocole d'identification des entérobactéries.....	16
<b>Figure 3</b> : Protocole d'identification des <i>staphylococcus aureus</i> .....	17
<b>Figure 4</b> : Aspect des colonies d'entérobactéries sur milieu GN et Mac conkey.....	28
<b>Figure 5</b> : Aspect des colonies de staphylococcus aureus sur Chapman.....	28
<b>Figure 6</b> : Aspect microscopique des entérobactéries après coloration de Gram.....	28
<b>Figure 7</b> : Aspect microscopique des Staphylococcus aureus après coloration de Gram .....	28
<b>Figure 8</b> : Répartition des isolats identifiés.....	29
<b>Figure 9</b> : Répartition d'entérobactéries par espèces .....	29
<b>Figure 10</b> : Répartition des souches d'entérobactéries par service.....	30
<b>Figure 11</b> : Répartition des isolats de <i>Staphylococcus aureus</i> selon la provenance du prélèvement .....	30
<b>Figure 12</b> : Répartition des isolats d'entérobactéries selon la nature du prélèvement.....	31
<b>Figure 13</b> : Répartition des isolats de <i>Staphylococcus aureus</i> selon la nature du Prélèvement .....	32
<b>Figure 14</b> : Répartition des isolats d'entérobactéries en fonction de catégorie d'âge.....	32
<b>Figure 15</b> : Répartition des isolats d'entérobactéries en fonction du sexe.....	32
<b>Figure 16</b> : Répartition des isolats de <i>S.aureus</i> en fonction de catégorie d'âge.....	33
<b>Figure 17</b> : Répartition des isolats de <i>S .aureus</i> en fonction du sexe.....	33
<b>Figure 18</b> : Prévalence des isolats entérobactéries de 2014 à ce jour .....	34
<b>Figure 19</b> : Prévalence des isolats de S.aureus de 2014 à ce jour .....	34
<b>Figure 20</b> : Résistance des isolats d'entérobactéries aux antibiotiques.....	36
<b>Figure 21</b> : Résistance des isolats de <i>S.aureus</i> aux antibiotiques.....	37
<b>Figure 22</b> : Taux d'isolats multirésistants .....	38

# Introduction

### Introduction

Le milieu hospitalier met en contact, des individus sains et de nombreux patients présentant des pathologies variées, infectieuses ou non. Chacun, en se déplaçant dans les locaux et en déplaçant du matériel, disperse des germes qui peuvent notamment se retrouver nombreux sur les surfaces, matériel médical et dans l'air faisant de l'environnement hospitalier une véritable niche écologique de germes (**Lemmens et al., 2004**).

Ceux-ci évoluent selon leurs capacités intrinsèques de résistance, et selon les désinfectants et antiseptiques utilisés pour le nettoyage et les soins.

Le développement et l'utilisation des antibiotiques depuis 70ans ont permis un recul majeur en termes de mortalité et de morbidité associées aux maladies infectieuses bactériennes à travers le monde. Bien que ces molécules aient sauvé des millions de patients, leurs utilisation est à l'origine d'une forte antibiorésistance concernant de plus en plus d'espèces et un nombre d'antibiotiques croissant.

Cependant, dans les pays en développement (PED), la pauvreté, la malnutrition, les mauvaises conditions d'Hygiène, l'accès insuffisant aux médicaments, l'absence de systèmes de soins efficaces, les crises gouvernementales, les guerres civiles et les déplacements fréquents de population ont considérablement contribué à l'émergence et à la dissémination de la résistance aux antibiotiques dans ces régions du monde.

L'élan de recherche qui a permis la mise en point de nombreuses familles d'antibiotiques s'est accompagnée d'un usage inapproprié, massif et répété en santé humaine. Ce phénomène a généré une pression sur les bactéries qui a développé des systèmes de défenses contre ces antibiotiques (**Ouedraogo, 2016**).

Plusieurs études menées dans les établissements de soins de longue-durée ont rapporté que les mains du personnel peuvent être des véhicules de bactéries pathogènes.

Au cours de notre travail nous nous sommes intéressées à l'isolement, l'identification et la caractérisation des isolats cliniques multirésistants de genre *Staphylococcus* et de la famille entérobactéries. L'objectif de notre étude est l'évaluation des taux d'infections nosocomiales dues aux Staphylocoques résistants à la méthicilline (SARM) et aux entérobactéries productrices de B-lactamases à spectre élargi (BLSE) au niveau de l'hôpital « El Kettar » et la caractérisation des phénotypes de la résistance des antibiotiques des souches isolées.

# Synthèse bibliographique

## I. Les infections à *S. aureus* et entérobactéries dans le milieu hospitalier

Les infections nosocomiales sont les infections acquise en milieu hospitalier (celles qui apparaissent plus de 48 heures après l'admission). Elles affectent 5 à 7% des patients hospitalisés. Les localisations les plus fréquentes sont voies urinaires (sur sonde), les plaies opératoires, l'appareil respiratoires (chez les malades sous ventilation assistée), les cathéters intravasculaires. Les bactéries responsables peuvent provenir de la flore du patient lui-même, mais elles proviennent le plus souvent d'autres patients et sont véhiculé par le personnel (surtout par manuportage), plus rarement la contamination provient du matériel médical, de l'eau ou de l'air (**Ouedraogo, 2016**).

Les bactéries en cause peuvent être des bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus*. Mais on trouve plus souvent des bactéries opportunistes : Entérobactéries, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acenitobacter*, entérocoque, etc. les bactéries à l'origine d'infections nosocomiales sont souvent résistantes à de nombreux antibiotiques, en raison de la pression de sélection qui existe en milieu hospitalier.

Les facteurs qui favorisent la survenue d'infections nosocomiales sont :

- Les gestes invasifs qui créent des brèches dans le revêtement cutanéomuqueux ;
- La mise en place de matériel étranger qui permet la formation de biofilms ;
- La pathologie sous-jacente qui peut affaiblir les mécanismes de défense de l'hôte ;
- La proximité d'autres malades infectés ;
- Le non-respect des mesures d'hygiène par le personnel en contact avec les malades ;

La lutte contre les infections nosocomiales s'appuie principalement sur le lavage des mains et l'utilisation aussi large que possible de matériel à usage unique (**Nauciel et al 2005 ; Valerie et al.,2012**).

### I.1. Staphylocoques

#### I.1.1. Rappel historique

Les staphylocoques ont été découverts dans un pus par Pasteur en 1880. En 1883, Ogston a créé le nom de « staphylocoque » pour décrire ces grains (coccus) groupé en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylle). En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries. Il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées (**Avril et al, 1992**).

### I.1.2. Habitat et caractères généraux

Les staphylocoques sont des bactéries de la flore commensale des mammifères. Chez l'homme, ils font partie de la flore résidante cutanée et des muqueuses. Ils jouent un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constituent une barrière contre l'implantation des bactéries de la flore transitoire. L'habitat préférentiel de *S.aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale. Cependant d'autres sites peuvent abriter cet organisme comme la peau, le périnée, pharynx, tractus gastro-intestinal, vagin et aisselles.

En outre, lorsque les narines sont traitées pour éliminer *S.aureus* du partage nasal, dans la plupart des cas, l'organisme disparaît aussi des autres régions du corps (**Schaechter et al., 1999**).

A l'examen microscopique, les staphylocoques se présentent sous l'aspect de coques en petit amas, en diplocoques ou en très courtes chainettes de 3 à 5 éléments positivement colorés en Gram. Cette disposition en amas s'explique par la division cellulaire des staphylocoques en trois plans successifs et perpendiculaire les uns des autres, et par le fait que les cellules filles ne se séparent pas complètement de la cellule mère dont elles sont issues (**Schaechter et al., 1999**).

Les staphylocoques sont des germes pyogènes, généralement aéro-anaérobie facultatif, leurs températures de croissances varient entre 30 à 45°C avec un optimum à 37°C ainsi que leurs PH compris entre 4.8 à 9.4 avec un optimum de 7,5. Ce sont des Cocci mesurant 0.7 à 1.2 µm, immobiles, asporulés, acapsulés ou ayant une faible capacité de synthèse de capsule (**Denis et al., 2011**).

Les staphylocoques sont des germes peu exigeants et peuvent être isolés en bouillon ordinaire ou sur milieu solide, formant un trouble homogène ou un dépôt après quelques heures de les avoir introduire dans ce bouillon. En milieu solide, ils s'apparaissent comme des colonies opaques, régulièrement rondes, lisses, plus au moins bombées de taille variable ( 1 à 3 mm ). La pigmentation des colonies peut varier du blanc au jaune orangé après 24 à 48h à température ambiante (**Denis et al., 2011**).

### I.1.3. Pathogénie et pouvoir pathogène

*Staphylococcus aureus* peut devenir pathogène suite aux diverses circonstances d'où la pénétration du germe dans l'organisme et le plus souvent après la rupture de la barrière cutanée (blessures, interventions chirurgicales, brûlures, dermatoses, injections, cathéters, ..... ) ou au niveau d'un follicule pileux. Il s'ensuit une multiplication bactérienne avec production d'enzymes et de toxines correspondant à l'expression de la virulence du germe (**Avril et al. 1992**).

En phase exponentielle les facteurs de virulence telle que la protéine A, la protéine de liaison aux fibronectines, le facteur d'agglutination ainsi que les éléments du MSCRAMM (Microbial surface component recognizing adhesive matrix molécules) sont exposés à la surface cellulaire permettant l'adhésion, la colonisation des tissus ainsi que l'échappement au système immunitaire. En phase stationnaire ils sont remplacés par d'autres facteurs de virulence à savoir, cytosine, super antigènes et autres exo-enzymes d'invasion et de destruction des tissus (**Schaechter et al.,1999; Ouedraogo, 2016**).

La LPV (leucocidine de Panton & Valentine) est une toxine qui entraîne des pores au niveau des membranes des polynucléaires neutrophiles, macrophage monocytes. Induit leurs destructions (apoptose, nécrose) par libération de cytokines, protéase intracellulaire. Elle est codés par les gènes LukS-PV et LukF-PV de *S.aureus* portés par bactériophage (**Madec et al., 2010; Parvez et al., 2018**).

Ils comptent parmi les facteurs les plus importants dans la pathogénèse de *S.aureus* sont ceux d'adhésion qui constituent le moyen par lequel il se lie aux cellules de l'hôte grâce à des protéines de surface appelé « andésines » sous le nom « MSCRAMM ». Ces protéines se lies à des molécules telles que collagène, fibronectines et fibrinogène, initient par la suite les infections endovasculaire, osseuses et articulaire... etc (**Schaechter et al ., 1999**).

*S. aureus* possède une large gamme d'enzymes extracellulaire qui font partie des facteurs d'invasions responsables de la destruction des tissus ainsi que sa diffusion : la protéase, lipase et nucléase de plus des protéines de liaison aux fibronectines et l'epidermolysine (**Schaechter et al .,1999**).

La plupart des isolats de *S.aureus* s'échappent à l'immunité par production d'une protéine d'inhibition de chimiotactisme appelée « CHIPS » inhibant la migration des neutrophiles du sang vers le site d'infection. D'autre part, la protéine A empêche les immunoglobulines IgG de fonctionner autant qu'anticorps contre les germes envahisseurs puisque leurs parties Fab normalement impliqué dans la liaison antigène-anticorps « flotte »librement à la surface des bactéries, ce qui explique l'effet phagocytaire de la protéine A. Ainsi que la production des super-antigènes conduit à la stimulation des lymphocytes T par production massives de cytokines. L'exemple le plus étudié étant la toxine du choc staphylococcique (**Schaechter et al., 1999**).

D'autres facteurs comme la coagulase, sont impliqués dans les changements extracellulaires qui favorisent la formation des abcès. Beaucoup de ces produits bactériens ont été purifiés et leurs activités ont été caractérisées (**Schaechter et al., 1999**).

## I.2. Entérobactéries

### I.2.1. Rappel historique

La naissance de la famille des *Enterobacteriaceae* se situe entre 1937 lorsqu'Otto RAHN proposa le genre *Enterobacter* pour regrouper les microorganismes présentant des propriétés biochimiques et morphologiques communes et parmi lesquels on trouvait déjà des noms tels qu'*Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus* ou *Shigella*.

Deux années après cette description qui concernait 112 espèces, ce nombre fut ramené à 67 (**Perrière 1992; Brenner, 1981**).

Les travaux des équipes de Don BRENNER et de Patrick A.D GRIMONT ont permis une véritable explosion de cette famille avec un très grand nombre de nouveaux genres et espèces décrits depuis une vingtaine d'années.

En 1972, EDWARDS et EWING rapportaient 11 genres et 26 espèces dans la famille des *Enterobacteriaceae* (**Izard et al., 1979; Grimont et al., 2006**).

En 1973, 31 genres et 139 espèces étaient caractérisés. En 1985, FERMER et COLL décrivaient 22 genres comprenant 69 espèces et 29 groupes entériques (**Nhung et al., 2007; Niang 2003; Farmer et al., 1985**).

### I.2.2. Habitat et caractères généraux :

Les entérobactéries sont des bacilles à gram négatif, appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*, aéro-anaérobie facultatifs, retrouvé partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux (**Sougakoff et al., 2003; Hart et al., 1997**).

Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces. Leurs abondances dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine, surtout en milieu hospitalier (**Laterre et al., 2006; Gribo, 2016**).

La famille des entérobactéries se définit par : 2 à 4 microns de long sur 0.4 à 0.6 microns de large, mobile avec ciliature péritriche ou immobile, poussant sur milieux de culture ordinaire, aéro-anaérobie facultatif, fermente le glucose avec ou sans production de gaz, réduisant les nitrates en nitrites, oxydase négatif, catalase positive et un taux de G+C % du DNA compris entre 38 et 60 mol % (**Avril et al., 1992**).

Les entérobactéries poussent toute sur toute sur milieu de Mac Conkey qui différencie les espèces qui ferment le lactose (colonies rosés) de celles qui n'en sont pas capable (colonies jaunes pâle) (**Hart et al., 1997**).

### **I.2.3. Pathogénie et pouvoir pathogènes**

Les bactéries pathogènes sont capables d'envahir l'organisme et de s'y multiplier, en général dans un site privilégié. Pour cela elles ont besoin d'armes offensives leur permettant de franchir les barrières anatomiques (les muqueuses les plus souvent) et éventuellement d'agresser l'hôte par la libération de substances nocives (les toxines). Elles ont aussi besoin d'armes défensives pour échapper aux mécanismes de défenses de l'hôte (phagocyte, complément). Enfin elles ont besoin de trouver les nutriments nécessaires à leur multiplication (**Nauciel et al., 2005; Schaechter et al., 1999**).

Le pouvoir pathogène des bactéries dépend donc généralement de nombreux facteurs .Certains de ces facteurs de pathogénicité sont codés par des gènes extra-chromosomiques (situés sur des plasmides ou des prophages), d'où leurs caractère inconstant dans l'espèce. Dans certaines espèces bactériennes les gènes chromosomiques codants des facteurs de pathogénicité peuvent être regroupés dans une région qu'on appel îlot de pathogénicité, ces segments d'ADN semblent avoir été acquis en cours de l'évolution par transfert horizontal .En effet des homologues de séquences peuvent être trouvé dans des îlots de pathogénicité appartenant à des espèces différentes. Dans une espèce bactérienne donnée les facteurs de pathogénicité sont loin d'être réparti de manière égale cela explique qu'à l'intérieur d'une même espèce comme *Escherichia coli* par exemple, le pouvoir pathogène puisse varier de manière importante suivants les espèces (**Mainil et al.,2004; Rousset et al., 2012**).

Pour qu'elles puissent coloniser et éventuellement envahir les muqueuses, les bactéries à Gram négatif doivent d'abord adhérer grâce à des protéines de surfaces qui s'interagissent spécifiquement avec les récepteurs de l'hôte et qui sont exprimées sur des pili. Peuvent ainsi synthétiser des protéines qui perturbent le fonctionnement des cellules eucaryotes (modification fonctionnel chez les deux protagonistes) .certains de ces bactéries possèdent à leurs surface des structures qui les protèges de la phagocytose : la capsule, constituant de la paroi LPS (**Nauciel et al., 2005**).

Les bactéries à Gram négatif pathogènes sont généralement résistantes à l'action du complément (échappement aux systèmes immunitaires) grâce à des structures de surfaces qui empêchent l'activation du complément ou bien empêchent l'insertion du complexe lytique dans la membrane externe (**Nauciel et al.,2005**).

Certaines bactéries produisent des IgA1 endoprotéase qui inactivent les molécules d'IgA présentes dans les sécrétions muqueuses, ainsi pour échapper à la reconnaissance par les anticorps produits par l'hôte caractérisé par la variation de leurs antigènes de surface (Laterre et al., 2006; Gribo, 2016).

Les bactéries pathogènes doivent posséder des systèmes de captation du fer (sidérophores) capables d'entrer en compétition avec les protéines qui transportent le fer chez l'hôte (lactoferrine, transferrine) (Naucliel et al., 2005).

L'expression de certains facteurs de pathogénicité peut être régulée par des signaux provenant de l'environnement de la bactérie tels que la température, la concentration en fer, calcium, ou en oxygène, le contact avec une cellule eucaryote.

## **II. Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM)**

### **II.1. Généralités sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM)**

Les souches de SARM sont les *Staphylococcus aureus* manifestent une résistance vis-à-vis de la méthicilline et un grand nombre d'autres  $\beta$ -lactamines. Dans les années quarante, la pénicilline était l'antibiotique de choix pour traiter les infections à *S. aureus*, cependant cette sensibilité à la pénicilline a été de courte durée suite à l'apparition de souches résistantes productrices de  $\beta$ -lactamines. De nouvelles molécules furent alors commercialisées, et deux ans après l'introduction de la méthicilline en 1959 comme un antistaphylococcique puissant, les premières souches résistantes à cette molécule ont été rapportées en Angleterre, et actuellement les souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) ont une distribution mondiale. En effet la dissémination d'un ou de plusieurs clones de SARM à l'échelle du même pays entre les continents a été rapportée (Denis et al., 2011; Hart et al., 1997).

Par ailleurs, depuis les années 1990, des infections communautaires aux SARM ont été décrites en Australie, en Amérique du nord et en Europe. Hormis des personnes en contact avec une structure de soin, ces épisodes concernaient des communautés spécifiques (indiens sportifs, prisons) ou des défauts d'hygiène étaient constatés (Del Giudice et al., 2012).

#### **II.1.1 Origine du SARM**

Le SARM naît après avoir acquis, par transfert horizontal, un élément génétique mobile particulier appelé « Staphylococcal Cassette Chromosome mec » (SCCmec), véhiculant le gène *mecA* et qui code pour la résistance à la méthicilline.

Le SCCmec n'a été retrouvé que dans le genre *Staphylococcus* mais le premier donneur demeure toujours inconnu. Néanmoins, *Staphylococcus sciuri* à une PLP intrinsèque présentant 87.8% d'homologie avec PLP 2a codée par le gène *mecA*. Ces observations suggèrent que le gène codant pour cette PLP de *Staphylococcus sciuri* serait le précurseur du *mecA* (Hart et al., 1997; Del Giudice et al., 2012).

### II.1.2. Mécanismes de résistance à la méthicilline

La méthicilline et les autres  $\beta$ -lactamines agissent comme des analogues de substrats, empêchent ainsi la synthèse de la paroi cellulaire. En présence d'une  $\beta$ -lactamines les souches sensibles ont de ce fait une paroi fragilisée et sont incapables de résister aux chocs osmotiques. Mais les souches résistantes ont souvent acquis des gènes qui codent des variants de PLP ayant une faible affinité pour les  $\beta$ -lactamines (Denis et al., 2011).

Deux principaux mécanismes sont impliqués dans la résistance acquise de *S.aureus* aux  $\beta$ -lactamines : la production de  $\beta$ -lactamases et la modification de la cible des antibiotiques.

#### a. Production de $\beta$ -lactamases

Les  $\beta$ -lactamases staphylococciques appartiennent au sous-groupe 2a dans la classification de Bush. Ceux sont des enzymes le plus souvent de support plasmidique ou transposable et sont extrêmement fréquentes, retrouvés chez 80 à 90% des isolats de *S.aureus*. Ces enzymes sont libérées dans le milieu extracellulaire et inactivent la pénicilline G, les aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline), les carboxypénicillines (ticarcilline) et les ureidopénicillines (pipéracilline), alors que les pénicillines M (méthicilline), les céphalosporines et les carbapénèmes (imipénème) sont peu ou pas hydrolysées. Les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases comme l'acide clavulanique restaurant l'activité des pénicillines (Avril et al., 1992).

Les  $\beta$ -lactamases staphylococciques sont inductibles, la méthicilline et le Céfotaxime étant les inducteurs les plus puissants. Ces enzymes sont codées par le gène *blaZ*. L'expression du *blaZ* est régulée par deux gènes, *blaZ1* et *blaI* situés en amont et transcrits en direction opposée à *blaZ*. Les souches de *S. aureus* présentant un tel phénotype de résistance sont appelées les souches BORSA (pour Borderline *S.aureus*) (Avril et al., 1992; Nauciel et al., 2005).

#### b. La résistance par modification de la cible

Elle est due à la production d'une nouvelle PLP, appelée PLP2a (ou PLP2') présentant peu d'affinité pour la méthicilline et toutes les autres  $\beta$ -lactamines. La PLP2a est codée par le gène *mecA* dont l'expression dépend au moins de deux systèmes régulateurs

agissant au niveau transcriptionnel : le système de gènes *mecI* et *mecRI* situé en amont du gène *mecA* et le système *blaI* et *blaRI* situés en amont du gène *blaZ* de la pénicillinase. La protéine MecR1, produit du gène *mecRI*, agirait comme transducteur de signal et détecté la présence de  $\beta$ -lactamines grâce à son domaine extracellulaire. Une fois l'antibiotique lié, il ya activation du domaine intracellulaire. Celui-ci subirait une activation par protéolyse limitée lui conférant une activité protéasique. Cette dernière conduit a la dégradation du MecI (répresseur de la transcription codé par *mecI*) qui est fixé au niveau de l'opérateur d'où libération de ce dernier et expression du *mecA* (Figure4) (Del Giudice et al., 2012; Calop et al., 2012).

Le système *mecI-mecRI* exerce une répression transcriptionnelle sur *mecA* plus importante que celle exercée par le système *blaI-blaRI*. il semble que la majorité des SARM aient un système *mecI-mecRI* non fonctionnel soit par délétion de ces gènes soit par mutation ponctuelle. Le système *blaI-blaRI* prend alors le contrôle du gène *mecA* et la transcription de ce gène devient inductible (Calop et al., 2012; Lowy, 2003).

Il existe également des souches de *S.aureus* présentant une résistance limitée ou de bas niveau a la méthicilline et qui n'expriment ni le gène *blaZ*. Ceux sont en fait les souches appelées MODSA (pour Modified *S.aureus*) dont la résistance est due soit a une hyperproduction de PLP4 soit à la synthèse d'un autre type de PLP modifiée (Calop et al., 2012; Lowy, 2003).

### III. Résistance des Entérobactéries aux $\beta$ lactamines

#### III.1. Résistance par production de $\beta$ -lactamases

##### III.1.1. Généralité sur les $\beta$ -lactamases

La synthèse d'une ou de plusieurs  $\beta$ -lactamases représente le mécanisme le plus répandu et le plus efficace utilisé par les bactéries pour échapper à l'action létale des  $\beta$ -lactamines. Ces enzymes catalysent l'hydrolyse du cycle  $\beta$ - lactame, inactivant ainsi les  $\beta$ -lactamines (Cavallo et al., 2004).

Il existe deux types de classification des  $\beta$ -lactamases : la classification moléculaire (classification d'Amblar) qui regroupe les pénicillinases (classe A), les métallo- $\beta$ -lactamases (classe B), les céphalosporinases (classe c) et les oxacillinases (classe D) et la classification fonctionnelle de bush, jacoby et Medeiros qui est basée sur l'inhibition par l'EDTA et le spectre de substrat (Bush, 1995). Le tableau II montre la relation entre la classification moléculaire d'Amblar et de celle de Bush.

Tableau I : La classification des  $\beta$ -lactamases (Bush et *al.*, 1995).

Classification de Bush et <i>al.</i> , 1995	Classe Moléculaire	Substrats Préférés	Inhibition		Enzymes Représentatives
			Clavulanate	EDTA	
1	C	Céphalosporines	-	-	Ampc chez les grams négatifs
2a	A	Pénicillines	+	-	Pénicillinase chez les grams positifs
2b	A	Pénicillines Céphalosporines	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Pénicilline céphalosporines	+	-	TEM-3, SHV-2 et BLSE dérivées
2br	A	Pénicillines	±	-	TEM-30 et TRI dérivées
2C	A	Pénicillines, carbapénicillines	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	D	Pénicilline oxacilline	±	-	OXA-1 et dérivées
2e	A	Céphalosporines	+	+	Céphalosporinases inductible de <i>P.vulgaris</i>
2f	A	Pénicillines céphalosporines carbapinèmes	+	-	NMC-A d' <i>E.cloacae</i> , Sme-1 de <i>S.marcescens</i>
3	B	Majorité des $\beta$ -lactamines	-	+	Ccra de <i>bactéroïde fragilis</i>
4	ND	Pénicilline	-	?	Pénicillinase de <i>Pseudomonas cepacia</i>

### III.1.2 Mécanismes d'action des $\beta$ -lactamases

Les  $\beta$ -lactamines forment des intermédiaires similaires quand elles réagissent avec leurs cibles physiologiques (PLP) et avec les  $\beta$ -lactamases. La différence entre ces deux types d'enzymes est purement quantitative et font que les  $\beta$ -lactamases hydrolysent les  $\beta$ -lactamines tandis les PLP sont bloquées par les  $\beta$ -lactamines (**Matagne et al., 1998**).

La  $\beta$ -lactamase interagit avec le substrat en formant une enzyme acylée transitoire, grâce à la formation d'un complexe résultant de l'attaque nucléophile de la sérine-70 sur l'atome de carbone du carbonyle du cycle  $\beta$ -lactame (figure 6). L'enzyme est ensuite régénérée et la  $\beta$ -lactamine est relâchée avec un cycle  $\beta$ -lactame ouvert (**Matagne et al., et Frère, 1998; Cavallo et al., 2004**).

### III.1.3. Classification des $\beta$ -lactamases

#### Les $\beta$ -lactamases chromosomiques des entérobactéries

Les  $\beta$ -lactamases chromosomiques sont ubiquitaires chez les entérobactéries, excepté salmonella, mais varient dans la quantité produite, le mode de production et par conséquent dans leur contribution à la résistance aux  $\beta$ -lactamines (**Livermore, 1995; Cavallo et al., 2004**).

- **Les céphalosporinases chromosomiques**

Cette enzyme est décrite chez *E. coli*, *shigella*, *Enterobacter*, *Citrobacter freundii*, *Serratia*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii* et *Providencia rettgeri*. Elle peut être constitutive dans le cas d'*E. Coli* et *shigella* : ces espèces sont sensibles à l'ampicilline et aux céphalosporines de première génération.

La résistance des souches productrices de ces enzymes dépend de la sensibilité du substrat (la  $\beta$ -lactamine) à l'hydrolyse de son pouvoir d'induction au-dessous de la CMI et du mode d'expression de la  $\beta$ -lactamase. L'ampicilline ainsi que les céphalosporines de première génération sont de forts inducteurs labiles, les souches inductibles et déprimées sont résistantes à ces composés. Les céphalosporines de troisième génération, les ureidopénicillines et les carboxypénicillines sont aussi sensibles, mais ils ne sont pas inducteurs au-dessous de la CMI, par conséquent les souches inductibles sont sensibles à ces molécules, et les souches déprimées sont résistantes. Ces enzymes sont résistantes aux inhibiteurs, le Clavulanate est un inducteur très fort et possède un effet antagoniste lorsqu'il est combiné avec une  $\beta$ -lactamine (**Livermore, 1995; Cavallo et al., 2004**).

- **Les pénicillinases**

*Klebsiella* produit une  $\beta$ -lactamase chromosomique constitutive de classe A (SHV-1 pour *K. pneumoniae* et K1 pour *K. oxytoca*). Ces  $\beta$ -lactamases confèrent une résistance vis-à-vis de l'ampicilline, amoxicilline, carbénicilline et ticarcilline et certains C1G (**Stürenburg et al., 2003; Cavallo et al., 2004**).

*Proteus vulgaris*, *Proteus penerii* et *Citrobacter diversus* possèdent des  $\beta$ -lactamases chromosomiques de classe A inductible. L'ampicilline, l'amoxicilline et les céphalosporines de première génération sont de forts inducteurs labiles de ces  $\beta$ -lactamases. Les ureidopénicillines, les carboxypénicillines et les céphalosporines de troisième génération sont de faibles inducteurs labiles et sont actifs sur les souches inductibles (**Livermore, 1995**).

#### Les $\beta$ -lactamases plasmidiques des entérobactéries

Bien que les organismes sources ne soient pas toujours connus, il est probable que les  $\beta$ -lactamases plasmidiques aient une origine chromosomique. Plusieurs gènes de résistance sont portés par des transposons et des intégrons facilitants ainsi leur dissémination, à titre d'exemple, la  $\beta$ -lactamase plasmidique TEM-1 a été observée pour la première fois chez une souche d'*E. Coli* en 1965 et elle a ensuite été décrite chez *P.aeruginosa* en 1969, puis chez *V.cholerae* en 1973 et chez *haemophilus* et *Neisseria* en 1974 (**Livermore 1995**).

- **Les  $\beta$ -lactamases de type TEM :** La  $\beta$ -lactamase TEM est actuellement le mécanisme de résistance le plus communément rencontré chez les bacilles Gram négatifs. Plus de 90% de la résistance à l'ampicilline chez *E. coli* est due à la production de TEM-1 (**Bradford, 2001**)

TEM-1 et TEM-2 sont capables d'hydrolyser les pénicillines et les céphalosporines de première génération, mais elles sont incapables d'attaquer les oxyimino-céphalosporines (**Bradford 2001; Stürenburg et al., 2003**).

- **Les  $\beta$ -lactamases de type SHV :** Le gène SHV a probablement évolué comme un gène chromosomique chez *Klebsiella* puis a été incorporé ultérieurement dans un plasmide qui s'est ensuite propagé vers d'autres espèces d'entérobactéries (Livermore, 1998). La  $\beta$ -lactamase SHV1 est rencontrée le plus souvent chez *K. pneumoniae* et elle est responsable d'environ 20% des résistances plasmidiques à l'ampicilline chez cette espèce. La majorité des variantes SHV sont caractérisées par la substitution de la serine par la glycine en position 238 (**Bradford, 2001**).

- **Les  $\beta$ -lactamases de type OXA :** Les  $\beta$ -lactamases de type OXA sont rencontrées essentiellement chez *Pseudomonas* mais aussi chez les entérobactéries. Le degré d'identité en acides aminés à l'intérieur de la classe OXA est uniquement de 20 à 30%, ainsi cette famille représente un groupe phénotypique plus qu'un groupe génotypique. Les  $\beta$ -lactamases OXA confèrent une résistance aux amino et ureidopénicillines. Elles possèdent une activité hydrolytique très élevée vis-à-vis de la cloxacilline et de l'oxacilline et de la méthicilline, et sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique, excepté OXA-18 (**Bradford 2001; Stürenburg et al., 2003**).

- **CTX-M :** Leur origine est probablement la  $\beta$ -lactamase AmpC chromosomique de *Kluyvera ascorbata*, leur capacité à hydrolyser les céphalosporines à large spectre est intrinsèque et non le résultat de substitution de quelques acides aminés (**Stürenburg et al., 2003**).

Des études cinétiques ont montré que les  $\beta$ -lactamases de type CTX-M hydrolysent la cefalotine ou la céphaloridine mieux que la benzylpénicilline, et elle hydrolyse préférentiellement le Céfotaxime que le Céfotaxime et ont une grande sensibilité aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (**Bonnet, 2004**).

Plus de 40 enzymes de type CTX-M sont connu actuellement, CTX-M2, 3 et 14 sont le plus répandues (**Bonnet, 2004**).

● **AmpC plasmidique** : Le déplacement du gène AmpC du chromosome vers le plasmide a augmenté la distribution de ce mécanisme de résistance à plusieurs pathogènes nosocomiaux (Coudron et al, 2000). Les gènes AmpC plasmidiques peuvent être subdivisés en 3 sous-groupes selon leur apparenté avec les gènes AmpC plasmidique peuvent être subdivisés en 3 sous-groupe selon leur apparenté avec les gènes AmpC chromosomiques : *C. freundii* (CMY-2, LAT-1 et BIL-1), *E. cloacae* (MIR-1) et *P. aeruginosa* (MOX-1 et FOX -1) (**Bauerfeind et al., 1996**).

Les céphalosporines AmpC plasmidiques peuvent être inductibles ou constitutives. Ces enzymes peuvent être associés à la résistance à la majorité des  $\beta$ -lactamines à l'exception des carbapénèmes et des céphalosporines de quatrième génération (**Thomson et al., 2001**).

● **Les carbapénèmes et les métallo- $\beta$ -lactamases** : Seules quelques espèces pathogènes produisent naturellement des métallo- $\beta$ -lactamines à l'exception des carbapénèmes et des céphalosporines de quatrième génération (**Thomson et al., 2001**).

Les carbapénimase et les métallo- $\beta$ -lactamases chromosomique capables d'hydrolyser les carbapénèmes (**Livermore ,1997**).

Les carbapénimase de classe A qui sont décrites chez quelques rares isolats d'*E. Cloacae* (IMI-1 et NMC-1) et de *S. marcescens* (Sme-1), sont inductible .Leurs différences phénotypiques des métallo- $\beta$  lactamases incluent leur grande résistance à l'imipinème et au méropénème, résistance à l'Aztréonam, leur sensibilité aux C3G ET l'inhibition par l'acide clavulanique (**Livermore ,1997**).

L'isolement d'un plasmide portant un gène d'une métallo- $\beta$ -lactamases (IMP-1) chez *K. pneumoniae* en 1991 au Japon a fourni une nouvelle voie de dissémination de ces enzymes. Cette enzyme est codée par un gène mobile (*bla<sub>IMP</sub>*) localisé dans un gène cassette inséré dans le plasmide. L'IMP a probablement évolué à partir du chromosome de *Serratia marcescens* et elle a un très large profil de substrat incluant les carbapénèmes, les céphalosporines, les céphamycines et pénicillines, seuls les monobactames ne sont pas hydrolysés. Il a été démontré que chaque molécule d'enzyme nécessite deux atomes de zinc,

qui contribuent dans le processus enzymatique, et l'Asp90 semble jouer un rôle d'une base général dans ce processus (**Haruta et al., 2000**).

**III.2. Résistance par imperméabilité cellulaire :** Chez les bactéries à gram négatif, la pénétration des  $\beta$ -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe s'effectue via les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. La sensibilité aux  $\beta$ -lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles. Des mutations entraînant des modifications quantitatives et qualitatives de ces porines sont responsables de résistance acquise souvent croisé à plusieurs familles d'antibiotiques, elles sont constatées chez les entérobactéries, *Pseudomonas*, *Haemophilus* et *Neisseria* (Carvalho et al, 2004). L'un des premiers exemples de la résistance par perte de porines a été décrit en 1983 chez un isolat clinique de *S. marcescens* résistant aux aminosides et aux  $\beta$ -lactamines (**Kumar et al., 2005**)

Deux porines principale sont présente chez *E. coli* : OmpF et OmpC .chez les mutants d'*E. Coli* déficients en OmpC, la pénétration des  $\beta$ -lactamines est assurée par la porine OmpF, qui est suffisamment large, et il n'y a pas d'augmentation de la résistance. Au contraire, pour les mutants déficients en OmpF, les CMI des différents  $\beta$ -lactamines sont augmentées pour les molécules les plus volumineuses car la porines OmpC est plus étroite. Quant aux mutants OmpF-OmpC sont augmenté d'une manière très importante. La résistance acquise est d'autant plus forte vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines que la molécule est plus volumineuse, plus hydrophobe et chargé négativement (**Cavallo et al., 2004**).

Chez *K. pneumoniae*, il existe un phénotype de résistance à la Cefoxitine, assuré par la perte des porines OmpK35 et OmpK 36 (**Martinez et al.,1996; Ananthan et al., 2005**).

### **III.3. Résistance par excrétion active de l'antibiotique**

La résistance acquise aux  $\beta$ -lactamines par excrétion active de l'antibiotique, dite également par hyper-expression de systèmes d'efflux, n'a été décrite que chez les bactéries à gram négatif comme *E. coli*, *P. aeruginosa* ou *N.gonorrhoeae*. L'hyper-expression se fait souvent suite à des mutations survenant dans les gènes répresseurs qui régulent la transcription des systèmes transporteurs, comme par exemple le gène mexR pour la pompe MexAB-OprM de *P.aeruginosa* .D'autre part, chez les entérobactéries comme *E. coli*, l'hyperproduction de l'activateur transcriptionnel MarA (multiple antibiotic resistance), qui résulte de la mutation du répresseur marA, est capable de stimuler l'expression de nombreux gènes dont certains codent pour des pompes d'efflux actives comme le système Acr AB.

# Matériel et Méthodes

## Matériel et méthode

### I. Contexte de l'étude et lieu de stage :

L'hôpital EL Hadi ex El Kettar est un établissement hospitalier spécialisé dans les maladies infectieuses élaboré dès la fin du 19eme siècle et situé sur la commune de oued koriche (haute casbah) dans la wilaya d'Alger.

L'hôpital accueille plus de 4300 cas d'hospitalisation par an et est composé de trois services, un laboratoire central et de trois HDJ (hôpital de jour pour consultation). Le service homme composé de deux pavillons : Lemaire B et Laveran, le service femme avec les pavillons Lemaire A et Nicolle et enfin le service enfants avec le pavillon Widal pour les nourrissons et pasteur pour enfants.

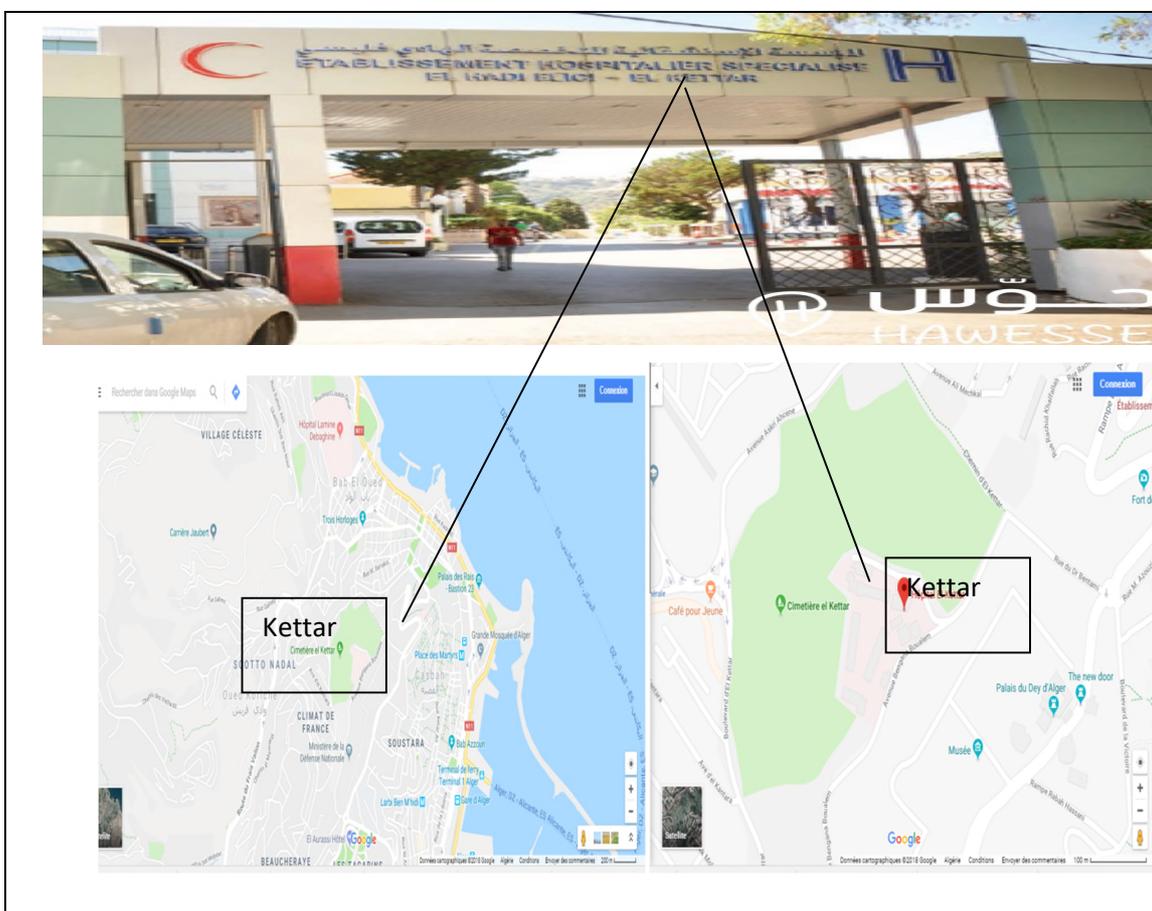


Figure 1 : Position géographique de l'hôpital El Hadi Flici ex El Kettar

### II. Recueil des isolats

Un total de 1200 Prélèvements cliniques recueillis sur une période de 3 mois (allant du 28 janvier au 28 avril 2018) et provenant de différentes origines (urines, hémoculture, liquide céphalorachidien «LCR» et divers) issu de patients hospitalisés au niveau de

l'hôpital El hadi Flici e El Kettar, d'hôpitaux environnants (Hôpital Benaknoun, hôpital Ait idir).

### III. Isolement et identification des isolats

Dans le but d'étudier les souches recueillies, la démarche expérimentale suivante a été empreintée pour chaque espèce :

#### Isolement des entérobactéries

- Les prélèvements ont été effectués à partir des urines, éliminé les premier jets d'urines puis les recueillir dans un tube à essai stérile.
- L'isolement à partir des urines s'effectue à l'aide d'une pipette bien stérile dont on prélève environ une goutte à deux gouttes d'urines puis on la dépose dans la boîte de pétri contenant une gélose soit GN ou Mac conkey, et on incube les boites à 37°C pendant 24 heures.

#### Identification des entérobactéries

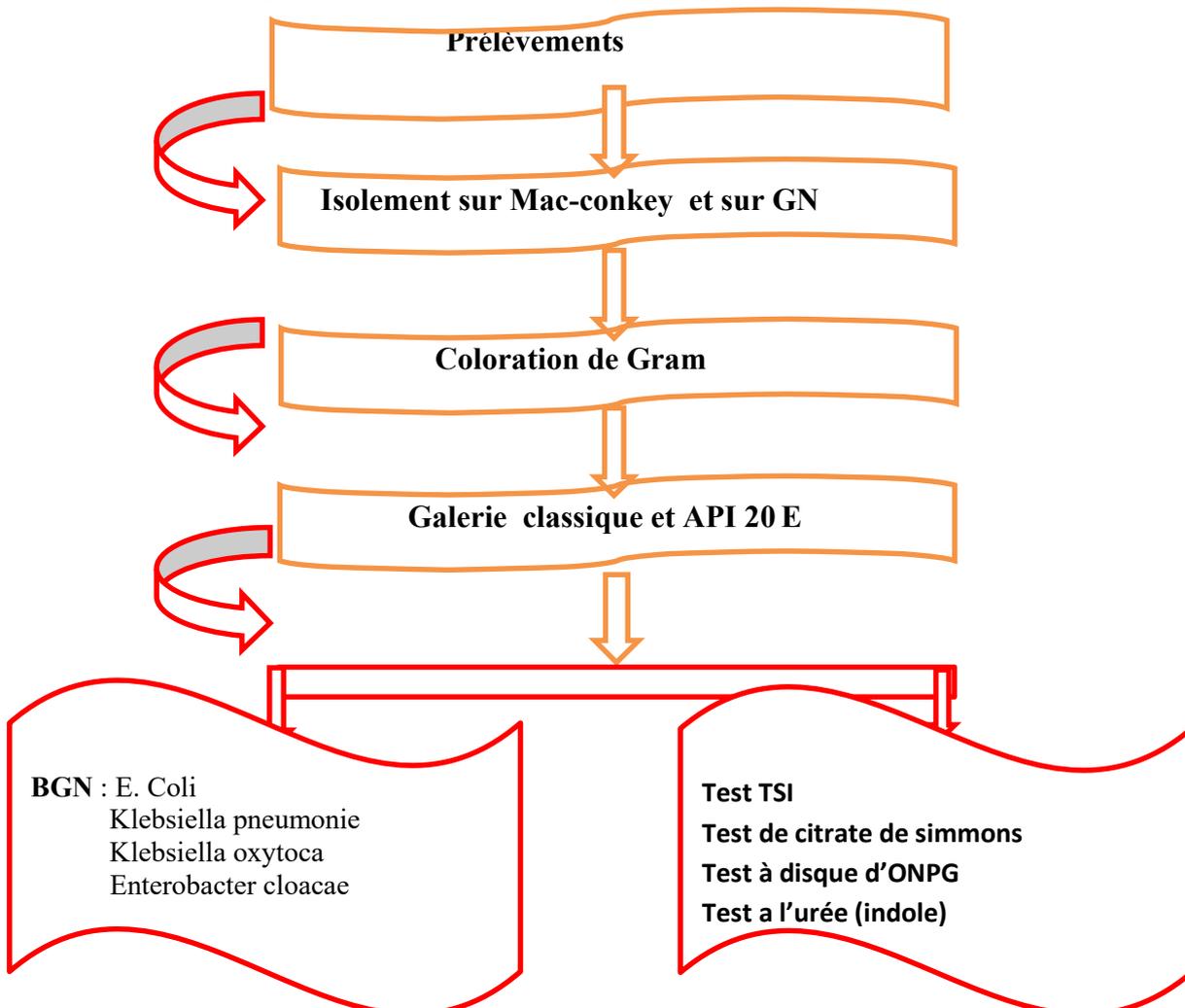
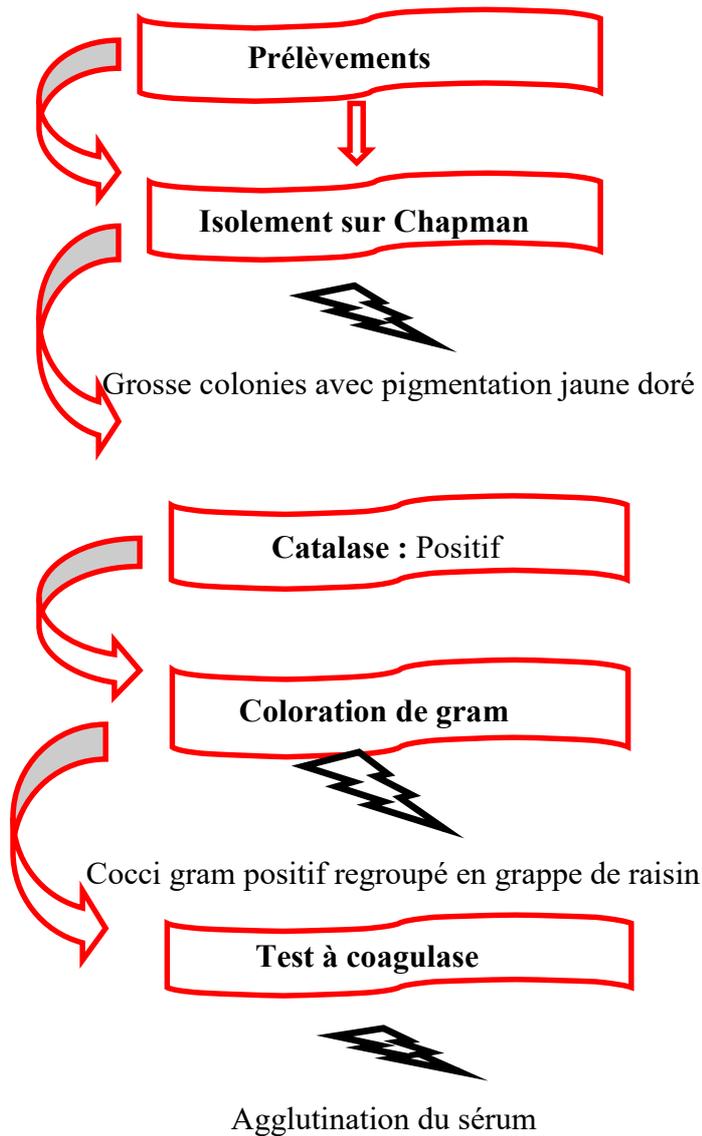


Figure 2 : Protocol d'identification des Entérobactéries

**Isolement du *staphylococcus aureus***

- Les prélèvements des pus sont utilisés exclusivement pour l'isolement de *staphylococcus aureus*. Ils sont effectués en introduisant un écouvillon stérile dans le site infecté du malade et en le faisant tourner délicatement à l'intérieur. Puis à l'aide du même écouvillon qui a été utilisé déjà pour le prélèvement, on le lance sur deux milieux Chapman et GN ensuite les incubés à 37°C pendant 24 heures.

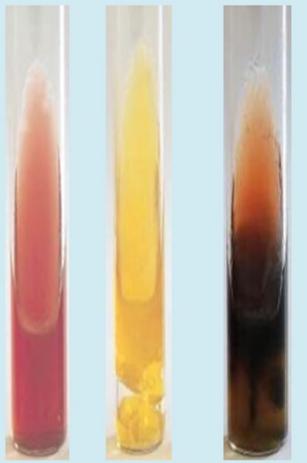
**Identification du *Staphylococcus aureus***



**Figure 3 :** Protocol d'identification des *Staphylococcus aureus*

**Tableau II** : Différents tests d'identification sur les souches isolées

Test	Principe	Technique	Lecture
<b>GN</b>	Gélose nutritif permet la croissance de tout type bactérien.	Ensemencer l'inoculum en surface et réaliser un isolement selon la méthode des quadrants.	<b>FBP</b> : Flore bactérienne polymorphe
<b>Gélose de Chapman</b>	Milieu sélectif permettant la croissance des bactéries a propriété halotolérante. Ce milieu contient un inhibiteur qui a une forte concentration en NaCl 75g/L et permet de mettre en évidence la fermentation du mannitol traduit par virage au jaune de l'indicateur de PH, rouge de phénol autour des colonies.	Incuber à 37°C/24h	Grosses colonies avec pigmentation jaune doré.
<b>Test de catalase</b>	Enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>  $2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$	Mettre en contact sur une lame, une colonie avec l'eau oxygénée.	La réaction est positive si on observe un dégagement gazeux.

<p><b>Coloration de Gram</b></p>	<p>Différencier entre deux grands groupes bactéries :</p> <p>Bactérie à Gram positif</p> <p>Bactérie à Gram négatif</p>	<p>Réalisation de frottis. Coloration selon Gram (1884) Observation microscopique à l'immersion x 100.</p>	<p>A l'observation, les bactéries à gram positif gardent leur coloration violette après une décoloration par l'alcool, par contre les bactéries à gram négatif sont décolorées par l'alcool et seront teintées par la fuschine, elles apparaitront rose.</p>
<p><b>Test de TSI</b></p>	<p>La gélose TSI permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence de la fermentation du lactose, du glucose, du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène H<sub>2</sub>S.</p>	<p>La surface est abondamment ensemencée à la surface par stries serrées ou par inondation, puis le culot par simple piqure, à l'aide de la même pipette boutonnée. il est important de ne pas oublier de dévisser partiellement le bouchon de permettre les échanges gazeux.</p>	 <p>             Glu -      Glu +      Glu +              Lac /Sac -      Lac /Sac -      Lac /Sac -              H<sub>2</sub>S -      H<sub>2</sub>S -      H<sub>2</sub>S +              Gaz -      Gaz +      Gaz +         </p>

<p><b>Test de citrate de simmons</b></p>	<p>Citrate permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme source de carbone et d'énergie. Intéressant pour discriminer les bactéries entre elles et ainsi de les identifier.</p> <p>Mise en évidence de la dégradation du citrate comme seule source de carbone.</p> <p>Nous avons la réaction suivante :</p> <p>Citrate+3H<sub>2</sub>O → Acide citrique+3OH</p>	<p>Incuber 48h/37° C</p>	<p>Le résultat se traduit par le virage de la couleur de la gélose en bleu implique une alcalinisation du milieu (résultat positif=virage en bleu)</p> <p>(résultat négatif= reste en vert)</p>
<p><b>La galerie API 20<sup>E</sup> Biomériaux</b></p>	<p>API 20 E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence l'activité enzymatique ou de fermentation de sucres.</p>	<p>Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure.</p> <p>Incubation 24h/37° C</p>	<p>Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. la lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.</p>

<p><b>Test de coagulase libre</b></p>	<p>Le facteur d'agglutination ainsi que la protéine A de <i>S.aureus</i> sont identifiés à l'aide de particule de latex recouvertes de plasma humain (fibrinogène et IgG) qui s'agglutine dans un test rapide sur lame.</p>	<p>Disposer une goutte de sérum agglutinant de marque STAPHAUREX (PASROREX) puis y'ajouter quelques colonies préalablement prises du milieu et bien homogénéiser le mélange.</p>	<p>Agglutination du sérum preuve de la présence de la coagulase typique de l'espèce <i>Staphylococcus</i>.</p>
<p><b>Test à l'urée</b></p>	<p>C'est un milieu d'identification, synthétique, très important pour le diagnostic différentiel des espèces appartenant aux familles suivantes : Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae etc...</p> <p>Permet la recherche de l'enzyme l'uréase :</p> <p>Urée + eauCO<sub>2</sub> + 2NH<sub>3</sub>, d'ou l'alcalinisation</p> <p>Révélateur : Rouge de phénol</p>	<p>Incuber 24h à 37° C</p>	<p>Attention un orange clair sera un résultat négatif, un orange foncé sera considéré comme un résultat positif.</p>

#### IV- Etude de la résistance aux antibiotiques

L'étude de la résistance aux antibiotiques sur milieu gélosé s'effectue selon les recommandations du CA-SFM sur gélose Mueller-Hinton en atmosphère aérobie. A partir d'une culture de 18h à 24h sur milieu gélosé approprié, une suspension de 0.5 Mac Farland est préparée pour un ensemencement par écouvillonnage en réalisant des stries serrées et en faisant une rotation de 45° à chaque fois et en passant l'écouvillon autour de la boîte pour finir. à l'aide d'une pince stérile disposer les disques d'antibiotiques en faisant attention à ne pas dépasser plus de 4 disques par boîte pour une bonne interprétation des diamètres. Afin d'établir le profil de résistance des souches étudiées, les antibiotiques suivants ont été testés

#### Entérobactéries :

**Tableau III :** antibiotiques testés pour les entérobactéries et valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition selon l'EUCAST 2018

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge du disque	du	Diamètre S 5(mm)	Diamètre R (mm)
β-lactamine	Ampicilline	AMP	10μg		≥17	≤13
β-lactamine	Amoxicilline+ Ac clavulanique	AMC	20/10μg		≥18	≤13
β-lactamine	Céfazoline	KZ /CZO	30μg		≥23	≤10
β-lactamine	Cefoxitine	FOX	30μg		≥18	≤14
β-lactamine	Céfotaxime	CTX	30μg		≥26	≤22
β-lactamine	Céftazidime	CAZ	30μg		≥21	≤17
β-lactamine	Aztréonam	ATM	30μg		≥21	≤17
β-lactamine	imipinème	IPM	10μg		≥23	≤19
β-lactamine	Ertapénème	ERT	10μg		≥22	≤18
Aminoside	Amikacine	AMK	30μg		≥17	≤14
Aminoside	Gentamicine	GEN	10μg		≥15	≤12
Quinolone	Acide nalidixique	NAL	30μg		≥19	≤13

Quinolone	Ciprofloxacine	CIP	5 $\mu$ g	$\geq 21$	$\leq 15$
Phénicol	chloramphénicol	CHL	30 $\mu$ g	$\geq 18$	$\leq 12$
Nitrofirantoine	Furanes	NIT	300 $\mu$ g	$\geq 17$	$\leq 14$
Autres	Fosfomycine	FOS	200 $\mu$ g	$\geq 16$	$\leq 12$
Sulfamides et associés	Triméthoprime+Sulfaméthoxazole	SXT	1.25/23.75 $\mu$ g	$\leq 10$	$\geq 16$

### Staphylocoques :

**Tableau IV :** Antibiotiques testés pour les staphylocoques et valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition selon EUCAST 2018

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge du disque	Diamètre S (mm)	Diamètre R (mm)
$\beta$ -lactamine	Pénicilline	PEN	10	$\geq 29$	$< 28$
Macrolide	Erythromycine	ERY	15	$\geq 23$	$< 13$
Aminoside	Amikacine	AMK	30	$\geq 17$	$< 14$
Aminoside	kanamycine	KAN	30	$\geq 18$	$< 13$
Aminoside	Gentamycine	GEN	10	$\geq 15$	$< 12$
Synergistine	Pristinamycine	PTN	15	$\geq 19$	$< 15$
Fluoroquinolone	Ofloxacine	OFX	5	$\geq 18$	$< 14$
Cycline	Tétracycline	TET	30	$\geq 19$	$< 14$
Fusidanine	Acide fusidique	ACF	10	$\geq 24$	$< 24$
Quinolones	Levofloxacine	LVX	5	$\geq 21$	$< 15$
Glycopeptide	Téicoplanine	TEC	30	$\geq 14$	$< 10$
Rifamycine	Rifampicine	RIF	5	$\geq 20$	$< 16$
Fluoroquinolone	Ciprofloxacine	CIP	5	$\geq 21$	$< 15$
Acide phosphonique	Fosfomycine	FSF	200	$\geq 16$	$< 12$

Lincosamide	Clindamycine	CMN	2	≥22	<19
-------------	--------------	-----	---	-----	-----

### E. Test

Il s'agit d'une technique de diffusion en milieu gélosé permettant de donner une mesure précise de la concentration minimal inhibitrice d'un antibiotique (CMI). Cette technique introduite dans les années 1990 s'est révélée rapidement très utile en pratique de routine de laboratoire. Techniquement, l'antibiotique est contenu dans un espace limité à une extrémité de la bandelette. Lorsque celle-ci est déposée sur une gélose Mueller- Hinton préalablement ensemencée à l'aide d'un inoculum bactérien contenant 0.5 Mac Farland, l'antibiotique se répartit selon un gradient de concentration très précis. La lecture est réalisée après 24h ou 48h d'étuve à 37°C.

Lecture : une ellipse d'inhibition de culture se dessine autour de la bandelette et la CMI correspond à la valeur lue à l'intersection de la culture bactérienne et de la bandelette.

Au cours de notre travail les CMI testées sont celles à la céfoxitine et imipénème.

### V- Etudes des profils de résistance

#### 1-la sélection des SARM

Dans cette partie du travail on s'est intéressé à l'étude des profils de résistance au  $\beta$ -lactamines chez les souches de *Staphylococcus aureus*, isolées à l'hôpital El Hadi Flici ex El Kettar d'Alger. Des données concernant les malades tels que l'âge et le sexe ont été recueillies, afin des les biens diagnostiqués aussi bien de les interpréter.

- ✓ Toutes les *Staphylococcus aureus* identifiées ont fait l'objet d'un antibiogramme standard sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations de l'EUCAST 2018.
- ✓ Pour étudier la résistance du *Staphylococcus aureus* à la méthicilline (SARM), il est recommandé d'utiliser la céfoxitine comme marqueur phénotypique pour la détection de la résistance et d'incuber à 30°C au lieu de 37°C.
- ✓ La résistance à la céfoxitine signifie la résistance à toute les  $\beta$ -lactamines.
- ✓ La résistance à la gentamicine est fiable pour tout les aminosides avec la détermination de la résistance à l'amikacine est mieux détecter avec la kanamycine.
- ✓ Détecter la résistance inductible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque clindamycine, avec la présence d'une image d'antagonisme répond résistance à l'érythro-clindamycine.

- ✓ Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches Vanco «S» ou «R» de celles de SCN car les diamètres d'inhibition sont similaires, alors la détermination de la CMI est obligatoire.

### Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure et fraîche (moins de 24h) des souches identifiées :

- ✚ Racler à l'aide d'une anse de platine 3 colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- ✚ Décharger l'anse dans 5ml d'eau physiologique.
- ✚ Bien homogénéiser la suspension bactérienne au vortex.

### Ensemencement

- ✚ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- ✚ Essorer l'écouvillon en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.
- ✚ Sur une boîte de pétri contenant 4mm d'épaisseur en gélose Muller Hinton, frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose du haut en bas et en stries serrées.
- ✚ Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- ✚ Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- ✚ Déposer les disques de céfoxitine (FOX, 30µg) sur la gélose Muller Hinton et incubé à 30°C pendant 24 à 48 heures.

### Lecture

Après incubation, on mesure avec précision le diamètre de la zone d'inhibition, L'interprétation en sensible (S) et résistant (R) est effectuée selon les recommandations de L'EUCAST 2018.

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

Les souches de *S.aureus* résistantes à la céfoxitine sont testées vis-à-vis d'autres antibiotiques par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton comme indiqué ci-dessus. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24heures, et l'interprétation en sensible (S) et résistant (R) selon les recommandations du L'EUCAST 2018.

### 2-La sélection des BLSE

- ✚ Les souches d'entérobactéries sont testées vis-à-vis de deux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération : céfotaxime (CTX) et aztréonam (ATM), par la méthode de l'antibiogramme standard, en suivant les recommandations du L'EUCAST 2018.
- ✚ La production de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) a été détectée par l'épreuve de la synergie qui consiste à placer les disques d'aztréonam, céfotaxime (30  $\mu$ g pour chacun) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'Augmentin (Amoxicilline-acide clavulanique) (20 $\mu$ g et 10 $\mu$ g, respectivement) et d'incuber à 37°C pendant 24heures.
- ✚ L'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'Augmentin et les disques CTX ou ATM indique la production d'une BLSE (bouchon de champagne).

### Préparation de l'inoculum

Réalisé selon le protocole décrit pour *Staphylococcus aureus*.

### Ensemencement

Réalisé selon le protocole décrit pour *Staphylococcus aureus*.

Les disques de céfotaxime (CTX, 30 $\mu$ g), Amoxicilline-acide clavulanique (AMC) et d'aztréonam (ATM, 30 $\mu$ g) sont déposés puis les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

### Lecture

L'interprétation en sensible (S) et résistant (R) a été faite selon les recommandations L'EUCAST 2018. Les souches présentant des diamètres de zones d'inhibition vis-à-vis du céfotaxime et/ou du aztréonam inférieurs à 21mm sont considérées résistantes (image de synergie).

Toutes les souches d'entérobactéries résistantes au cefotaxime et/ou au aztréonam sont testées vis-à-vis des antibiotiques suivants : amoxicilline (AMX), céfazoline (Kz), cefoxitine (FOX), imipinème (IMP), amoxicilline-clavulanate (AMC), aztréonam (ATM), kanamycine (K), gentamycine (GM), amikacine (AKN), triméthopime-sulfamithoxazole (SXT), par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton comme indiquée précédemment. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures.

### Le DD-Test

Ce test se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme, devra être fait systématiquement devant :

- ✚ Confirmation que c'est une BLSE (+).
- ✚ L'absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G.

- ✚ La présence d'une résistance aux molécules suivantes : ampicilline, ticarcilline, céfazoline par contre l'AMC présente un diamètre d'inhibition.
- ✚ Alors il fallait déposer un disque d'AMC et un disque de CTX à une distance 30mm centre à centre.
- ✚ Après 30min on remplace le disque d'AMC par celui de CTX.
- ✚ Incubation 18 à 24 heures 37°C.

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour C3G, appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC  $\geq 5$  mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.

# Résultats et Discussion

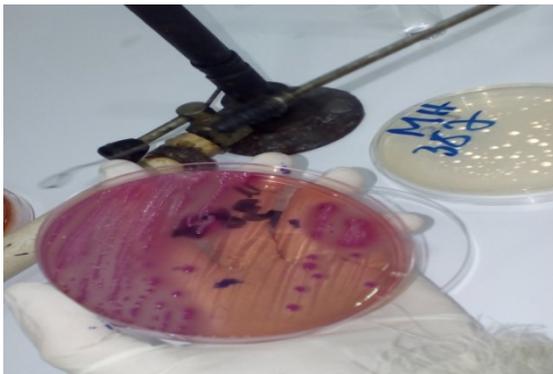
## Résultats

### I. Identification des souches

L'identification des deux genres entérobactérie et *Staphylococcus aureus* sur la base de l'aspect des colonies sur gélose GN, Mac conkey et Chapman (Figure 4 et 5), leurs aspects microscopiques après une coloration de Gram (Figure 6 et 7) ainsi que leurs pouvoir catalytique du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Afin de compléter cette identification, les entérobactéries sont discriminés des staphylocoques par plusieurs testes : galerie classique, test d'oxydase, galerie API20E. Par la suite, pour distinguer les différentes espèces d'entérobactéries, plusieurs tests ont été effectués : TSI, Urée, ONPG, Indole.

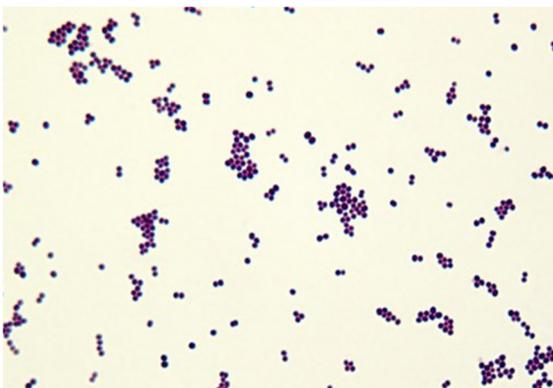
Concernant les staphylocoques, un test d'agglutination permet de mettre en évidence *S.aureus* (Figure 16).



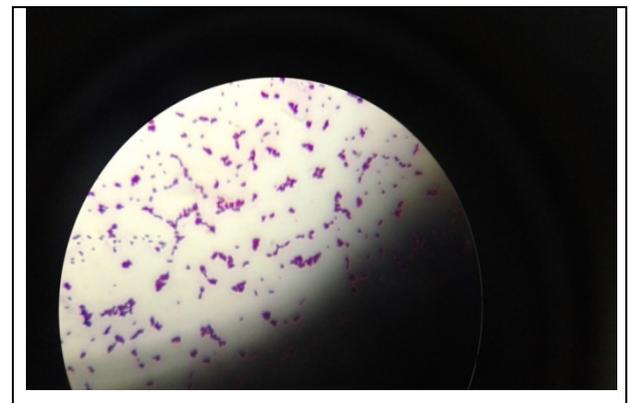
**Figure 4** : Aspect des colonies d'entérobactéries sur GN et Mac conkey.



**Figure 5** : Aspect des colonies de Staphylocoques sur Chapman.



**Figure 6** : Aspect microscopique des Entérobactéries après coloration de Gram.



**Figure 7** : Aspect microscopique des staphylocoques après coloration de Gram.

De ce fait, sur la base des résultats d'identification représentés dans les tableaux VI et VIII en annexes, nous avons isolé et identifié 53 souches d'entérobactéries dont 18 *E. coli*, 10 d'*Enterobacter cloacae*, 24 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Klebsiella oxytoca*. Ainsi que 14 souches de staphylocoques qui correspondent toute à l'espèce *Staphylococcus aureus*.

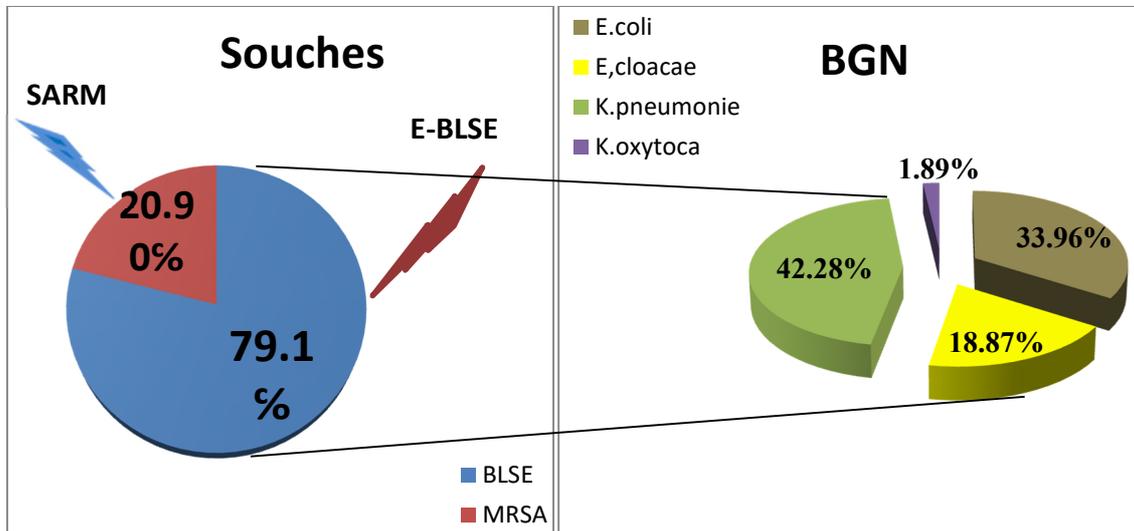


Figure 8: Proportion des isolats identifiés

Ainsi que la répartition des espèces d'entérobactéries selon l'espèce est aussi illustré ci-dessous dans la figure 9.

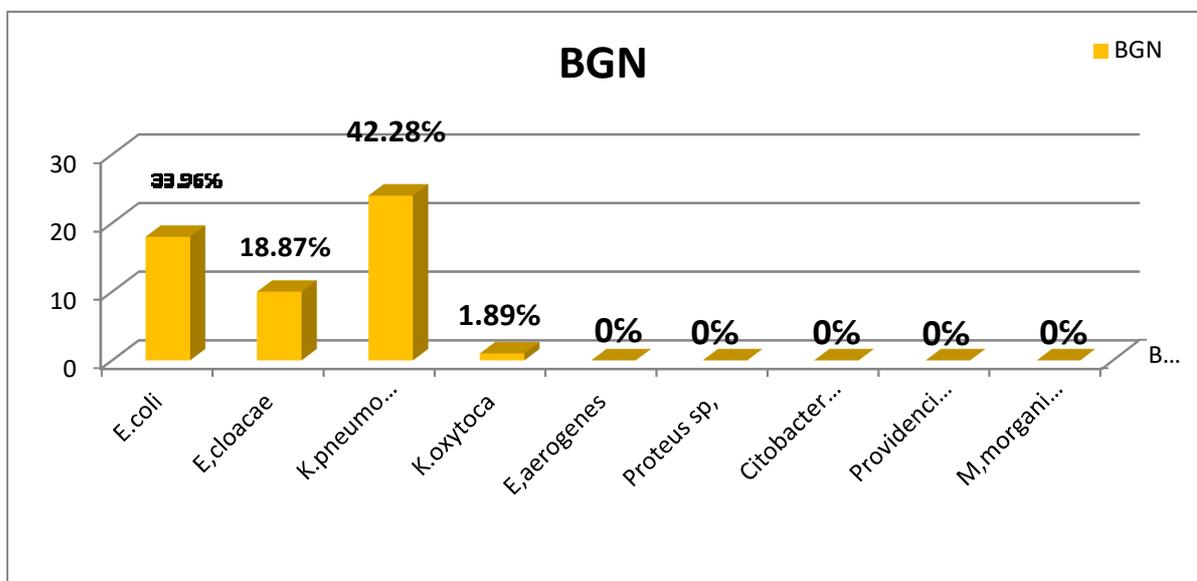


Figure 9 : Répartition des E-BLSE par espèce.

## II. Répartition des isolats selon la provenance des prélèvements

La répartition des souches identifiées en fonction de la provenance du prélèvement est rapportée dans les figures 10 et 11 ci-dessous.

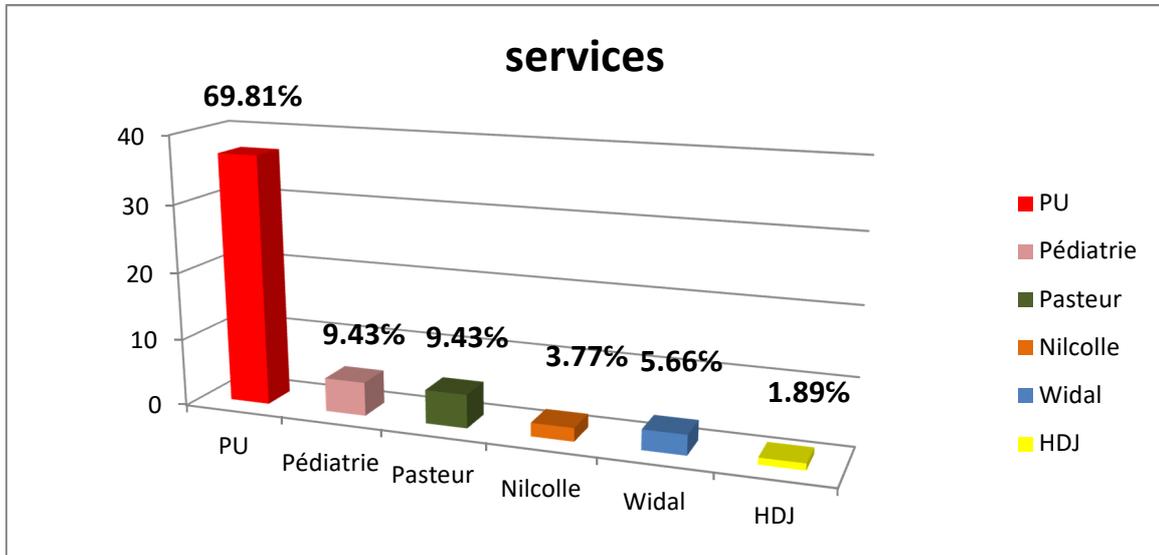


Figure 10 : Répartition des isolats des E-BLSE par service.

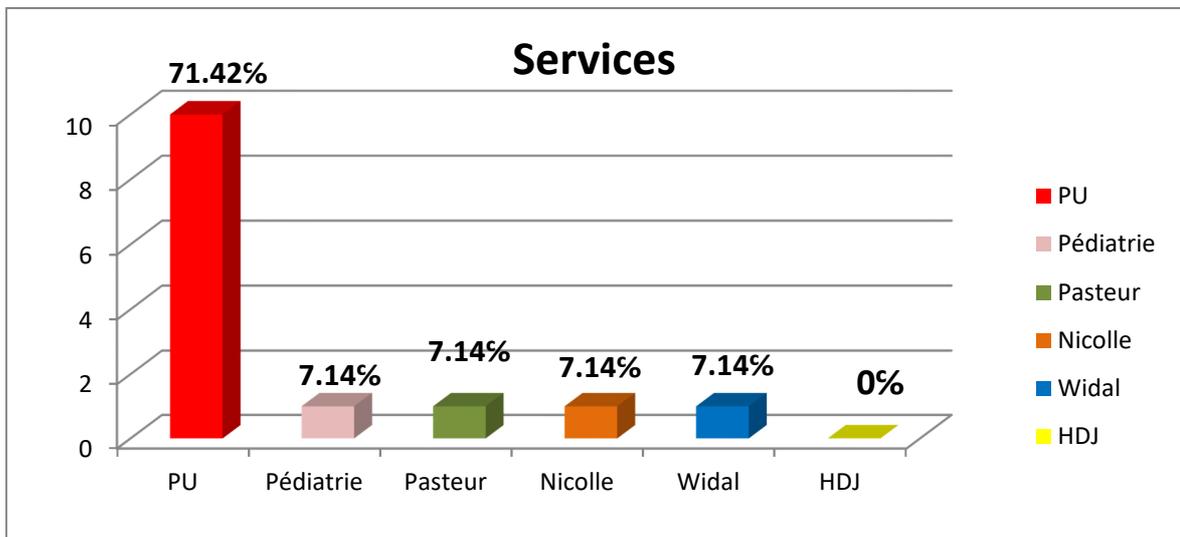


Figure 11 : Répartition des isolats de SARM selon la provenance du prélèvement.

On note que les souches d'entérobactéries isolées sont le plus souvent d'origine nosocomial car, elle provient des patients internes admis aux urgences 69.81%.concernant les cas hospitalisés, le service pasteur détient un taux soit à 9.43%, s'ensuivent le service Nicolle à 3.77%, Widal à 5.66%, HDJ à 1.89%. Enfin vient le service pédiatrie à 9.43%.

En ce qui concerne les isolats de *staphylococcus aureus*, elles sont également le plus souvent d'origine nosocomial, proviennent des patients externes admis aux urgences

avec un taux de 71.42%. Quant aux cas hospitalisés, le service pasteur détient un taux égale à celui de Nicolle, Widal, pédiatrie soit à 7.14%. Pour finir vient le service HDJ avec un taux nul.

### III. Répartition des isolats selon la nature du prélèvement :

Notre étude révèle que les entérobactéries sont majoritairement isolés à partir des prélèvements urinaire 90.57%, suivi par le divers à 5.66%, LCR à des taux trop faible soit à 3.77%, vers la fin vient l'hémoculture à un taux nul. (Figure12)

Quant aux *staphylococcus aureus*, ils sont fréquemment isolés à partir de pus soit à 85.71%, suivi d'hémoculture et LCR à des taux égal soit à 7.14%. (Figure 13)

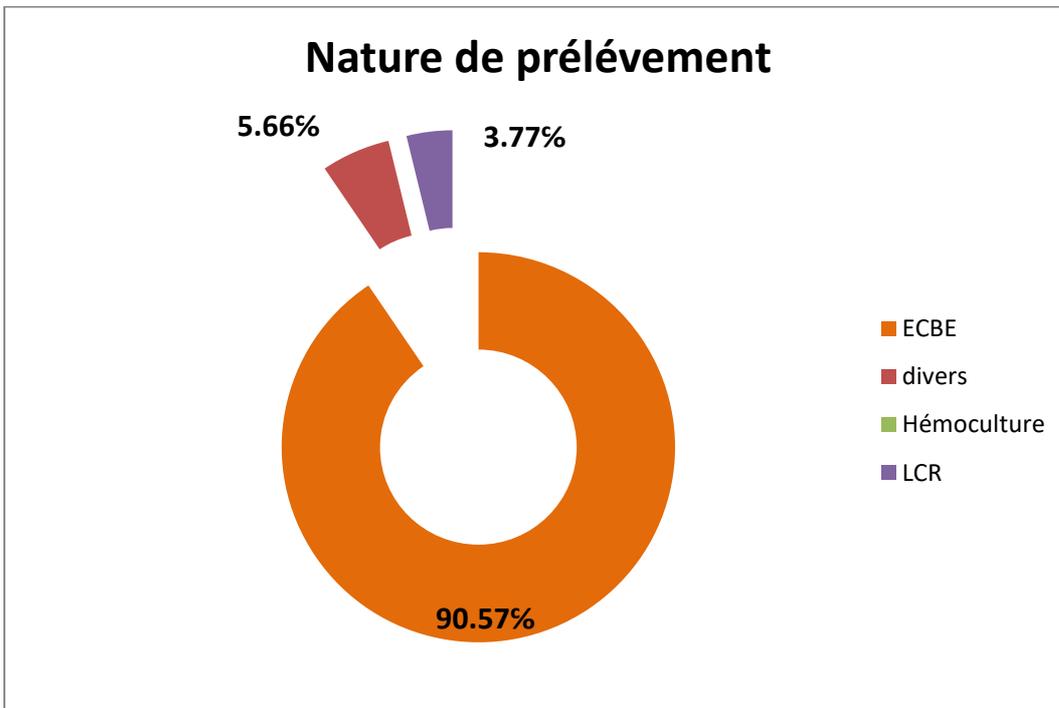


Figure 12 : Répartition des isolats des E-BLSE selon la nature du prélèvement.

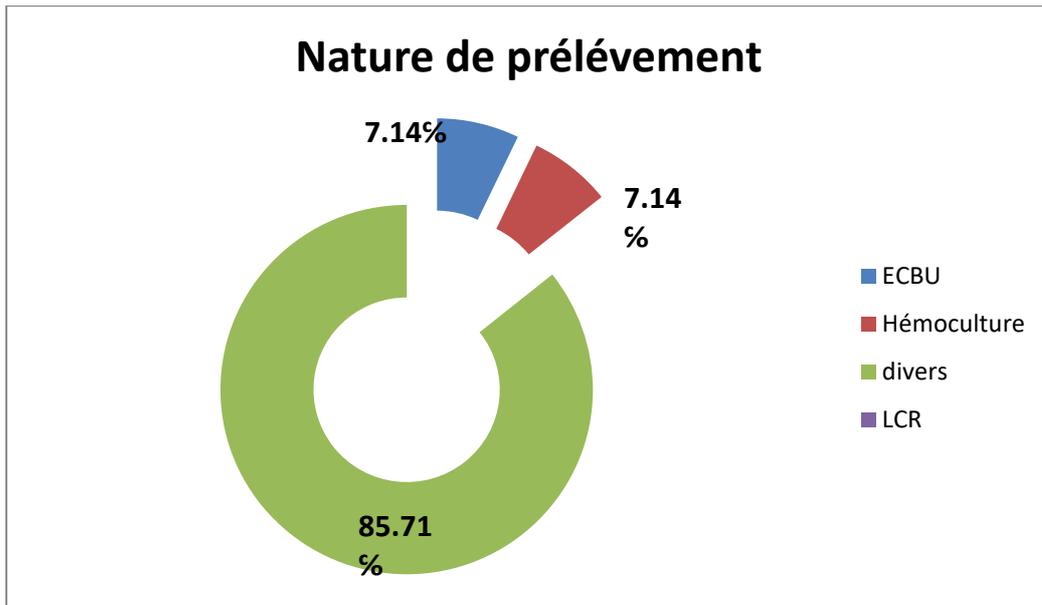


Figure 13 : Répartition des isolats de SARM selon la nature du prélèvement

#### IV. Répartition des isolats en fonction de l'âge et du sexe :

La répartition des isolats cliniques d'entérobactérie et de *Staphylococcus aureus* selon l'âge et le sexe est représentée dans les figures suivantes :

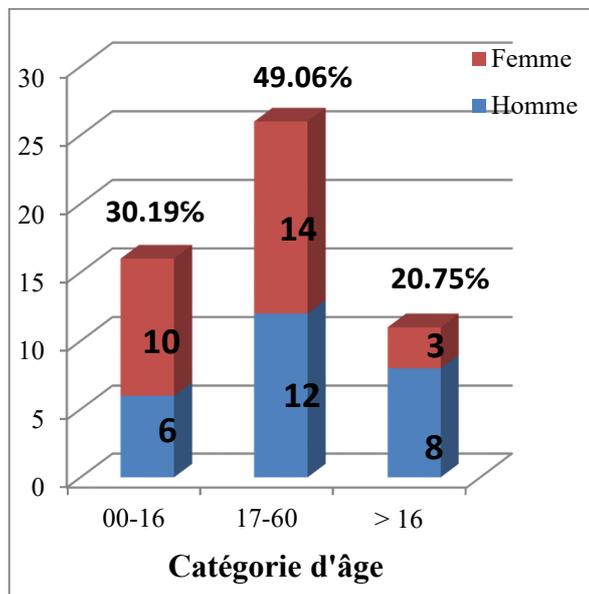


Figure 14: Répartition des isolats des E-BLSE en fonction de catégorie d'âge.

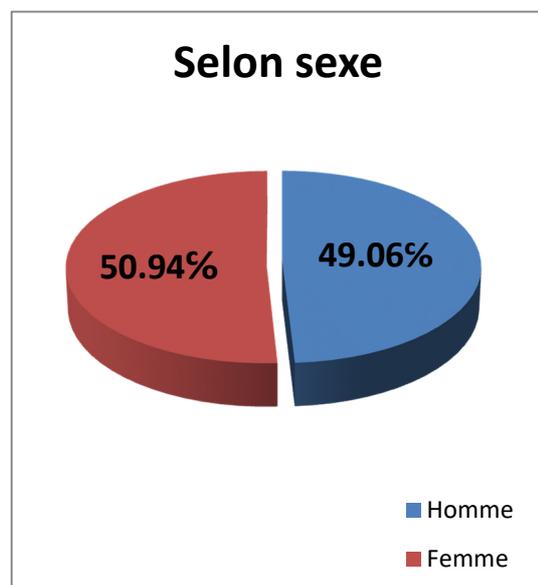


Figure 15 : Répartition des isolats des E-BLSE en fonction du sexe.

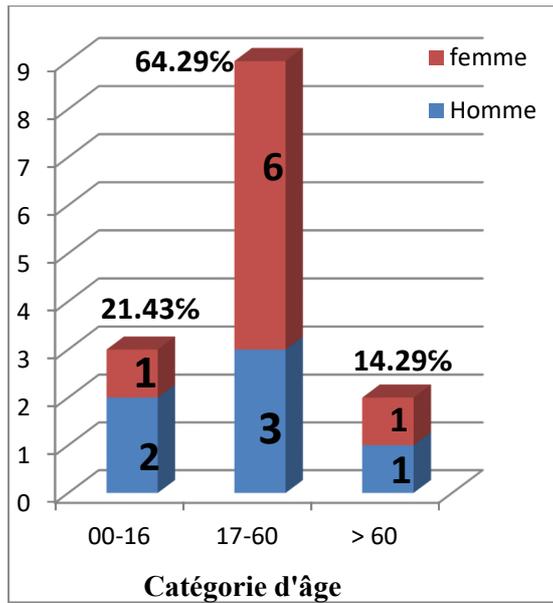


Figure 16 : Répartition des isolats de SARM en fonction de catégorie d'âge.



Figure 17: répartition des isolats de SARM en fonction du sexe.

L'âge des patients infectés par les entérobactéries varie de 20 jours à 89 ans et leur répartition en catégorie d'âge est rapportée dans la figure 14. Le résultat montre que les adultes dont l'âge varie entre 17 ans et 60 ans sont les principaux touchés à 49.06%, suivi à portion 30.19% chez les enfants et les vieilles personnes soit à 20.75%.

Les *staphylococcus aureus* ont été isolés des personnes dont l'âge varie entre 6 mois à 70 ans. Avec en première ligne les adultes (17 ans-60 ans) avec un taux de 64.29%, suivie d'une portion de 21,43% chez les enfants, les vieilles hommes à des proportions soit à 14,29%. (Figure 16).

Concernant la répartition des souches selon le sexe, les entérobactéries touchent majoritairement les femmes et les hommes avec un taux de 50.94% et 49.06% respectivement. Dans le cas de *S.aureus*, elle touche les femmes plus que les hommes avec des taux respectifs de 57.14% et 42.85% (Figure 15 et 17).

## V. Prévalence des infections dues aux SARM et BLSE

Une étude rétrospective sur l'état des infections dues aux Entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamase à spectre élargi et aux *S. aureus* résistant à la méthicilline au niveau de l'hôpital El Kettar depuis de 2014 à ce jour a été réalisée et les résultats sont représentés dans les graphes suivants :

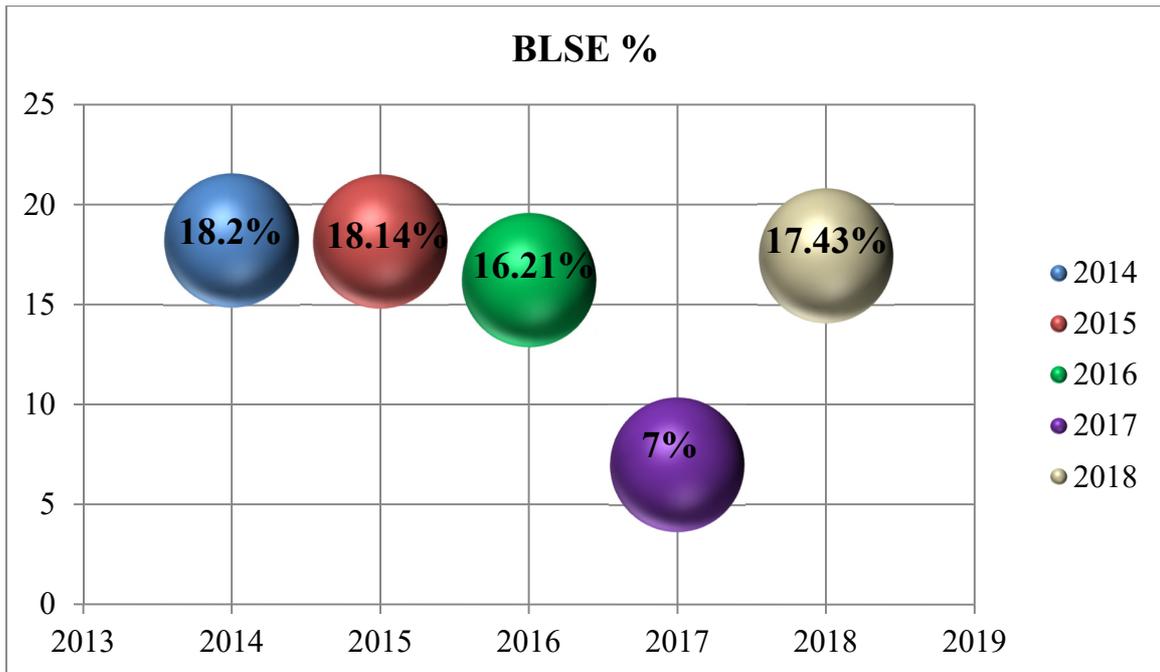


Figure 18 : Prévalence des isolats des E-BLSE de 2014 à ce jour

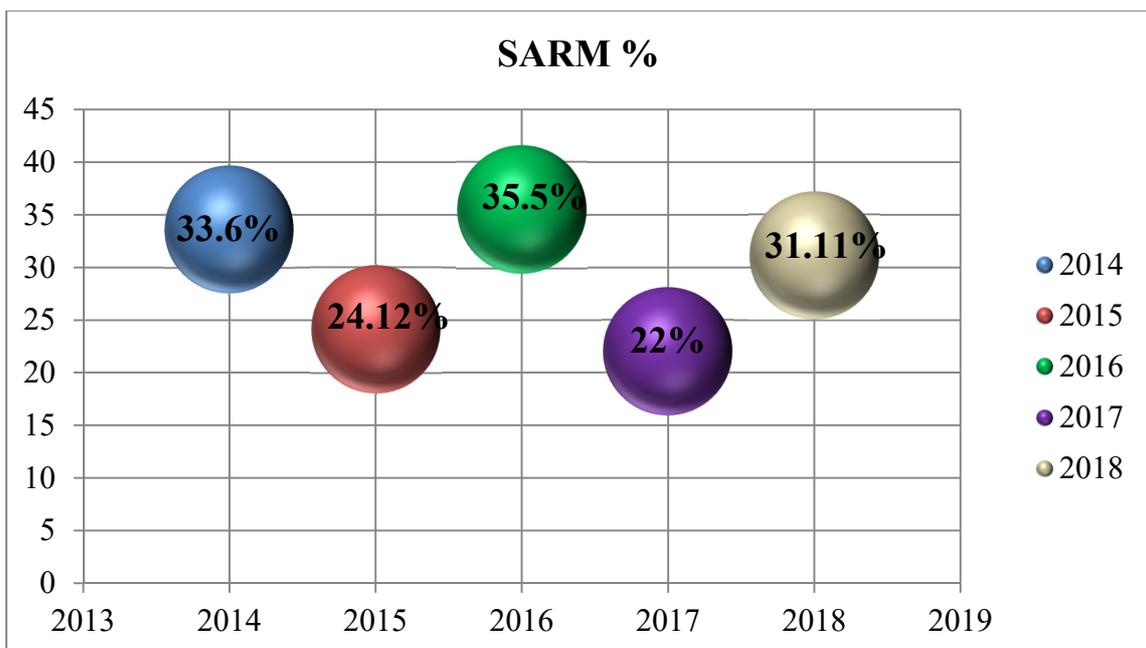


Figure 19 : Prévalence des isolats de SARM de 2014 à ce jour

Nous constatons que les infections ont tendance à augmenter au fil des années à l'exception de l'année 2017 pour les entérobactéries avec un taux de 7% (figure 18).

## VI. Résistance des isolats aux antibiotiques

Les résultats de l'étude des profils de résistances des isolats vis-à-vis des antibiotiques (in vitro) sont représentés dans les figures 20 et 21 ainsi que dans les tableaux IX et X en annexe.

Les entérobactéries présentent des taux de résistance variables aux  $\beta$ -lactamines avec une résistance absolue au ceftriaxone (C3G), ampicilline+ acide clavulanique (AMC), Aztréonam(ATM), Amoxicilline (AMX) et moindre en parlant de la gentamycine(GMN), Triméthoprime + Sulfaméthoxazole (SXT) avec des taux respectif de 56.60% et 64.15%.on note également des taux de résistance nul envers l'imipinème (IMP), Cefoxitine (FOX), Amikacine (AKN), Céfazoline (Kz).

Les souches de *Staphylococcus aureus* présentent une résistance totale à la pénicilline (PEN) et Cefoxitine (FOX), faible vis-à-vis de gentamycine (GMN), Pristinamycine (PT), Ciprofloxacine (CIP) avec des taux égaux à 7.14%. En ce qui concerne les macrolides (MLS) la résistance est de 42.86% pour l'érythromycine (Ery), clindamycine(CMN) soit à 14.29%, pour la famille des aminosides le taux de résistance soit à 71.43% pour l'Amikacine (AMK). Enfin les souches ne représentent aucune résistance vis-à-vis les Glycopeptide : la vancomycine (Van), la Téricoplanine (Tec) ainsi que pour les deux antibiotiques la rifampicine (Rif) et la Céfoxitine (Fox) appartenant aux deux familles respectivement Rifamycine et  $\beta$ - lactamines.

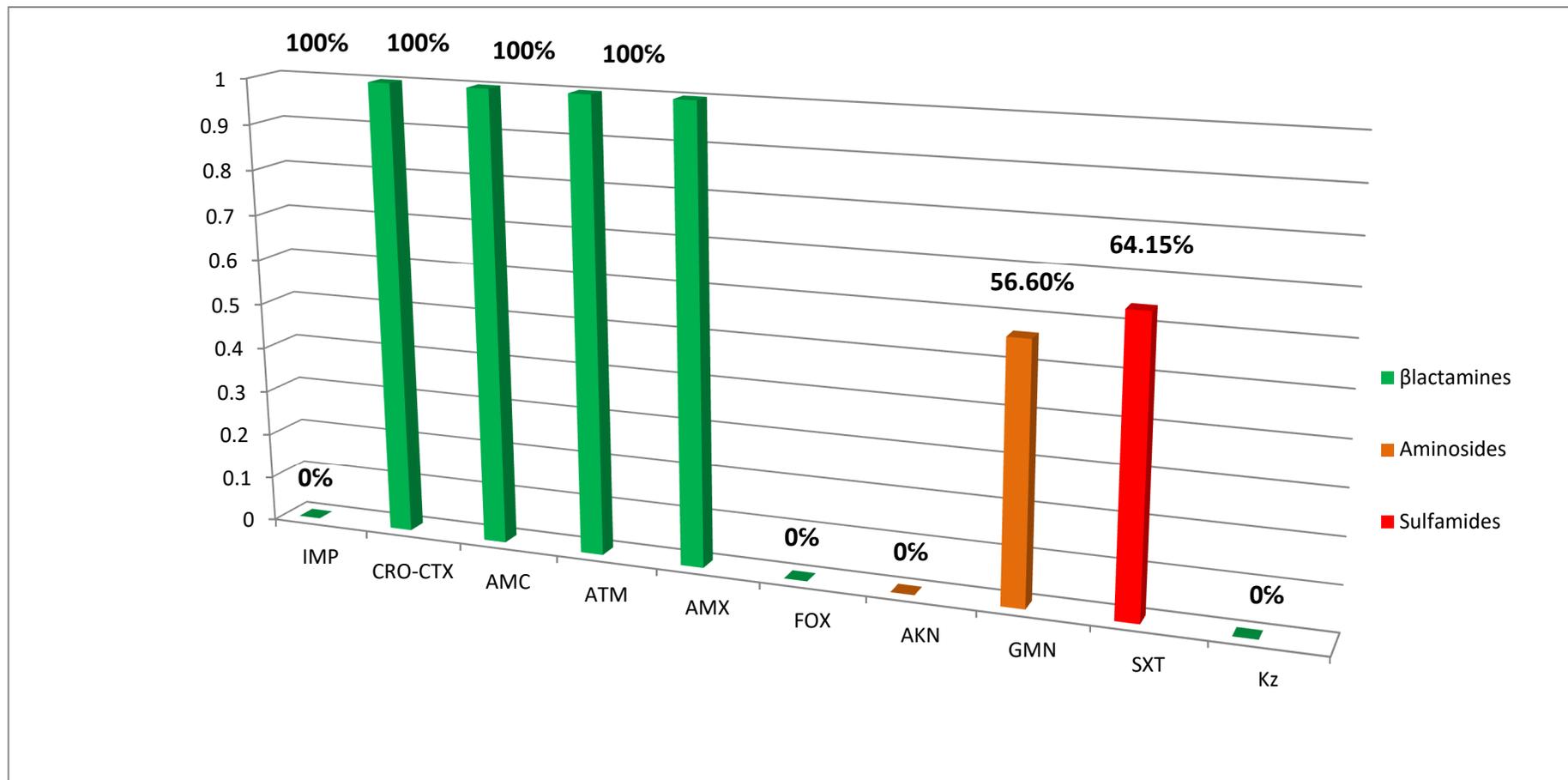


Figure 20 : Résistance des isolats des E-BLSE aux antibiotiques.

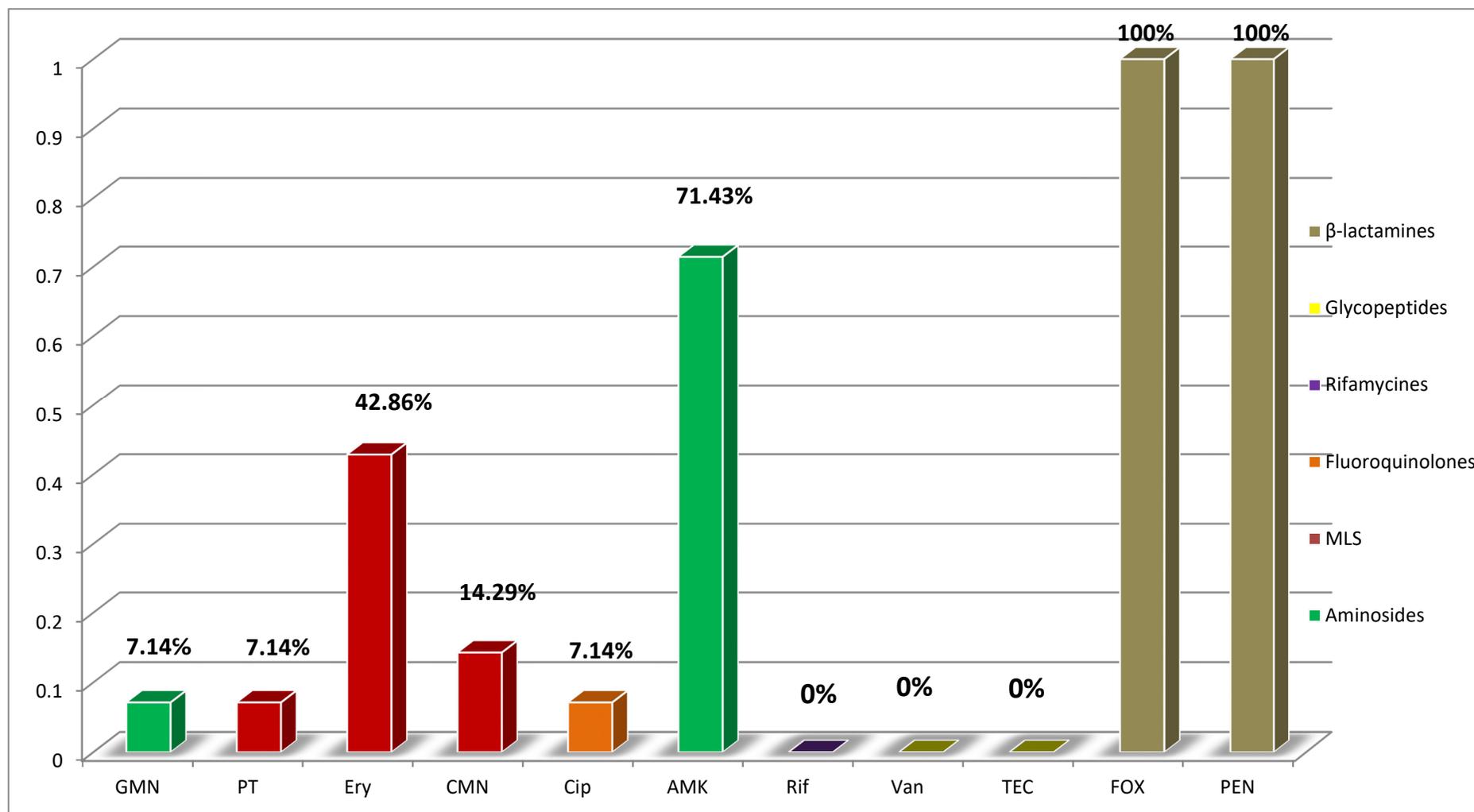
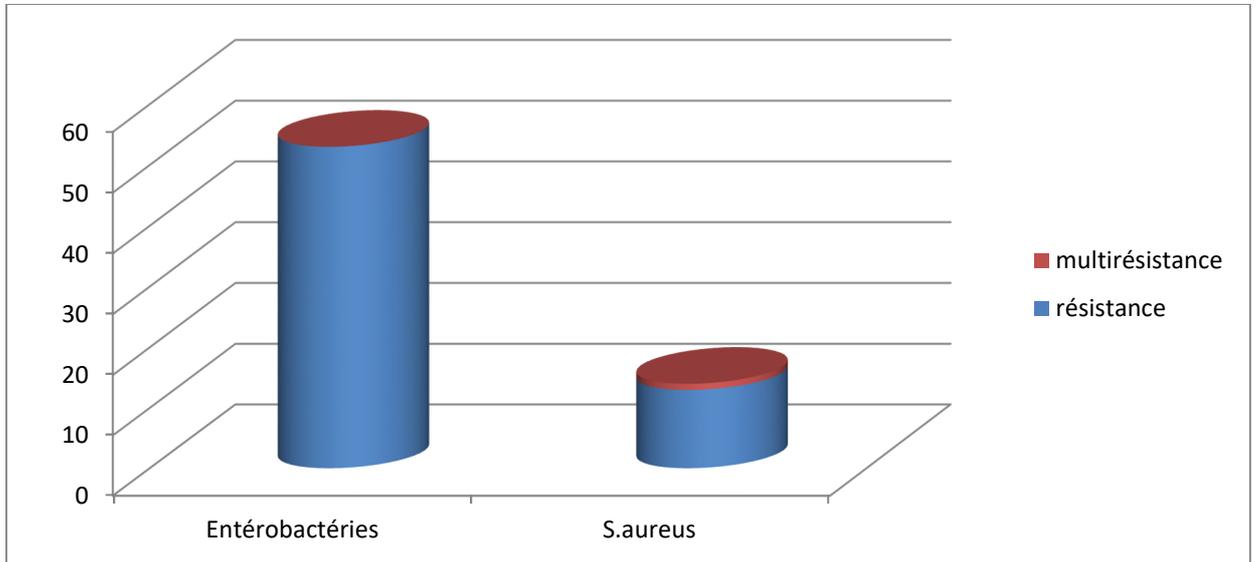


Figure 21 : Résistance des isolats de SARM aux antibiotiques.

Parmi les 53 souches d'entérobactéries et 14 souches de *S.aureus* identifiées présentent une multi-résistance, soit résistante à plus de 3 familles d'antibiotiques (la définition de multi-résistance n'étant pas univoque).



**Figure 22 :** Taux d'isolats multirésistants.

### VI-1- Les CMI :

Les résultats des E-tests de l'isolat de *Staphylococcus aureus* numéro D/165 identifié par une galerie API staph et avec un test de trèfle positif présente une résistance à la Pénicilline soit à CMI  $P = 0.64\mu\text{g/ml}$  indique la production d'enzyme Pénicillinase (test de confirmation).

Les résultats des E-test de l'isolat d'entérobactérie numéro D/237 identifiée par la galerie classique et la galerie API 20E présente une résistance à l'imipinème soit à CMI  $\text{IMP}=5 \mu\text{g/ml}$ . Un autre isolat d'entérobactérie numéro U/1002 qui a été identifié par la même procédure que la précédente présente une résistance à l'imipinème soit à CMI  $\text{IMP}=0.197\mu\text{g/ml}$  (test complémentaire).

## Discussion générale

Dans le cadre de la politique de lutte contre les infections nosocomiales mis en place dès les années 1988, la maîtrise de la résistance bactérienne aux antibiotiques est une priorité de santé publique. Des programmes sont en place dont les deux composantes majeures sont la réduction de la pression de sélection par un usage rationnel des antibiotiques et la prévention de la transmission croisée.

Au cours de notre étude, le taux d'infection obtenu est de 17.43% pour les entérobactéries et 31.11% pour les staphylocoques. Mais depuis des années 2000, l'incidence d'isolement de ces souches ne fait que croître. Ainsi, dans l'enquête réalisée par l'hôpital Robert-Debré de mère-enfant du nord-est de Paris entre la période 2000 et 2009 est passée de 0.8 (16%) en 2000 à 4.6 (92%) en 2009 concernant les infections à entérobactérie (Boyer et al., 2012). Contrairement aux infections à staphylocoques qui se diminuent dans la période allant du 1996 à 2008, l'évolution de l'incidence est de 1.16 (82.86%) en 1996 à 0.51 (36.43%) en 2000 mais elle reste une valeur presque la même retrouvée en cours de notre pratique (« Guide ERG C-CLIN Est version définitive 2 », s. d.). Dans notre étude, la proportion la plus élevée des isolats identifiés est celle d'entérobactéries (79.1%) par rapport au *S.aureus* (20.9%) et presque c'est les mêmes proportions trouvés en cours des études faites à CHU Montpellier au Burkina Faso (Ouedraogo, 2016). La répartition des isolats d'entérobactéries en fonction des services de prélèvement, un taux élevé de 69.81% au pavillon d'urgence comparant aux autres services qui sont en ordre décroissant respectivement : pédiatrie et pasteur avec un taux de 9.43%, Widal 5.66%, Nicolle 3.77%, HDJ 1.89% comme pour la majorité de ceux retrouvés en pays européen (Biran, Soude, et Aujard 2012; Cheng et al. 2008). Les mêmes types avec des proportions décroissantes allant du pavillon d'urgence au pavillon HDJ en parlant de *S.aureus* qui sont respectivement : PU (71.42%), Pédiatrie ; pasteur ; Nicolle et Widal (7.14%), enfin HDJ avec un pourcentage nul.

Au sein des isolats d'entérobactéries, nous notons une nette prédominance de l'espèce *K. Pneumoniae* avec un taux de 42.28% durant notre étude, et c'est pas la même distribution de ces espèces bactériennes trouvées dans les études faites précédemment qui c'est évolué : *K.pneumoniae* qui représentait environ 60% de ces souches en 1995, n'en représente plus que 20% ; *E.cloacae* a progressé de 5% à 18% ; mais c'est chez *E. Coli* que la progression est la plus nette, passant de moins de 10% en 1995 à 55 % en

2008. Cependant, des valeurs différentes ont été calculées en cours dans notre pratiques, concernant *E. cloacae* qui s'est progressé un petit peu d'un taux soit à 18.87%, dont la diminution de la proportion d'*E. Coli* qui s'atteint 33.96% avec un pourcentage très très faible de 1.89% pour *K. oxytoca*, pour finir avec ceux de : *E. Aéroènes*, *Proteus sp*, *Citrobacter sp*, *Providencia sp*, *M. Morganella* dont le taux est nul. (« **Guide ERG C-CLIN Est version définitive 2** », s. d.). Concernant la provenance des prélèvements, chaque germe possède des lieux d'infections privilégiés. Dans notre étude le taux le plus élevé d'entérobactéries se trouve plus fréquemment dans les urines (90.59%), cette tendance qui cesse de changer de la période allant du 1999 jusqu'à 2007 par une étude qui s'est déroulé en CHPA en France avec un taux de 76% en 1999 à un taux 32% en 2007 (**Anastay et al., 2013**), ce qui ne concorde pas avec celles enregistrés lors d'isolement de *S. aureus* qui est majoritairement isolé des pus (85.71%), ces résultats se rapprochent de celui retrouvé en CHU au Burkina Faso en 2016(37% hospitalisés) (**Ouedraogo, 2016**).

Dans notre étude, la catégorie d'âge la plus touchée par les deux genres bactériens est celle des adultes comprises entre 17 et 60 ans avec un taux de 49.06% pour les entérobactéries, ce qui ne concorde pas avec les résultats trouvés par une étude faite durant deux mois (Juin- Juillet 2014), sur les 584 cultures bactériologiques positive, 308 entérobactéries en été identifiées provenant d'échantillons prélevés chez 158 patients hospitalisés et 150 consultant à titre externe. Et durant leur étude ils ont retrouvés une différence significative de la proportion de BLSE entre l'externe (45%) et les hospitalisés (70%). Ils ont remarqués que chez les patients hospitalisés aucune association entre l'infection par une entérobactérie BLSE et une variable démographique n'a été retrouvée ; par contre chez les patients externes les infections à BLSE étaient significativement plus fréquentes chez les patients de plus de 65 ans et de sexe masculin (**Ouedraogo, 2016**), ce qui fait le contraire concernant la répartition de notre isolats d'entérobactéries BLSE qui a été un peu plus dominante chez la femme à 50.94%. Dans ce sens, la catégorie d'âge la plus touchée chez *S. aureus* est toujours celle entre 17ans et 60ans avec un taux de 64.29%. Alors que, lors de l'étude au Burkina Faso qui a été faite sur 219 écouvillonnages nasaux provenant de 116 volontaire sains et 103 patients hospitalisés qui ont été analysés, la moyennes d'âge des patients était de  $24.1 \pm 14.6$  ans ; dont la proportion la plus touchée était chez les hommes à 69.4% (**Ouedraogo, 2016**) contrairement avec celle trouvé durant notre étude qui a été plus isolée chez la femme que les hommes avec des taux : 57.14%, 42.85% respectivement.

Aujourd'hui, les entérobactéries sont des bacilles à gram négatif. Chez l'homme, le réservoir est le tube digestif à partir duquel la contamination urinaire et cutanée est fréquente, du fait de leurs remarquables capacités à s'adapter ainsi que leurs pouvoirs élevés à acquérir de nouveaux mécanismes de résistances dont la production de BLSE est le mécanisme de multi-résistance le plus répandu chez les entérobactéries.

L'étude des profils de résistances des isolats d'entérobactéries a montré un taux de résistance absolu vis-à-vis du ceftriaxone (C3G), ampicilline + acide clavulanique (AMC), Aztréonam (ATM) et l'amoxicilline (AMX). Le même résultat a été retrouvé par **(Anastay et al., 2013)**. Concernant les autres  $\beta$ -lactamines, le taux de résistance à l'imipinème, la Cefoxitine et la Céfazoline est parfaitement nul. Cette multi-résistance des entérobactéries BLSE a entraîné la prescription en clinique des carbapinèmes vis-à-vis leurs sensibilités à ces derniers, l'induction des carbapinèmes a favorisé l'émergence de carbapinimase inactivant ces antibiotiques avec un taux de 10 à 30%, dernières molécules de l'arsenal thérapeutique pour combattre les entérobactéries **(Ouedraogo, 2016)**.

Nous n'avons enregistré aucun cas de résistance aux familles des macrolides (MLS), dont on ne les a pas utilisés.

Concernant les antibiotiques du groupe aminoside, nous avons utilisé deux types d'antibiotiques appartenant à cette famille. Un taux de résistance nul qui a été enregistré en parlant de l'Amikacine (AKN), avec une résistance de 56.60% concernant la gentamycine (GMN). Cependant dès 1979, la Cefoxitine a été mis en cause dans l'induction de mécanisme de résistance des bacilles à gram négatif. La molécule a tout d'abord été impliquée dans l'induction des bêta-lactamases conduisant à un antagonisme entre la Cefoxitine et les autres céphalosporines, ces bêta-lactamases inductible ont été retrouvés entre autre chez *Enterobacter* sp, *Serratia* sp, *Pseudomonas aeruginosa*. En 1989, Pangon et al ; décrivent un échec thérapeutique du traitement d'une pneumonie nosocomial à *K.pneumoniae* sécrétrice de BLSE traité par Cefoxitine et gentamicine, non pas par induction enzymatique, mais par émergence de mutants présentant une modification des protéines de membrane rendant la souche imperméable à l'ensemble des bêta-lactamines **(Boyer et al., 2012)**.

La résistance aux sulfamides est de 64.15% pour Triméthoprim Sulfaméthoxazole qui a été enregistré en cours de notre étude concernant la résistance des isolats d'entérobactéries aux antibiotiques, une proportion un peu plus élevée comparant à celle trouvée par Abdoul-Salam qui est de 16% **(Ouedraogo, 2016)**. Ces analogues entre en

compétition avec les métabolites en raison de leurs similarité, mais ils sont suffisamment différents pour qu'ils ne puissent pas fonctionner normalement dans le métabolisme cellulaire. Les premiers anti-métabolites utilisés avec succès comme agent anti-chimio thérapeutique furent les sulfamides découverts par G.Domagk. Les sulfamides ont une structure proche de celle de la sulfanilamide, un analogue de l'acide p-Aminobenzoïque qui rentre dans la synthèse de l'acide folique. Lorsque le sulfanilamide ou un autre sulfamide pénètre dans une cellule bactérienne, il rentre en compétition avec l'acide p-Aminobenzoïque pour le site actif d'une des enzymes impliqué dans la synthèse de l'acide folique et la concentration en acide folique décroît. Cette diminution est nuisible à la bactérie parce que l'acide folique est essentiel à la synthèse des purines et pyrimidines dont la construction d'ADN et d'ARN et d'autres constituants cellulaires importants, l'inhibition de la synthèse des purines et pyrimidines conduit à l'arrêt de la croissance ou la mort de la bactérie pathogène.

En ce qui concerne le genre *Staphylococcus aureus* occupe une place très importante en pathologie humaine et animal, ce qui engendre une résistance contre une large gamme d'antibiotiques vis-à-vis de leurs contenance des gènes de résistance (Avril et al. 1992).

Dans notre étude les taux de résistances aux bêta-lactamines est absolue vis-à-vis la pénicilline et Cefoxitine, ce résultat correspond à celui fait à l'hôpital aux Burkina Faso en 2016 (**Ouedraogo, 2016**). La description de ce phénomène des souches de staphylocoques isolées en milieu hospitalier résistent à la pénicilline par production de Pénicillinase qui ouvre le cycle bêta-lactame de la molécule et inactivent l'antibiotique. Ces pénicillinases sont extracellulaires, inductible et généralement codées le gène *blaZ* porté par un plasmide ou un transposon, dans le second lieu ces enzymes inactivent les pénicilline G et V, les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les ureidopénicillines, par contre elles ont peu d'affinité pour la méthicilline, l'oxacilline, la cloxacilline et toutes les céphalosporines qui restent actif sur ces souches productrice de pénicillinases qui sont inhibées par l'acide clavulanique (Avril et al. 1992). En ce qui concerne la résistance à l'oxacilline, les SARM qualifient la principale bactérie multi-résistante rencontrée dans les infections nosocomiales qui est liée à la modification de la cible de bêta-lactamines par la synthèse d'une nouvelle PLP appelée PLP2A encore appelée PBP en plus des PLP naturelles, dont leurs faibles affinités pour ces antibiotiques. Elle est codée par le gène *mecA* situé au sein

d'un îlot de résistance nommé *SCCmec* (*Staphylococcal Cassete Chromosome mec*) (Avril et al., 1992; Calop et al., 2012).

Concernant la résistance aux aminosides elle est de 71.43% pour l'Amikacine, et 7.14% pour la gentamicine. Ces résultats ne concordent pas avec ceux obtenus dans une étude réalisée au Burkina Faso avec un taux de résistance presque absolu pour la gentamycine qui est de 95% et celle de l'Amikacine soit à 86% (Ouedraogo, 2016) Cette résistance est acquise par modification de divers enzymes staphylococciques : phosphotransférases, nucléotidyltransphérasés et acétyltransférases dont la première touchant la perméabilité, la seconde assure la production d'enzyme inactivatrice, la dernière conduit à des mutations au niveau des protéines ribosomales. En effet, les souches résistance à la gentamycine sont aussi résistantes à la toblramycine et à la kanamycine qui se caractérisent par un phénotype appelé KTG (Avril et al. 1992).

La résistance aux MLS est de 7.14%, 42.86% et 14.27% (Pristinamycine, érythromycine et clindamycine ) respectivement. Le taux de résistance à l'érythromycine est proche de celui obtenu auparavant en Burkina Faso qui est de 39% (Ouedraogo, 2016) Concernant la clindamycine, un taux de résistance reste un peu plus faible rapporté par plusieurs études faites précédemment (Avril et al., 1992). Ces mécanismes peuvent être expliqués par une modification de la cible ribosomal dont la méthylation de certains résidus adénine de l'ARN 23S empêche les antibiotiques de se positionner correctement dans le domaine peptidyl-transférase induite par des enzymes méthylase codé par le gène *erm* ( Erythromycine Ribosome Méthylase) (Calop et al., 2012).

Concernant les Fluoroquinolones le taux de résistance est de 7.14% pour ciprofloxacine. Ce qui reflète une légère augmentation de la sensibilité aux Fluoroquinolones chez les SARM (5% en 1998, 12% en 2005) par une étude faite à l'hôpital île de France en (Audrey et al., 2010). Comparant à la première étude faite sur la résistance et la diversité génétique de *S.aureus* au Burkina Faso montre une très faible prévalence de la résistance à la méthicilline, ce qui explique le mécanisme de la grande diversité des clones circulant et une fréquence élevé des souches toxigènes, cette dernière secrète une toxine de type PVL détruit spécifiquement les polynucléaire et les macrophages de l'homme et du lapin, la présence du facteur de virulence de ces souches de colonisation constitue des facteurs de risque, de gravité lors des infections ; le portage étant la principale source des infections à *S.aureus* (Ouedraogo, 2016).

Aucune résistance n'a été notée vis-à-vis les Rifamycines, leurs mécanismes reste très active dont leurs utilisation en association conduisent pas à des mutations ponctuelles résistantes (Avril et al., 1992).

Concernant les glycopeptides, une résistance nettement nul pour les deux antibiotiques : la vancomycine et la Téicoplanine enregistré en cours de notre étude ce qui qualifié que la vancomycine l'un des traitement les plus probants face aux infections à SARM. Actuellement la description de ce mécanisme chez certaines souches de *S.aureus* résultant d'une transformation de la séquence DAAla-DAAla du précurseur pentapeptidique du peptidoglycane en DAAla-DAAla ou DAAla-D-Ser, réduit, parfois fortement, l'affinité de la vancomycine et/ou de la Téicoplanine pour ce précurseur. Ces modifications sont sous la dépendance d'un opéron de type- *Van* (Calop et al., 2012) .

Il y'a quelques progrès récents dans la lutte contre les bactéries résistantes, de nouveaux produits ce montrent actifs contre les entérocoques résistants à la vancomycine, le Synercid est un mélange de deux antibiotiques de la famille de la streptogamine : la quinupristine et la dalphopristine ; un autre produit le linezolide (Zyvox) est le premier d'une nouvelle famille d'antibiotiques, les oxazolidinones. Ils inhibent la synthèse protéique actif contre les entérocoques résistant à la vancomycine ainsi que contre staphylococcus résistant à la méthicilline

# Conclusion

### Conclusion

Au cours de cette étude réalisée à l'hôpital spécialisé dans les maladies infectieuses El Hadi Flici ex-El Kettar d'Alger, sur une période de trois mois, 1200 échantillons cliniques ont été analysés. L'objectif de départ étant l'isolement, l'identification et la caractérisation des isolats multirésistants des genres entérobactéries et *Staphylococcus*. A la lumière de notre travail les conclusions sont tirées :

- Les résultats d'identifications de 1200 prélèvements cliniques révèlent 304 isolats d'entérobactéries dont 53 souches d'entérobactéries productrices de BLSE (17.43%) avec une prédominance de *K. pneumoniae* (42.28%).
- 45 souches de *Staphylococcus aureus* qui ont été isolées dont 14 souches sont résistantes à la méthicilline à un taux de résistances de 31.11%.
- La majorité des souches d'entérobactéries et *Staphylococcus aureus* qui ont été isolées de l'hôpital provenant du service d'urgence, avec un taux de 69.81% pour les entérobactéries et de 71.42% pour les *Staphylococcus aureus*.
- La plupart des souches d'entérobactéries sont le plus souvent isolées d'urine avec un taux de 90.57%. Alors que celles de *Staphylococcus aureus* leurs isolations se font dans la majorité des cas à partir des pus avec un taux de 85.71%.
- Une augmentation des infections aux genres entérobactéries ont été observées depuis 2014 à l'exception de l'année 2017 avec un taux de 7%.
- La prévalence des isolats de *S. aureus* reste en changement en fonction des années depuis 2014.
- Le taux de résistance des entérobactéries vis-à-vis des deux céphalosporines testées (céfotaxime et aztréonam) est absolu.
- L'imipinème, ceftioxime, amikacine et céfazoline restent les seuls antibiotiques pour lesquels aucune résistance n'a été manifestée pour les entérobactéries.
- La résistance des isolats de SARM aux antibiotiques est absolue vis-à-vis la pénicilline, qui devient sans aucun effet pour le traitement des infections staphylococciques.

Dans le but de s'assurer que les résistances similaires proviennent ou pas du même clone, il est recommandé de compléter cette étude par des techniques moléculaires plus approfondies, comme le MLST, la confirmation des gènes de résistance phénotypiquement rapportés ainsi que la détermination exacte des différentes enzymes de résistance impliquées.

# Références Bibliographiques

**A**

- ❖ **Ananthan, S., et A. Subha.** 2005. « Cefoxitin resistance mediated by loss of a porin in clinical strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* ». *Indian journal of medical microbiology* 23 (1): 20.
- ❖ **Avril, Jean-Loup, Henry Dabernat, François Denis, et Henri Monteil.** 1992. *Bactériologie clinique*. paris: Ed. Ellipses-Marketing.

**B**

- ❖ **Bauerfeind, A., I. Stemplinger, R. Jungwirth, S. Ernst, et J. M. Casellas.** 1996. « Sequences of-lactamase genes encoding CTX-M-1 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other-lactamases ». *Antimicrob. Agents Chemother* 40: 509- 13.
- ❖ **Biran, Valérie, Sophie Soudee, et Yannick Aujard.** 2012. « Particularités des infections nosocomiales chez l'enfant fragile. Spécificités en néonatalogie ». *Médecine thérapeutique/Pédiatrie* 15 (1): 41- 45.
- ❖ **Bradford, Patricia A.** 2001. « Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat ». *Clinical microbiology reviews* 14 (4): 933- 51.
- ❖ **Brenner, D. J.** 1981. « Introduction to the family Enterobacteriaceae ». *The prokaryotes* 2: 1105- 27.

**C**

- ❖ **Calop, Jean, Gilles Aulagner, Christine Fernandez, et Samuel Limat.** 2012. *Pharmacie clinique et thérapeutique*. Elsevier Health Sciences.
- ❖ **Cavallo, J.-D., R. Fabre, F. Jehl, C. Rapp, et E. Garrabé.** 2004. « Bêtalactamines ». *EMC-Maladies infectieuses* 1 (3): 129- 202.
- ❖ **Cheng, Chi-Hui, Ming-Horng Tsai, Yhu-Chering Huang, Lin-Hui Su, Yong-Kwei Tsau, Chi-Jen Lin, Cheng-Hsun Chiu, et Tzou-Yien Lin.** 2008. « Antibiotic Resistance Patterns of Community-Acquired Urinary Tract Infections in Children With Vesicoureteral Reflux Receiving Prophylactic Antibiotic Therapy ». *Pediatrics* 122 (6): 1212- 17. <https://doi.org/10.1542/peds.2007-2926>.

**D**

- ❖ **Del Giudice, Pascal, Pierre Tattevin, et Jérôme Étienne.** 2012. « Infections à *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline communautaires ». *La Presse Médicale* 41 (7- 8): 713- 20.

- ❖ **Denis, François, Marie-Cécile Ploy, Edouard Bingen, et Roland Quentin.** 2011. *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. 2eme éd. paris: Elsevier Health Sciences.

**F**

- ❖ **Farmer, J.Jd, Betty R. Davis, F. W. Hickman-Brenner, Alma McWhorter, G. P. Huntley-Carter, M. A. Asbury, Conradine Riddle, H. G. Wathen-Grady, C. Elias, et G. R. Fanning.** 1985. « Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. » *Journal of clinical microbiology* 21 (1): 46- 76.

**G**

- ❖ **Gribi, Kahina.** 2016. « Isolement et caractérisation de bactéries pathogènes nosocomiales dans deux milieux hospitaliers Chlef et Batna ». Sebahia M.
- ❖ « Guide ERG C-CLIN Est version définitive 2 ». s. d., 154.

**H**

- ❖ **Hart, Tony, et Paul Shears.** 1997. *Atlas de poche microbiologie*. Flammarion.
- ❖ **Haruta, Shin, Hitomi Yamaguchi, Elise Tie Yamamoto, Yoshiro Eriguchi, Michiyoshi Nukaga, Koji O'Hara, et Tetsuo Sawai.** 2000. « Functional analysis of the active site of a metallo- $\beta$ -lactamase proliferating in Japan ». *Antimicrobial agents and chemotherapy* 44 (9): 2304- 9.

**K**

- ❖ **Kumar, Ayush, et Herbert P. Schweizer.** 2005. « Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake ». *Advanced drug delivery reviews* 57 (10): 1486- 1513.

**L**

- ❖ **Laterre, P.-Fr, Francis Colardyn, Michel Delmée, J. De Waele, J.-Cl Legrand, J. Van Eldere, Anne Vergison, et D. Vogelaer.** 2006. « Antimicrobial therapy for intra-abdominal infections: guidelines from the Infectious Disease Advisory Board (IDAB) ». *Acta Chirurgica Belgica* 106 (1): 2- 21.
- ❖ **Livermore, David M.** 1995. « beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. » *Clinical microbiology reviews* 8 (4): 557- 84.
- ❖ **Livermore, David M.** 1997. « Acquired carbapenemases. » *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 39 (6): 673- 76.
- ❖ **Lowy, Franklin D.** 2003. « Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus* ». *The Journal of clinical investigation* 111 (9): 1265- 73.

**M**

- ❖ **Madec, Jean-Yves, Marisa Haenni, Eric Jouy, Sophie Granier, François-Xavier Weill, et Simon Le Hello.** 2010. « Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de dernières générations: de l'animal à l'Homme ». *Bull Epidémiol, Santé Animale et Alimentation* 53: 37- 40.
- ❖ **Mainil, Jacques, et S. Van Bost.** 2004. « Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichia coli: IV) Souches nécrotoxigènes ». *Ann. Méd. Vét* 148: 121- 32.
  
- ❖ **Martinez-Martinez, Luis, Santiago Hernández-Allés, Sebastian Albertí, Juan M. Tomás, Vicente J. Benedi, et George A. Jacoby.** 1996. « In vivo selection of porin-deficient mutants of Klebsiella pneumoniae with increased resistance to cefoxitin and expanded-spectrum-cephalosporins. » *Antimicrobial agents and chemotherapy* 40 (2): 342- 48.
  
- ❖ **Matagne, André, Josette Lamotte-Brasseur, et Jean-Marie Frère.** 1998. « Catalytic properties of class A  $\beta$ -lactamases: efficiency and diversity ». *Biochemical Journal* 330 (2): 581- 98.

**N**

- ❖ **Nauciel, Charles, et Jean-Louis Vildé.** 2005. *Bactériologie médicale*. 2eme éd. paris: Elsevier Masson.
- ❖ **Nhung, Pham Hong, Kiyofumi Ohkusu, Noriko Mishima, Makiko Noda, Mohammad Monir Shah, Xiaosong Sun, Masahiro Hayashi, et Takayuki Ezaki.** 2007. « Phylogeny and species identification of the family Enterobacteriaceae based on dnaJ sequences ». *Diagnostic microbiology and infectious disease* 58 (2): 153- 61.
- ❖ **Niang, O.** 2003. « Validation d'une microméthode d'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires ». Thèse de pharmacie, Dakar.

**O**

- ❖ **Ouedraogo, Abdoul-Salam.** 2016. « Prévalence, circulation et caractérisation des bactéries multirésistantes au Burkina Faso ». Phdthesis, Université Montpellier. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01476152/document>.

**P**

- ❖ **Parvez, Md Anowar Khasru, Rabeya Nahar Ferdous, Md Shahedur Rahman, et Sohedul Islam.** 2018. « Healthcare-associated (HA) and community-associated (CA) methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Bangladesh—Source, diagnosis and treatment ». *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*.
- ❖ **Perrière, Guy.** 1992. « Application d'une représentation par objets des connaissances à la modélisation de certains aspects de l'expression des gènes chez Escherichia coli ». Lyon 1.

**R**

- ❖ **Rousset, E., M. Prigent, G. Ameziane, R. Brugidou, I. Martel, A. Grob, G. Le Gall, S. Kerninon, José Delaval, et A. Chassin.** 2012. « Adoption par un réseau de laboratoires, d'une méthode de PCR temps réel quantitative validée pour conduire une surveillance des avortements dus à la fièvre Q en élevages de ruminants ». *Euroreference* 8: 21- 27.

**S**

- ❖ **Schaechter, Moselio, Gerald Medoff, et Barry I. Eisenstein.** 1999. *Microbiologie et pathologie infectieuse*. 2eme éd. paris: De Boeck Supérieur.
- ❖ **Sougakoff, Wladimir, et David Trystram.** 2003. « Résistances aux  $\beta$ -lactamines ». *Service de Bacteriologie-Hygiène du CHU Pitié-Salpêtrière*, 9- 12.
- ❖ **Stürenburg, Enno, et Dietrich Mack.** 2003. « Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control ». *Journal of infection* 47 (4): 273-95.

**T**

- ❖ **Thomson, Kenneth S., et Ellen Smith Moland.** 2001. « Cefepime, piperacillin-tazobactam, and the inoculum effect in tests with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae ». *Antimicrobial agents and chemotherapy* 45 (12): 3548- 54.

# Annexes

**Annexe I****Composition des Milieux de culture****(En g/l)****❖ Gélose Chapman**

- Extrait de viande de bœuf .....	1g
- Peptone.....	10g
- Mannitol.....	10g
- Chlorure de sodium.....	75g
- Rouge de phénol .....	0,025g
- agar.....	15g
- PH .....	7,5

**❖ Gélose Hektoen**

- Protéose peptone .....	12g
- Extrait de levure .....	3g
- chlorure de sodium.....	5g
- Sels biliaires .....	9g
-Thiosulfate de sodium.....	5g
- Citrate de fer ammoniacal.....	1.5g
- Salicine.....	2g
- Lactose .....	12g
- Saccharose.....	12g
- Fuchsine acide.....	0.04g
- Agar.....	14g
- Bleu de bromothymol .....	0,065g
- PH .....	7.5

**❖ Gélose Mac conkey**

- Peptone de viande .....	3g
-Peptone de caséine .....	17g
- Mélange de sels biliaires .....	1,5g
- Lactose .....	10g
-Cristal violet.....	0.001g
-Rouge neutre .....	0.03g
-Chlorure de sodium.....	5g

**❖ Gélose de Mueller-Hinton (MH)**

-infusion de viande de bœuf .....	300g
- Hydrolysate de caséine .....	17,5g
- Amidon .....	1,5g
-Agar.....	17g
-PH .....	7,4g

**❖ Gélose TSI**

- Extrait de levure .....	3g
- Extrait de viande de bœuf .....	3g
- chlorure de sodium.....	5g
- peptone tryptique .....	20g
- Thiosulfate de sodium.....	0,3g
- Citrate ferrique .....	0.3g
- Glucose .....	1g
- Lactose .....	10g
- saccharose .....	10g
- Rouge phenol .....	0.05g
- Agar.....	12g
- PH .....	7.4

❖ **Milieu urée-indole**

- L-tryptophane.....	3g
- Phosphate monopotassique .....	1g
- Phosphate dipotassique .....	1g
- Chlorure de sodium.....	5g
- Urée.....	20g

**Produits chimiques**❖ **Fuchsine phénique**

-Fuchsine cristallisée .....	1g
- Alcool éthylique .....	10ml
- Phénom.....	5g
- Eau distillée.....	10ml

❖ **Lugol**

- Iode .....	1g
- Iodure de potassium.....	2g
- Eau distillé .....	300ml

❖ **Violet de gentiane phénique**

- violet de gentiane.....	1g
- Phénol.....	11g
- Ethanol.....	10ml
- Eau distillée.....	100ml

❖ **L'eau oxygénée ( H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)****Annexes II**➤ **Préparation du frottis**

**Prélever une goutte de la suspension bactérienne et la déposer au centre de lame**

**L'étaler avec l'anse sur lame, de façon à obtenir un étalement mince**

### Sécher et fixer en portant la lame au-dessus de la flamme du bec benzène

#### ➤ Coloration

- Recouvrir la lame de violet de gentiane : 1 minute
- Rejeter le violet de gentiane
- Recouvrir de Lugol :1 minute
- Rejeter le Lugol
- Décolorer à l'alcool, la lame étant tenue inclinée
- Stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau
- Recouvrir la lame de fuchsine dilué , 30 secondes à une minute.
- Laver à l'eau
- Sécher entre deux feuilles papier filtre , puis à la chaleur ;
- Examiner à l'immersion
- Les bactéries à Gram positive doivent apparaître colorées en violet et les bactéries à Gram négative en rose.

**Tableau V:** Renseignement collectés au cours de l'étude pour les isolats d'entérobactéries

CODE	Date de prélèvement	Age	Type de prélèvements	Sexe	Service
342	29/01/2018	18ans	ECBU	femme	PU
221	30/01/2018	2ans	LCR	homme	ped
347	30/01/2018	75ans	ECBU	homme	PU
352	01/02/2018	40ans	ECBU	homme	PU
360	03/02/2018	88ans	ECBU	femme	PU
368	04/02/2018	16ans	ECBU	femme	pasteur
371	04/02/2018	72ans	ECBU	homme	PU
387	05/02/2018	33ans	ECBU	Femme	pasteur
389	06/02/2018	36ans	ECBU	femme	PU
391	07/02/2018	4ans	ECBU	femme	ped
395	09/02/2018	2ans	ECBU	homme	ped
408	11/02/2018	44ans	ECBU	homme	PU
423	13/02/2018	59ans	ECBU	femme	PU
433	14/02/2018	43ans	ECBU	homme	PU
482	17/02/2018	27ans	ECBU	homme	PU
489	17/02/2018	36ans	ECBU	femme	Nicolle
592	19/02/2018	adulte	ECBU	femme	PU
513	19/02/2018	6mois	ECBU	homme	Widal
528	21/02/2018	adulte	ECBU	homme	PU
532	21/02/2018	3ans	ECBU	femme	PU
544	22/02/2018	72ans	ECBU	homme	PU
566	25/02/2018	68ans	ECBU	homme	PU
576	27/02/2018	14ans	ECBU	femme	pasteur

585	27/02/2018	adulte	ECBU	homme	PU
591	28/02/2018	77ans	ECBU	homme	PU
504	01/03/2018	2mois	LCR	homme	Ped
627	04/03/2018	58ans	ECBU	homme	PU
629	04/03/2018	6mois	ECBU	homme	Widal
639	06/03/2018	78ans	ECBU	femme	PU
656	07/03/2018	65ans	ECBU	homme	PU
672	08/03/2018	33ans	ECBU	femme	PU
674	08/03/2018	52ans	ECBU	homme	PU
673	10/03/2018	15mois	ECBU	femme	PU
690	11/03/2018	51ans	ECBU	homme	PU
744	15/03/2018	31ans	ECBU	femme	Nicolle
745	15/03/2018	35ans	ECBU	femme	HDJ/Lav
211	17/03/2018	30ans	ECBU	femme	PU
737	17/03/2018	37ans	ECBU	femme	PU
777	18/03/2018	56ans	ECBU	homme	pu
778	20/03/2018	89ans	ECBU	homme	PU
826	24/03/2018	74ans	ECBU	homme	PU
851	26/03/2018	6mois	ECBU	femme	Widal
855	27/03/2018	7ans	ECBU	femme	PU
850	28/03/2018	59ans	ECBU	homme	PU
874	28/03/2018	4ans	ECBU	femme	Ped
883	28/03/2018	20jours	ECBU	homme	PU
916	31/03/2018	43ans	ECBU	femme	PU
920	03/04/2018	14ans	ECBU	femme	pasteur
945	04/04/2018	29ans	ECBU	femme	PU
966	05/04/2018	10ans	ECBU	femme	pasteur
1002	08/04/2018	79ans	ECBU	femme	PU
237	09/04/2018	39ans	ECBU	femme	PU
241	10/04/2018	53ans	ECBU	homme	PU

**Identification Tableau VI : Identification des isolats d'entérobactéries**

Code	Citrate de simmens	INDOLE	ONPG	Urée	Espèces
342	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Enterobacter cloacae
221	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
347	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
352	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Enterobacter cloacae
360	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
368	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
371	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
387	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
389	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Enterobacter cloacae
391	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Enterobacter cloacae
395	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli

408	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Enterobacter cloacae
423	Positif	Négatif	Positif	Positif	Kleipsella pneumonie
433	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
482	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
489	Positif	Positif	Positif	Positif	Kleipsella oxytoca
592	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Enterobacter cloacae
513	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
528	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
532	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
544	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
566	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
576	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
585	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
591	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
504	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
627	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
629	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
639	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
656	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
672	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
674	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
673	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
690	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
744	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
745	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
211	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
737	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
777	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
778	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Enterobacter cloacae
826	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
851	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Enterobacter cloacae
855	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
850	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Enterobacter cloacae
874	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
883	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
916	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
920	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
945	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
966	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie
1002	Négatif	Positif	Positif	Négatif	E. Coli
237	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Enterobacter cloacae
241	Positif	Négatif	Positif	Positif	kleipsella pneumonie

**Tableau VII :** Renseignement collectés au cours de l'étude pour les isolats de staphylocoques

Code	Type de prélèvement	Sexe	Age	Date de prélèvement	Service
108	Pus	femme	28ans	06/02/2018	PU
513	ECBU	homme	6mois	19/02/2018	Widal
162	Pus	homme	53ans	04/03/2018	PU
165	Pus	homme	70ans	04/03/2018	PU
167	Pus	femme	42ans	07/03/2018	PU
175	Pus	femme	15ans	11/03/2018	pasteur
178	Pus	femme	33ans	13/03/2018	PU
181	Pus	homme	27ans	15/03/2018	PU
189	PUS	femme	33ans	18/03/2018	PU
523	Hémoculture	femme	35ans	20/03/2018	PU
234	Pus	femme	33ans	08/04/2018	Nicolle
245	Pus	homme	adulte	09/04/2018	PU
256	Pus	homme	14ans	11/04/2018	Ped
261	Pus	femme	63ans	12/04/2018	PU

**Tableau VIII** : Identification des souches de staphylocoques

Code	Observation sous microscope			
	Gram	Catalase	Staphaurexe	
Colonne1	Colonne2	Colonne3	Colonne4	Colonne5
D/108	cocci	positif	positif	agglinuation
U/513	cocci	positif	positif	agglinuation
D/162	cocci	positif	positif	agglinuation
D/165	cocci	positif	positif	agglinuation
D/167	cocci	positif	positif	agglinuation
D/175	cocci	positif	positif	agglinuation
D/178	cocci	positif	positif	agglinuation
D/181	cocci	positif	positif	agglinuation
D/189	cocci	positif	positif	agglinuation
H/523	cocci	positif	positif	agglinuation
D/234	cocci	positif	positif	agglinuation
D/245	cocci	positif	positif	agglinuation
D/256	cocci	positif	positif	agglinuation
D/261	cocci	positif	positif	agglinuation

**Tableau IX** : Profils de résistances des isolats des E-BLSE vis-à-vis des divers antibiotiques

CODE	IMP	CRO/CTX	AMC	ATM	AMX	FOX	AKN	GMN	SXT	Kz
<b>342</b>	<b>S/26</b>	<b>6</b>	<b>62</b>	<b>63</b>	<b>64</b>	<b>S/30</b>	<b>S/19</b>	<b>S/16</b>	<b>R/6</b>	<b>65</b>
221	S/30	6	6	6	6	S/28	S/22	R/6	S/33	6

347	S/30	6	6	6	6	S/27	S/20	R/6	R/6	6
352	S/30	6	6	6	6	S/30	S/18	S/19	R/6	6
360	S/33	6	6	6	6	S/32	S/17	R/6	R/6	6
368	S/32	6	6	6	6	S/26	S/20	S/22	R/6	6
371	S/34	6	6	6	6	S/27	S/28	S/21	S/32	6
387	S/36	6	6	6	6	S/30	S/25	R/6	S/33	6
389	S/34	6	6	6	6	S/28	S/24	S/21	S/25	6
391	S/33	6	6	6	6	S/27	S/21	S/21	S/25	6
395	S/44	6	6	6	6	S/29	S/33	R/6	S/33	6
408	S/45	6	6	6	6	S/30	S/30	R/6	R/6	6
423	S/31	6	6	6	6	S/27	S/19	R/6	R/6	6
433	S/32	6	6	6	6	S/33	S/24	R/6	R/6	6
482	S/44	11	6	6	6	S/28	S/20	R/6	R/6	6
489	S/33	6	6	6	6	S/30	S/28	S/21	S/30	6
592	S/35	6	6	6	6	S/32	S/25	R/6	R/6	6
513	S/30	6	6	6	6	S/27	S/23	R/6	R/6	6
528	S/38	6	6	6	6	S/24	S/28	S/25	R/6	6
532	S/32	6	6	6	6	S/28	S/25	S/21	R/6	6
544	S/35	6	6	6	6	S/30	S/22	R/6	S/32	6
566	S/84	6	6	6	6	S/24	S/24	S/23	R/6	6
576	S/36	6	6	6	6	S/28	S/22	R/6	R/6	6
585	S/36	6	6	6	6	S/27	S/21	S/21	S/33	6
591	S/33	6	6	6	6	S/30	S/20	R/6	R/6	6
504	S/30	6	6	6	6	S/25	S/17	R/6	S/30	6
627	S/26	6	6	6	6	S/28	S/26	S/20	S/33	6
629	S/33	6	6	6	6	S/30	S/25	S/25	R/6	6
639	S/35	6	6	6	6	S/32	S/25	R/6	R/6	6
656	S/30	6	6	6	6	S/34	S/21	S/21	R/6	6
672	S/28	6	6	6	6	S/29	S/25	R/6	R/6	6
674	S/35	6	6	6	6	S/25	S/25	R/6	S/30	6
673	S/29	6	6	6	6	S/30	S/19	S/21	R/6	6
690	S/32	6	6	6	6	S/29	S/25	R/6	R/6	6
744	S/33	6	6	6	6	S/34	S/25	R/6	S/32	6
745	S/33	6	6	6	6	S/25	S/26	R/6	R/6	6
211	S/29	6	6	6	6	S/29	S/19	R/6	R/6	6
737	S/27	6	6	6	6	S/30	S/22	S/25	S/20	6
777	S/31	6	6	6	6	S/26	S/21	R/6	S/20	6
778	S/32	6	6	6	6	S/28	S/22	S/21	R/6	6
826	S/367	6	6	6	6	S/30	S/20	R/6	R/6	6
851	S/38	6	6	6	6	S/34	S/20	R/6	R/6	6
855	S/34	6	6	6	6	S/29	S/25	S/22	S/33	6
850	S/31	6	6	6	6	S/27	S/20	R/6	R/6	6
874	S/36	6	6	6	6	S/34	S/24	S/22	R/6	6
883	S/29	6	6	6	6	S/36	S/22	S/20	S/30	6
916	S/34	6	6	6	6	S/32	S/18	R/6	R/6	6

920	S/27	6	6	6	6	S/25	S/22	S/20	S/30	6
945	S/31	6	6	6	6	S/38	S/20	R/6	R/6	6
966	S/36	6	6	6	6	S/34	S/23	S/22	R/6	6
1002	S/31	6	6	6	6	S/36	S/17	R/6	S/15	6
237	S/36	6	6	6	6	S/30	S/22	S/20	R/6	6
241	S/36	6	6	6	6	S/26	S/21	R/6	R/6	6

**Tableau X** : Profils de résistance des isolats du SARM vis-à-vis des divers antibiotiques

CODE	GMN	PT	Ery	CMN	Cip	AMK	Rif	VAN	TEC	FOX	PEN
<b>D/108</b>	<b>S /22</b>	<b>S/29</b>	<b>R/6</b>	<b>S/25</b>	<b>S/18</b>	<b>S/20</b>	<b>S/34</b>	<b>S/202</b>	<b>S/17</b>	<b>R/63</b>	<b>R/64</b>
U/513	S /26	S/27	R/6	S/28	S/20	S/24	S/38	S/24	S/18	R/12	R/6
D/162	S /24	S/32	R/6	S/27	S/17	S/21	S/34	S/19	S/19	R/14	R/9
D/165	S /26	S/30	R/6	S/28	S/19	S/20	S/36	S/18	S/17	R/19	R/20
D/167	S/30	S/18	R/6	R/6	S/39	R/10	S/26	S/25	S/18	R/21	R/19
D/175	S /31	S/34	S/31	S/33	S/30	R/6	S/34	S/23	S/20	R/18	R/15
D/178	S/26	S/32	S/26	S/26	S/39	R/6	S/38	S/22	S/18	R/16	R/6
D/181	S/ 29	S/33	S/30	S/30	S/29	R/6	S/34	S/19	S/30	R/19	R/6
D/189	S/21	S/25	S/24	S/25	S/21	R/6	S/20	S/18	S/14	R/20	R/6
H/523	S/23	S/34	S/29	S/30	S/20	R/6	S/34	S/22	S/20	R/12	R/6
D/234	S/21	S/31	S/29	S/30	S/22	R/6	S/33	S/21	S/18	R/15	R/6
D/245	R/6	S/32	S/14	S/29	R/6	R/6	S/36	S/21	S/18	R/18	R/6
D/256	S/22	S/32	S/32	S/30	S/26	R/6	S/34	S/20	S/18	R/15	R/13
D/261	S/22	R/6	R/6	R/6	S/30	R/12	S/33	S/20	S/18	R/11	R/13

**Résumé :** L'émergence des souches multirésistantes pose un sérieux problème de santé public. Dans ce contexte, notre étude réalisée à l'hôpital El Kettar dans la wilaya d'Alger vise à compléter l'état des lieux des infections à entérobactéries et staphylocoques précédemment entamé. La démarche expérimentale consiste à analyser des échantillons de diverses origines, identifier les souches d'entérobactéries et de staphylocoques puis caractériser leurs profils de résistance. Les résultats révèlent 304 d'entérobactéries et 45 *staphylococcus aureus* dont 53 d'entérobactéries productrices de BLSE et 14 SARM sur les 1200 prélèvements. Les entérobactéries ainsi que *S.aureus* présentent des taux de résistances variable avec une résistance absolue au ceftazidime (C3G) et à l'aztréonam est moindre à la gentamycine et sulamithoxazole triméthoprime 56.60%, 64.15% respectivement. Avec une résistance nulle par apport à l'imipinème, cefoxitine, amikacine et céfazoline. Chez *S.aureus* une résistance absolue qui a été enregistré vis-à-vis la cefoxitine et la pénicilline. La résistance aux aminosides est variable avec des taux de 7.14% gentamycine, 71.43% amikacine. Un taux de 7.14% a été noté vis-à-vis la famille des fluoroquinolones. Une résistance variable aux macrolides vis-à-vis pristinamycine, érythromycine et clindamycine avec des taux respectif de 7.14%, 42.86% et 14.29%. Enfin les souches de *S.aureus* ne présentent aucune résistance vis-à-vis les glycopeptides ainsi qu'à la famille rifamycine.

**Mots-clés :** Entérobactéries, *Staphylococcus aureus*, multirésistance, BLSE, SARM, Alger

\*\*\*\*\*

**Abstract:** The emergence of multidrug-resistant strains is a serious public health problem. In this context, our study carried out at the El Kettar hospital in Algiers aims to complete the inventory of previously entered enterobacteria and staphylococcus infections. The experimental approach consists in analyzing samples of various origins, identifying the enterobacteria and staphylococcus strains and then characterizing their resistance profiles. The results reveal 304 enterobacteria and 45 staphylococcus aureus, of which 53 were ESBL-producing enterobacteria and 14 were MRSA in 1200 specimens. Enterobacteriaceae as well as *S.aureus* have variable resistance rates with absolute resistance to ceftazidime (C3G) and aztreonam is less to gentamycin and sulamithoxazole trimethoprim 56.60%, 64.15% respectively. With no resistance to imipine, cefoxitine, amikacin and cefazolin. At *S. aureus* an absolute resistance has been recorded with respect to cefoxitin and penicillin. Aminoglycoside resistance is variable with levels of 7.14% gentamicin, 71.43% amikacin. A rate of 7.14% was noted with respect to the family of fluoroquinolones. Variable resistance to macrolides vis-à-vis pristinamycin, erythromycin and clindamycin with respective rates of 7.14%, 42.86% and 14.29%. Finally, *S.aureus* strains have no resistance to glycopeptides as well as to the rifamycin family.

**Keywords:** Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*, multidrug, ESBL, MRSA, Algiers