



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature
et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

Référence /

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :
IKHLEF Lamia

Le : jeudi 28 juin 2018

Résistance aux antibiotiques de trois souches bactériennes isolées au laboratoire de l'hôpital de Hakim Saadanne (Biskra, Algérie).

Jury :

| | | | | |
|-------|-------------------|-----|----------------------|--------------|
| M. | HABAL Hakim | MAA | Université de Biskra | Président |
| Dr. | MOUSSI Abdelhamid | MCA | Université de Biskra | Rapporteur |
| Mlle. | CHOUIA Amel | MAA | Université de Biskra | Examinatrice |

Année universitaire : 2017 – 2018

Remerciements

Au terme de ce travail du mémoire de master, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements à «Allah» Le tout puissant de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Nos sincères remerciements vont également:

A notre encadreur M. MOUSSI Abd Elhamid, qui vous nous avez guidés tout au long de notre travail en nous apportant vos précieux et pertinents conseils.

A Tous nos professeurs de l'option Microbiologie qui ont contribué à notre formation. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

A Tout le personnel du laboratoire de Microbiologie de l'hôpital Hakim Saadan Biskra, Nous sommes reconnaissants de l'aide apportée tout au long de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de nos sentiments les plus distingués à Dr. KHLIL, Dr. GHOUIL et la laborantine Melle AOUASSI Sabrina. Merci pour votre soutien et votre sympathie.

Merci à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce travail, et que je ne peux citer individuellement

Dédicace

Ce travail est dédié:

A ceux qui m'ont appris le respect et le sens du devoir;

Ceux qui ne cessent de se sacrifier pour mon bien être;

Ceux qui m'ont protégé,

A mes chers parents.

A mes frères et mes sœurs

A mes belles- soeurs.

A mes nouveaux : Abd Elrahman, Alaa Elrahman, Meriem, Anas,

Belkis, Taha Amine, Youcef, Fares, Silin

A mes chères amies: Saida, Nawel, Safa, Donia, Chorouk, Samiha, Basma, khawla,

Amina, Asma, Adilla, Chaima, Kanza, Sara, Soumia, et kamilia.

A mes collègues de la promotion 2017/2018 particulièrement

Ceux de la spécialité « Microbiologie Appliqué ».

Lamia

Table des matières

Sommaire

| | |
|--|-----|
| Remerciements | I |
| Dédicace | II |
| Table Des Matière..... | III |
| Liste des Tableaux | IV |
| Liste des Figures | V |
| Liste des abréviations..... | VI |
| Introduction générale..... | 1 |
| Chapitre 1: Généralité sur les souches étudiées..... | 2 |
| 1. Escherichia coli | 3 |
| 1.1. Caractère général..... | 2 |
| 1.2. Caractère bactériologie..... | 2 |
| 1.3. Pouvoir pathogène..... | 2 |
| 2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 4 |
| 2.1. Caractère bactériologique..... | 3 |
| 2.2. Caractère biochimique..... | 3 |
| 2.3. Pouvoir pathogène..... | 3 |
| 3. <i>Staphylococcus aureus</i> | 4 |
| 3.1. Caractère générale..... | 3 |
| 3.2. Caractère morphologique et biochimique | 3 |
| 3.3. Pouvoir pathogène..... | 4 |
| 3.4. Mode de transmission | 4 |
| Chapitre 2: Les Antibiotiques..... | 5 |
| 1. Historique..... | 3 |
| 2. Définition | 6 |
| 3. Critères de classification des antibiotiques..... | 6 |

| | |
|--|----|
| 3.1. La classification des antibiotiques..... | 5 |
| 4. Mode d'action des antibiotiques | 7 |
| 5. Classification Les antibiotiques | 8 |
| 5.1. Les β -lactamines..... | 7 |
| 5.2. Glycopeptides..... | 8 |
| 5.3. Aminosides..... | 8 |
| 5.4. Macrolides..... | 8 |
| 5.5. Quinolones..... | 8 |
| Chapitre 3: La résistance bactérienne | 9 |
| 1.Définition de la résistance..... | 10 |
| 2.Origine génétique de la résistance | 10 |
| 2.1. Résistance naturelle ou intrinsèque..... | 9 |
| 2.2. Résistance acquise..... | 9 |
| 2.2.1. Mutation chromosomique spontanée..... | 9 |
| 2.2.2. Acquisition de gène par autre micro-organismes..... | 10 |
| 3. Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques | 11 |
| Chapitre 4 Matériels et Méthodes..... | 12 |
| ✓ Partir pratique (Analyse) | 12 |
| ✓ Etude rétrospective..... | 12 |
| 1. Type d'étude | 14 |
| 2. Recueil des données | 14 |
| 3. Analyse des données..... | 14 |
| II. Méthodes..... | 13 |
| 1. Type des prélèvements | 14 |
| 2. Technique d'ensemencement..... | 15 |
| 3. Isolement et purification | 16 |
| 4. Identification des Souches | 16 |
| 5. Antibiogramme | 20 |
| Chapitre 5: Résultat et discussion..... | 21 |
| Identification les souches isolée..... | 22 |

| | |
|--|----|
| 1. En cas <i>Escherichia coli</i> | 22 |
| 2. En cas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 25 |
| 3. En cas <i>Staphylococcus aureus</i> | 26 |
| I. Résultat de la résistance bactérienne chez les souches isolées..... | 31 |
| 1. En cas <i>Escherichia coli</i> | 31 |
| 2. En cas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 32 |
| 3. En cas <i>Staphylococcus aureus</i> | 32 |
| B. prospective..... | 34 |
| 1. Taux d'incidence selon la nature des prélèvements..... | 34 |
| 3. Taux d'incidence selon les services..... | 35 |
| 4. Taux d'incidence selon Sexe..... | 36 |
| 5. Taux d'incidence selon l'Age..... | 37 |
| 6. La résistance bactérienne chez les souches isolées..... | 38 |
| 6.1. La résistance bactérienne <i>Escherichia coli</i> | 37 |
| 6.2. La résistance bactérienne <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 40 |
| 6.3. La résistance bactérienne <i>Staphylococcus aureus</i> | 42 |
| Conclusion..... | 44 |
| Bibliographie..... | 46 |
| Annexes..... | |
| Résumé..... | |

Liste des Tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1: La classification des antibiotiques bactériostatiques et bactéricides | 7 |
| Tableau 2: Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques..... | 11 |
| Tableau 3: les réactif ajoutés dans Galerie API20E | 24 |
| Tableau 4: les tests biochimiques classiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 28 |
| Tableau 5: profile de la résistance bactérienne chez <i>E.coli</i> | 31 |
| Tableau 6: Répartition les souches selon la nature des prélèvements..... | 34 |
| Tableau 7: Répartition selon les germes identifiés..... | 35 |
| Tableau 8: Répartition des souches positives selon les services..... | 36 |
| Tableau 9: Répartition des patients selon le sexe..... | 36 |
| Tableau 10: Répartition selon l'Age..... | 37 |
| Tableau 11: profil de la résistance et la aux antibiotiques <i>d'E. coli</i> | 38 |
| Tableau 12: profile de la résistance de <i>P.aeruginosa</i> | 40 |
| Tableau 13: profile de la résistance bactérienne <i>S.aureus</i> | 42 |

Liste des Figures

| | |
|---|----|
| Figure 1. Mode d'action des antibiotiques | 8 |
| Figure 2. Mode de remplissage sur API20E..... | 19 |
| Figure 3. Tableau de lecture et l'identification | 20 |
| Figure 4. Colonies d' <i>Escherichia coli</i> sur gélose de G N..... | 22 |
| Figure 5. Observation microscope d' <i>E.coli</i> après la coloration du Gram G× 100..... | 22 |
| Figure 6. Catalase positif d' <i>Escherichia coli</i> | 23 |
| Figure 7. Oxydase négatif d' <i>Escherichia coli</i> | 23 |
| Figure 8. les résultats obtenus grâce API20E..... | 24 |
| Figure 9. les résultats obtenus grâce au logiciel | 25 |
| Figure 10. Les colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur gélose de Hektoen | 26 |
| Figure 11. Observation microscopique de <i>P.aeruginosa</i> G× 100..... | 26 |
| Figure 13. Oxydase positif de <i>P. aeruginosa</i> | 27 |
| Figure 12. Catalase positif de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 27 |
| Figure 14. Colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur gélose de Chapman | 28 |
| Figure 16. Catalase positif de <i>S. aureus</i> | 29 |
| Figure 15. Observation microscope de <i>S.aureus</i> G× 100..... | 29 |
| Figure 17. Oxydase négatif de <i>S.aureus</i> | 30 |
| Figure 18 : Test Coagulase de <i>S. aureus</i> | 30 |
| Figure 19: Profile de la résistance chez <i>E.coli</i> | 31 |
| Figure 20. profile de la résistance <i>P.aeruginosa</i> | 32 |
| Figure 21. profile de la résistance chez <i>S. aureus</i> | 33 |
| Figure 22. Répartition les souches isolées selon la nature des prélèvements | 34 |
| Figure 23: Répartition selon les germes identifiés..... | 35 |
| Figure 24: Répartition des souches positives selon les services..... | 36 |
| Figure 25: Répartition des patients selon le sexe..... | 37 |
| Figure 26: Répartition selon l'Ag..... | 37 |
| Figure 27: profile de la résistance aux antibiotiques d' <i>Escherichia coli</i> | 38 |
| Figure 28. profile de la résistance de <i>P.aeruginosa</i> | 40 |
| Figure 29: profile de la résistance bactérienne <i>S.aureus</i> | 42 |

Liste des abréviations

AMC : Amoxicilline +Ac.clavulanique
AMI : AMINOSIDES
AMK : Amikacine
AMP : Ampicilline
ATB : Antibiogramme, : L'antibiotique
BGN : bacille gram négative
CAZ : Céftazidime
CLI : Clindamycine
COL ; Colistine
CTX : Céfotaxime
CYC : CYCLINES
CZO : Céfazoline
ECAD : *Escherichia coli* adhésion diffuse
ECBU : Examen cytbactériologique des urines
ECEA : *Escherichia coli* entéro-aggrégatifs
ECEAgg : *Escherichia coli* entéro-aggrégatifs Voir
ECEH : *Escherichia coli* entérohémorragiques
ECEI : *Escherichia coli* entéroinvasifs
ECEP : *Escherichia coli* entéropathogènes
ECET : *Escherichia coli* entérotoxinogènes
EPH : l'établissement public hospitalier
ERY : Erythromycine
FOX : Céfoxitine
GEN : Gentamicine
GN : Gélose de Nutritive
I : Intermédiaire
IPM : Impénème
MAC : MACROLIDES
ORL : oto-rhino-laryngologie
OXA : Oxacilline
P : Pseudomonas.
PEN : Pénicilline

PIP : Pipéracillin

POL : POLYPEPTIDES

POLY : POLYPEPTIDES

PRI : Pristinamycine

QUI : QUINOLONES

R : : Résistant

S : Sensible

STEC : Shiga-toxines *Escherichia coli*

TCC : Ticarcikline + Ac.clavulanique

TCY : Tétracycline

TEC : Teicoplanine

TIC : Ticarcilline

TOB : Tobromycine

VAN : Vancomycine

VTEC : *Escherichia coli* vérotoxines

Introduction

Introduction générale

Les maladies infectieuses sont causées par des microorganismes pathogènes, tels que les bactéries, les virus, les parasites ou les champignons. Ces maladies peuvent se transmettre, directement ou indirectement, d'une personne à l'autre.

Le changement permanent des résistances d'entérobactéries fermente et non fermente et Staphylocoque aux différents antibiotiques doit conduire à renforcer la surveillance et organiser des contrôles périodiques dans notre pays, afin de maîtriser toutes sortes d'anomalies.

La résistance aux antimicrobiens survient lorsqu'un micro-organisme (bactérie, virus, champignon ou parasite) subit des modifications de telle sorte que les médicaments utilisés pour soigner l'infection qu'il provoque deviennent inefficaces. Lorsqu'un micro-organisme devient résistant à la plupart des antimicrobiens, il est souvent qualifié d'«ultra-résistant». C'est une situation très préoccupante car une infection résistante peut être mortelle, se propager et coûter très cher aux individus et à la société.

La résistance aux antimicrobiens est un terme général qui désigne la résistance des différents types de micro-organismes et couvre aussi la résistance aux médicaments antibactériens, antiviraux, antiparasitaires et antifongiques.

Les antibiotiques sont des médicaments utilisés pour traiter et prévenir les infections bactériennes. La résistance survient lorsque les bactéries évoluent en réponse à l'utilisation de ces médicaments.

Ce sont les bactéries, et non les êtres humains ou les animaux, qui deviennent résistantes. Elles peuvent alors provoquer chez l'homme ou l'animal des infections plus difficiles à traiter que celles dues à des bactéries non résistantes.

La résistance aux antibiotiques entraîne une augmentation des dépenses médicales, une prolongation des hospitalisations et une hausse de la mortalité.

Depuis le début des années 60, nous assistons à une augmentation du nombre de bactéries résistantes aux antibiotiques, surtout en milieu hospitalier, et à l'émergence de nouvelles résistances. Il s'agit d'un problème de santé publique extrêmement préoccupant, qui affecte de nombreux pays, bien que les souches résistantes soient souvent différentes d'un pays à l'autre. Elle peut toucher toute personne, à n'importe quel âge et dans n'importe quel pays.

L'objectif de ce notre travail sont :

- Isolement et identification des souches de *Pseudomonas aeruginosa* ; *Staphylococcus aureus* ; *Escherichia coli*, au niveau du laboratoire d'analyse bactériologique.
- Détermination de la sensibilité et de la résistance aux antibiotiques des souches isolées et comparée leur résistance avec celle des souches de référence.
- Etude comparative de la résistance aux antibiotiques des souches isolées des patients hospitalisés et des patients externes dans l'hôpital Hkim Saadan.

Partie bibliographique

Chapitre I

Généralité sur les souches études

Les bacilles à Gram négatif, fréquemment isolés de laboratoires de bactériologie, occupent une place importante en pathologie humaine. Généralement, on les divise en deux grands groupes : les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires (Liassine, 2000).

Les cocci Gram positif occupent en pathologie humaine une place importante par leur nombre et la gravité des infections qu'ils provoquent. Ce sont des espèces bactériennes constituées par des cellules de forme arrondie (cocci ou coques) immobiles, à Gram positif, aérobies anaérobies facultatives, dont l'importance médicale est très grande.

1. *Escherichia coli*

1.1. Caractère général

Escherichia coli appelée aussi colibacille, est une bactérie en forme de bâtonnet, présente de façon naturelle dans le tube digestif de l'être humain et de nombreux animaux. Le genre *Escherichia* comprend plusieurs espèces, *E.coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique. La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau et /ou les aliments témoigne d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent (Avril J.L., 2000).

1.2. Caractères bactériologie et biochimique

Escherichia coli appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles à coloration Gram négatif, mobiles par flagelles péritriches ou immobiles, non sporulés, aérobies ou anaérobies facultatifs, *E.coli* possède une catalase mais est dépourvu d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de fermentation des réalisées à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries (Lobril J., 1998).

1.3. Pouvoir pathogène

Les *E. coli* pathogènes sont affectés à six groupes, basés sur mécanismes communs pathogénicité et les syndromes cliniques: *E.coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) ou *E.coli* producteurs de vérotoxines(VTEC), *E.coli* entérohémorragiques (ECEH), *E.coli* entérotoxigènes (ECET), *E. coli* entéroinvasifs (ECEI), *E.coli* entéropathogènes (ECEP), *E. coli* entéro-aggrégatifs (ECEA ou ECEAgg) et Les *E.coli* adhésion diffuse (ECAD). (Johnson et al., 2005).

2. *Pseudomonas aeruginosa*

2.1. Caractères bactériologie

Pseudomonas aeruginosa est une espèce bactérienne ubiquitaire, comme toutes les espèces du genre *Pseudomonas*. Ces bactéries ont des exigences nutritives peu importantes et sont capables de survivre dans l'environnement (eaux, surface, air, aliments) et particulièrement en milieu humide (Lister et *al.*, 2009).

Ce sont des bacilles fins à Gram négative de taille 0.5x3µm, non capsulés, mobiles, son extrême mobilité est dû à une ciliature polaire en général monotriche, il possède souvent des granulations plus fortement colorées (Hafiane et Ravaoarinoro., 2008).

2.2. Caractères biochimiques

P.aeruginosa n'est pas capable de fermenter les sucres mais peut les attaquer le glucose en particulier par voie oxydative, entraînant une acidification du milieu. Comme la plupart des *Pseudomonas*, *P.aeruginosa* possède une oxydase.

D'autres caractères sont utiles pour le diagnostic d'espèce :

Idole(-), TDA(-), H₂S(-), gélatine(+). ONPG(-), Nitrate(-), réductase(+), LDC(-), ODC (-).

2.3. Pouvoir pathogène chez l'homme

P.aeruginosa est une espèce classée dans les pathogènes opportunistes. Les infections pourront avoir une origine endogène ou exogène (Henri Leclerc, 2002). C'est un agent pathogène opportuniste essentiellement responsable d'infections nosocomiales.

3. *Staphylococcus aureus*

3.1. Caractère général

Le staphylocoque est un nom dérivé du mot grec groupe «Staphyle», sens de raisins (Shimeld, 1999).

Le nom d'espèce (*aureus* signifie « ore ») vient du fait que, sur gélose, les colonies de *S. aureus* sont pigmentées (couleur dorée) alors les autres espèces forment des colonies blanches (Schachter et *al.*, 1999).

3.2. Caractères morphologiques et biochimiques

Staphylococcus aureus est une bactérie cocci à Gram positif de taille entre 0,5-1,5 µm séparément disposé par paires, des chaînes courtes, ou le plus souvent en grappes de forme irrégulière (Shimeld, 1999), catalase positif, coagulase positif, et DNS positif aéro-

anaérobies, toutes les souches fermentent le glucose et quelques-uns sont capables de produire des entérotoxines (Huss, 1988), immobile, non sporulé, sans capsule, colonies lisses, luisantes bombées, jaunes (Baudry et Brezillec, 2006), halophile, mésophile avec une température optimale de croissance: 37C°. La température minimale de croissance est une température de psychrophiles et comprise entre 6 et 12 C°. La production des toxines a lieu entre 10 et 48C°. Ce germe est neutrophile de pH optimal de croissance 7 et pH minimum de croissance 4 (CARIP, 2008).

3.3.Pouvoir pathogène

S. aureus est très fréquent à l'état commensal et pathogène. En effet, très rapidement après la naissance, il colonise la peau, le tube digestif et la région périnéale des nouveaux nés. Il est également très présent au niveau des fosses nasales et des mains.

Mais il peut devenir pathogène et être responsable d'infections cutanées: abcès, et de certaines infections d'oto-rhino-laryngologie (ORL): angines, otites, sinusites...etc. En milieu hospitalier, il est impliqué dans les infections nosocomiales, pouvant être graves. *S.aureus* peut aussi être responsable d'intoxications alimentaires.

3.4.Mode de transmission

S. aureus est transmis essentiellement par les mains ou par voie oro-pharyngée, peut ainsi diffuser son mode épidémique dans les maternités, les écoles...etc. Pouvant également survivre dans le milieu extérieur, il peut être retrouvé sur la literie, dans le matériel médical à l'hôpital, ce qui amplifie les phénomènes de transmission interhumaine, favorisée par l'existence de porte d'entrée cutanée (toxicomanie intraveineuse, hémodialyse...) ou maladies chroniques comme le diabète, immuno-suppression, obésité, eczéma... (BESSIS, 2008).

Chapitre 2

Les antibiotiques

1. Historique

A l'origine, le mot antibiotique désigne tout le terme d'antibiose créé par VUILLEMIN (France) en 1889 rend compte de ce phénomène et l'idée de l'utiliser pour lutter contre les maladies bactériennes. En 1928, FLEMING (Grande Bretagne) constate que les *staphylocoques* ensemencés sur une gélose nutritive ne se sont pas développés à proximité d'une moisissure de type *Penicillium*, il émet l'hypothèse que le *Penicillium* secrète une substance qui tue ou inhibe le développement des *staphylocoques*. La pénicilline fut le premier antibiotique utilisé à partir de 1942, par la suite, on a isolé beaucoup d'autres (Pechere, 1991).

2. Définition

Produit microbien qui mené à de très faibles concentrations inhibe ou tue certains micro-organismes (Almi et al., 2006). L'antibiotique(ATB) est une substance chimique produit par les micro-organismes inférieurs (champignons ou bactéries) qui est capable de détruire ou d'empêcher la croissance d'autres micro-organismes (Belkadi, 2012).

3. Critères de classification des antibiotiques

3.1.La classification des antibiotiques:

Peut se faire selon

1. Leur origine: élaborée par un organisme (naturel) ou produit par synthèse.
2. Mode d'action: il agit sur la paroi, la membrane cytoplasmique, la synthèse des protéines ou la synthèse des acides nucléiques.
3. Spectre d'activité: liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).
4. Nature chimique: très variable, elle est basée souvent sur une structure de base sur laquelle il y a hémisynthèse) (Mohammedi, 2010).

La classification des antibiotiques est basée sur leur modalité d'action antibiotique bactériostatique ou bactéricide (Bambeke Van et al, 2007- 2008).

Tableau 1: La classification des antibiotiques bactériostatiques et bactéricides

| Classes d' antibiotiques à action | |
|--|---|
| Bactériostatique | Bactéricide |
| Macrolides, Sulfamidés, Tétracyclines, Lincosamides, Nitrofuranes, Phénicolés, Ethambutol, Cyclosérine, | β -lactames, Fluoroquinolones, Aminoglycosides, Nitroimidazoles Glycopeptides, Polymyxines, Synergistines, Ansamycines , Acide fusidide , Isoniazide, Pyrazinamide, |

4. Mode d'action des antibiotiques

L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique.

Les quatre cibles principales sont :

- La paroi : inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (bêtalactamines, glycopeptides, fosfomycine) (Talbert, et *al.*, 2009).

La pénicilline et les antibiotiques chimiquement apparentés empêchent la réaction de transpeptidation qui est une étape importante dans l'assemblage du peptidoglycane, le polymère de la paroi cellulaire. Ceci entraîne la fragilisation de la paroi cellulaire, notamment chez les micro-organismes Gram positif.

- La membrane cytoplasmique: inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines), (Talbert, et *al.*, 2009).
- Le chromosome : inhibition de la synthèse de l'ADN (Talbert, et *al.*, 2009).

➤ Les quinolones inhibent l'ADN gyrase et interfèrent ainsi avec la réplication, la réparation et la transcription de l'ADN (Prescott et *al.*, 2007).

➤ Le ribosome : inhibition de la synthèse protéique (cyclines, aminosides, macrolides) (Talbert et *al.*, 2009). Les antibiotiques antibactériens que inhibent la synthèse protéique, le font par fixation au ribosome bactérien (Perry et *al.*, 2002).

Les antibiotiques les plus sélectifs sont ceux qui interfèrent avec la synthèse des parois bactériennes (les pénicillines, les céphalosporines, la vancomycine et la bacitracine). Ces produits ont un indice thérapeutique élevé parce que les parois bactériennes possèdent une structure unique inexistante dans les cellules eucaryotes (Prescott et *al.*, 2007).

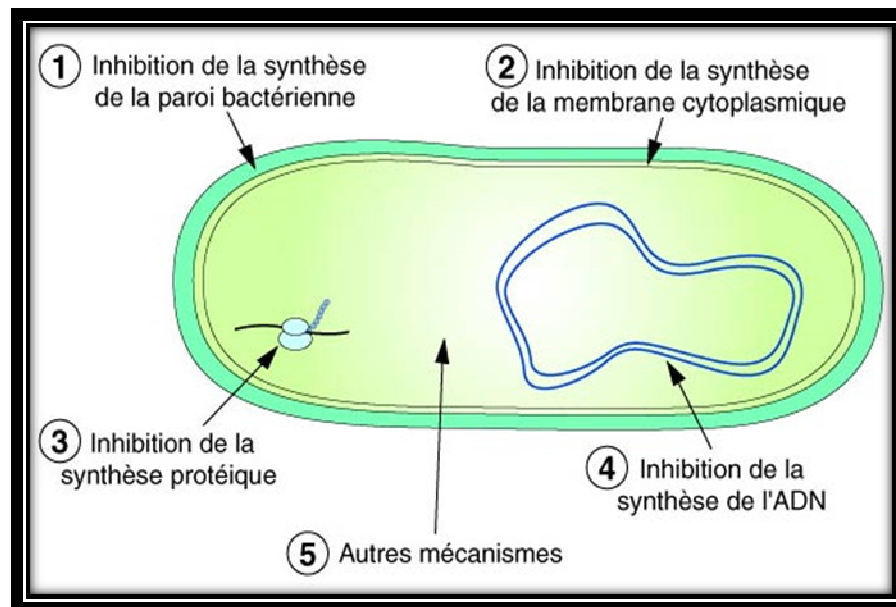


Figure 1: Mode d'action des antibiotiques

5. Classification Les antibiotiques (Annexe 1)

5.1. Les β -lactamines

Le noyau de base est le cycle β -lactame, Les antibiotiques de cette famille sont bactéricides. Ils se répartissent en trois groupes:

- Groupe I : il comporte le cycle β lactame et un cyclethiazoline (ex : spectre étroits peni M et peni V),
- Groupe II : il comporte un cycle lactame et un cycledihydrothiazine (ex : spectres larges penicilline A),

• Groupe III : il comporte un noyau limité au cycle β lactame (ex : céphalosporines, etc....) .En plus de ces trois groupes, il existe des inhibiteurs de β lactamases tels que Augmentin composé d'amoxicilline et d'acide clavulanique et qui agit sur les bactéries productrices de pénicillinase (Mouy D et *al.*, 1997).

5.2.Glycopeptides :

Les antibiotiques importants que renferme cette famille sont la Vancomycine et Teicoplanine. Ces deux molécules n'agissent que sur les bactéries à Gram positif en inhibant la synthèse du peptidoglycane et donc la croissance des bactéries (Mouton et *al.* , 2000) .

5.3.Aminosides

Leur structure est à base de sucres aminés. Les principales molécules sont : Streptomycine, Gentamicine, Netilmicine, Tobramycine, Amikacine. Est un antibiotique bactéricide. Ils se fixent de façon irréversible sur le ribosome des bactéries et inhibent la traduction en provoquant des erreurs de lecture de l'ARN messager (Archambaud. M, 2009).

5.4. Macrolides

Les antibiotiques macrolides sont caractérisés par le cycle lactone relié aux molécules de sucres. Il y a une grande variété d'antibiotiques macrolides, le plus connu est l'érythromycine. Il est un inhibiteur de synthèse de protéine au niveau de la sous-unité 50S du ribosome (bactériostatiques) (Madigan. M et Martinko. J, 2007).

5.5.Quinolones

Les quinolones sont des agents antibactériens obtenus par synthèse chimiques, dérivent de l'acide nalidixique (Page et *al.*, 1999).

Les quinolones de première génération, dont le représentant est l'acide nalidixique, n'agissent que sur les bacilles à Gram négatif et ne sont utilisées que dans le traitement des infections urinaires (Perronne, 1999). Actuellement de nouveaux composés de cette même famille d'antibiotiques ont été mis au point, dont certains additionnés d'un atome de fluor (norfloxacine, péfloxacine, ciprofloxacine, ofloxacine...), possèdent une activité plus étendue et sont indiqués dans le traitement des infections systémiques et tissulaires à bacilles à Gram négatif et à cocci à Gram positif (Nordmann, 2006).

Chapitre 3

La résistance bactérienne

1. Définition de la résistance

La résistance aux antimicrobiens « résistance bactérienne aux antibiotiques », selon la définition microbiologique, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. (Guardabassi et Courvalin, 2006)

2. Origine génétique de la résistance

La résistance bactérienne à un ATB est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans élément mobile, comme les plasmides, la résistance peut être soit naturelle, soit acquise (Mandall GL, Lewis R. 2009)

2.1. Résistance naturelle ou intrinsèque :

Les gènes font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'ATB afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible ou encore son absence pour l'ATB, par exemple, la résistance des entérobactéries et *Pseudomonaceae* aux macrolides ou des bactéries à gram négatif à la vancomycine est naturelle (Mandall GL, Yamashita SK., 2009)

2.2. Résistance acquise

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un ATB préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gène par autre micro-organismes (Mandall GL, Yamashita SK., 2009)

2.2.1. Mutation chromosomique spontanée (évolution verticale)

La mutation chromosomique spontanée constitue de résistance aux l'ATB chez environ 10 à 20% des bactéries. Les gènes de résistance se situent alors dans chromosomes de la bactérie. Une mutation n'affecte qu'un caractère, et la résistance ne concerne généralement qu'un ATB ou qu'une famille d'ATB ayant le mécanisme d'action (Mandall GL, Yamashita SK., 2009).

2.2.2. Acquisition de gène par autre micro-organismes (évolution horizontale)

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés en clinique et s'observe aussi bien chez les bactéries à gram positif qu'à gram négatif. L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'élément mobile.

3. Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Il existe quatre mécanismes principaux de la résistance bactérienne aux antibiotiques par lesquels les micro-organismes.

Tableau 2: Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques

| Antibiotiques | Mécanismes de la résistance |
|--------------------------|---|
| Bétilactamines | <ul style="list-style-type: none"> -Modification de la cible (Penicillin Binding Protein) -Altération du système d'efflux -Hydrolyse du cycle bétilactame -Système d'efflux actif |
| Tétracyclines | <ul style="list-style-type: none"> -Protection du ribosome -Altération du système d'efflux -Inactivation par une enzyme oxygène tétracycline dépendante -Système d'efflux actif |
| Chloramphénicol | <ul style="list-style-type: none"> -Altération du système d'efflux -Inactivation par des acétyl-transférases -Système d'efflux actif |
| Macrolides, Lincosamides | <ul style="list-style-type: none"> -Activation d'une méthylase modifiant le site d'action ribosomal -Mutation modifiant le site d'action ribosomal -Système d'efflux actif -Dégradation enzymatique de l'antibiotique |
| Aminoglycosides | <ul style="list-style-type: none"> -Mutation modifiant les sites d'action du ribosome -Modification enzymatique de l'ARNr 16S -Altération du système d'efflux -Dégradation enzymatique de l'antibiotique |
| Fluoroquinolones | <ul style="list-style-type: none"> -Mutation modifiant le site d'action sur la |

| | |
|---------------------------|---|
| | topoisomérase -Altération du système d'efflux -Système d'efflux actif |
| Glycopeptides | -Modification de la cible dans la structure de la paroi bactérienne -Séquestration de l'antibiotique dans la paroi bactérienne |
| Sulfamides, Triméthoprime | -Surproduction de la cible de l'antibiotique -Modification du métabolisme |

Partie expérimentale

Chapitre 4

Matériel et méthodes

Cette étude est basée sur deux volets ou deux parties :

✓ **Partie Pratique (Analyse) :**

Nous avons réalisé un stage de 15 jours dans l'établissement public hospitalier (EPH) Hakim Saadane à Biskra et nous avons reçu les conseils et l'encadrement de l'équipe de laboratoire de l'hôpital où nous avons géré un travail méthodique bien organisé:

Depuis le prélèvement, l'ensemencement, isolement, purification, identification biochimique et enfin le test d'antibiogramme.

Dans cette partie nous avons réalisé une comparaison de la résistance entre les souches de références et les souches isolées à partir du l'hôpital pour trois espèces : *E.coli*, *S.aureus* et *P. aeruginosa*. Au début nous avons pris trois souches de références: *E.coli* ATTC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *P.aeruginosa* ATCC 27853. Et puis nous avons pris trois souches isolées des patients de l'hôpital pour chaque espèce.

✓ **Etude rétrospective**

Dans cette étude, nous cherchons à évaluer la fréquence ou le taux d'incidence des *E.coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus* dans l'hôpital Hakim-Saadane de Biskra pendant l'année 2017 pour estimer la prévalence des souches et leurs répartitions selon des différents prélèvements, les services, l'âge, le sexe, le profil de la résistance et la sensibilité aux antibiotiques.

Au cours de notre étude de ces données collectés, nous avons effectué une analyse par les outils du programme Excel, qui est à la fois un langage informatique et statistique. Ce logiciel est extrêmement puissant et leurs caractères libres faits que de nombreux utilisateurs s'investissent pour les améliorer et les enrichir en permanence.

L'étude statistique des données a été effectuée pour l'année 2017. Elle porte sur l'analyse les critères suivants:

La prévalence des souches E.coli, P.aeruginosa et S.aureus selon le sexe.

La prévalence des souches E.coli, P.aeruginos et S.aureus selon lesservices.

La prévalence des souches E.coli, P.aeruginosa et S. aureus selon l'âge.

La résistance et la sensibilité des E.coli, P.aeruginosa et S.aureus aux antibiotiques.

1. Type d'étude

Notre étude est rétrospective sur dossiers ou sur les cas d'isolement des souches dans différents prélèvement et enregistrées dans registres et archivés.

2. Recueil des données

Les données sont recueillies à partir des registres de laboratoire de bactériologie. Ces résultats comportaient, le sexe, l'âge, la date d'isolement, le germe identifié, la nature de prélèvement, le service d'hospitalisation du patient, ainsi que le profil de sensibilité vis-à-vis les antibiotiques testés.

3. Analyse des données

Le traitement et analyse descriptive des données a été faite à l'aide de Microsoft Excel 2007.

I. Matériel utilisé

Nous avons travaillé avec plusieurs outils comme: Microscope optique; Bec bunsen; Etuve; Boîtes de pétri; Ecouvillons stériles; Tubes; Pince bactériologique; Pipette pasteur ; Portoirs; Lame et lamelle; Anse de platine; Pied de coulis; Cellule de neagett. Api20E (Annexe 5).

II. Méthodes

Le déroulement de chaque examen se décompose en un certain nombre d'étapes, ces étapes est différentes selon la nature du prélèvement, et chacune d'entre elles doit apporter au diagnostic des éléments qui seront pris en compte pour l'élaboration du résultat final.

1. Type des prélèvements

1.1. Examen cyto bactériologique des urines

Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) est l'examen microbiologique le plus demandé car il permet le diagnostic de certitude d'une infection urinaire, isolée les microorganismes responsables (bactéries ou levures) et permet enfin de déterminer la sensibilité d'une ou des bactéries isolées aux antibiotique par le test d'Antibiogramme.

La chimie des urines est un test d'orientation réalisé par bandelette réactives qui permet une détection rapide des changements de multiples paramètres biologiques facilitant le diagnostic.

Après avoir homogénéiser l'urine par retournement du tube, on note son aspect (trouble, légèrement trouble et clair) et sa couleur (jaune citron, ambrée, ictérique, hématique (éventuelle hématurie ou colorée par des médicaments).

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon, une goutte d'urine est déposée au centre d'un La cellule de Nageotte bien propre, puis recouverte d'une lamelle.

L'observation microscopique est immédiat à l'objectif x 40, permet d'observation tous les éléments dans les urines (leucocytes, hématies, cellules épithéliales, cylindres, cristaux)

1.2. Prélèvement des pus

Garantir la qualité du prélèvement bactériologique et la sécurité de la personne soignée et des professionnels en charge du prélèvement, de leur transport et de leur analyse dans le cadre des prélèvements de pus, des collections fermées, de biopsie ou pièces opératoires. Le prélèvement de pus est effectué par écouvillonnage pour les infections superficielles et par ponction à l'aide d'une seringue pour les infections profondes.

1.3. Prélèvements des hémocultures

- Désinfecter les mains et porter des gants stériles.
- Prélever le sang au moment des pics fébriles ou des frissons.
- Désinfecter la veine du centre vers la périphérie à l'alcool iodé à 2% ou à la Bétadine ou encore, en cas d'allergie à l'iode, désinfecter à l'alcool 70° (de fois de suite).
 - Désinfecter (à la Bétadine) le bouchon du flacon d'hémoculture
 - Utiliser un dispositif adapté pour effectuer simultanément un prélèvement du sang en anaérobiose et un prélèvement en aérobiose.
 - Utiliser une seringue de 20 ml. Ce volume sera réparti dans 2 flacons en veillant à ne pas introduire de l'air dans le flacon « anaérobie »
 - Répartir 10 ml de sang par flacon chez l'adulte. 5 ml par flacon chez l'enfant, 1ml par flacon chez le nourrisson. Homogénéiser les flacons et les incuber à 37°C. (Bouguessa et *al.*, 2010).

2. Technique d'ensemencement

2.1. Méthode de référence : Méthode de KASS Modifiée

Réaliser des dilutions sérielles 10 ml de l'uriner étude. 0,1 ml d'urine mélangée est diluée dans 0.9 ml d'eau distillée stérile à l'aide d'une pipette à 0,1 ml; puis 0,1 ml de cette dilution est ensuite aussitôt étalée sur une gélose nutritive avec un râteau préalablement stérilisé.

2.2. Méthode a l'anse calibrée

C'une anse métallique calibrée à 10 μ l, elle est utilisée pour ensemer les géloses et sélectives (Chapman, Hektorine, gélose de sang cuis, gélose de sang frais). On prélève verticalement avec l'anse calibrée capillarité une goutte d'urine que l'on enseme par stries sur la boîte de gélose: une strie centrale est ensemencée puis perpendiculairement réaliser un isolement de haut en bas de la boîte en desserrant légèrement les dernières stries, elle consiste à mettre les boîtes ensemencées dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

2.3. Autre Méthode

On dépose une goutte de pus ou sang sur la surface de la gélose à ensemer ou bien on frotte l'embout de l'écouvillon (qui peut être imbibé avec un bouillon nutritif), sur une partie de la surface de cette gélose. Avec une pipette fermée, on effectue un épuisement en stries.

3. Isolement et purification

Après une lecture morphologique, les différentes colonies obtenues sont ré-isolées sur le même milieu afin d'obtenir de souches pures.

4. Identification des Souches

4.1. Examen macroscopique

Après incubation à 37 pendant 18 à 24 h, les caractéristiques macroscopiques des colonies d'*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, (la forme du relief, la taille, la couleur, l'aspect...etc.) sont observées à l'œil nu.

4.2.Examen microscopique

Ce test a pour but de déterminer le type de la paroi bactérienne à Gram positif ou Gram négatif après coloration de Gram (Denis et al., 2007)(vois Annexe 2) .

4.3.Identification biochimique

4.3.1.Préparation de la suspension bactérienne

Préparation de la suspension bactérienne s'effectue par le transfert en conditions aseptiques, d'une colonie bien isolée. Cette suspension sert à ensemer différents milieux de cultures en tubes ainsi de mettre en évidence les différents caractères biochimiques des souches isolées.

4.3.2. Test de Catalase

Ce test est à la base utilisé pour l'identification des bactéries à Gram positif. Quelques gouttes d'eau oxygénée sont déposées sur une lame, puis à l'aide d'une pipette pasteur, l'inoculum bactérien est rajouté. L'observation du résultat est immédiate (une libération d'oxygène gazeux si le résultat positif bull d'air).

4.3.3. Test d'Oxydase

L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes (Dellarras, 2007).

- A partir d'un milieu solide aérobie, prélever une quantité suffisante de culture et la déposer sur un disque. Ce test à la base de l'identification des bactéries Gram Négatif.

4.3.4. Test de Coagulase

Ce test consiste à rechercher la Staphylocoagulase responsable de la coagulation du plasma.

Pour cela, nous avons réalisé des cultures dans des tubes de bouillon (B.H.I.B) puis Incubé les tubes à 37°C pendant 18 heures et nous avons mélangé dans des tube à hémolyse 0,5 ml de plasma humain et 0,5 ml de la suspension bactérienne (B.H.I.B) et nous avons par suite Incubé le mélange à 37°C pendant 24 heures (Avril et *al.* 1992).

4.3.5. Test de TSI (Triple Sugar Iron)

Ce milieu est utilisé pour l'identification de quelque bacille gram négative (BGN) permet de mettre en évidence les fermentations du glucose, lactose, saccharose et la production du H₂S production de gaz.

Ensemencer par une goutte de la suspension bactérienne le culot par piqure et la pente par une ou plusieurs stries longitudinales, pour avoir une culture abondante.

Il est nécessaire d'utiliser des cultures pures prélevées à partir de colonies bien isolées, sinon les réactions croisées rendent l'identification impossible à réaliser. Puis incubation à 37°C pendant 24 heures.

4.3.6. Milieu Mannitol-mobilité

Le milieu mannitol mobilité (Annexe 2), est un milieu semi solide qui permet l'étude de la fermentation du mannitol ainsi que la mobilité de la souche (Camille D, 2006). L'ensemencement est effectué par piqure centrale à l'aide d'une pipette Pasteur fermée, suivit d'une incubation à 37°C pendant 24 heures.

4.3.7. Test d'Urée-Indole (annexe. 2)

Ce milieu permet de mettre en évidence les caractères suivants:

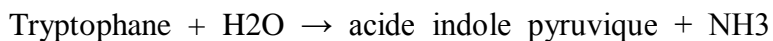
- ✓ **Recherche de l'uréase:** L'hydrolyse de l'urée par les bactéries provoque l'accumulation de carbonate d'ammonium, d'où une nette alcalinisation du milieu qui sera révélée par un virage de l'indicateur de pH le rouge de phénol à sa teinte basique rouge.
- ✓ **Recherche de la production d'indole:** La tryptophanase hydrolyse le tryptophane selon la réaction suivante:



L'indole forme un complexe coloré en rouge en présence d'un réactif : le réactif de Kovacs.

- ✓ **Recherche du tryptophane désaminase:**

La TDA dégrade le tryptophane selon la réaction suivante:



L'acide indole pyruvique forme un précipité marron foncé en présence d'un réactif: le chlorure de fer en solution acide.

Ensemencer le milieu avec quelques gouttes de suspension bactérienne et incubé pendant 24h à 37°.

Après avoir effectué la lecture, séparer le milieu urée indole en deux (prélever une partie du milieu et le transvaser dans un tube à hémolyse propre) puis réaliser les tests suivants:

Pour le 1ertube ajouter 3 gouttes du réactif de Kovacs et effectuer la lecture sans agiter le milieu.

Pour le 2éme tube ajouter 3 gouttes du réactif chlorure de fer III en solution acide et effectuer la lecture.

4.3.8. Identification par la galerie API 20E (Annexe 5),

Les galeries API 20E constituent un système standardisé d'identification d'entérobactéries et autres microorganismes à Gram négatif fermenté.

✓ **Préparation de la galerie**

mettre de l'eau distillée sur le fond de la boîte (partie alvéolée), toutes les alvéoles doivent être remplies, éliminer l'excès d'eau en renversant la boîte au dessus de l'évier. Placer la galerie sur le fond de la boîte. Elle doit être manipulée avec la pince. Recouvrir la boîte avec son couvercle.

Inscrire nom, référence souche, date et température d'incubation sur la languette latérale de la boîte.

✓ **Préparation de l'inoculum:**

1 colonie dans 5 ML.

✓ **Inoculation de la galerie**

remplir les cupules de suspension en évitant les bulles d'air.

✓ **Mode de remplissage:**

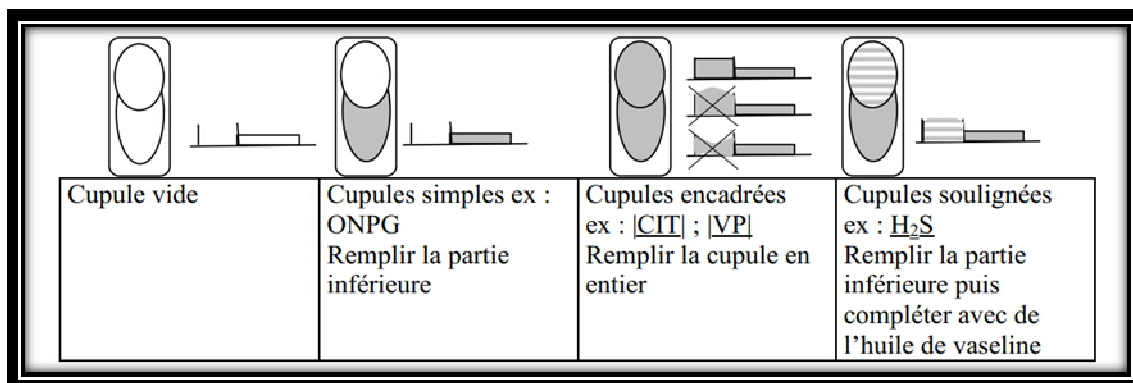


Figure 2: Mode de remplissage sur API20E

✓ **Incubation**

- La boîte d'inoculation doit être refermée et la placer dans l'étuve entre 35 à 37° C pendant 18 à 24 heures.
- Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés lors de l'addition des 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.

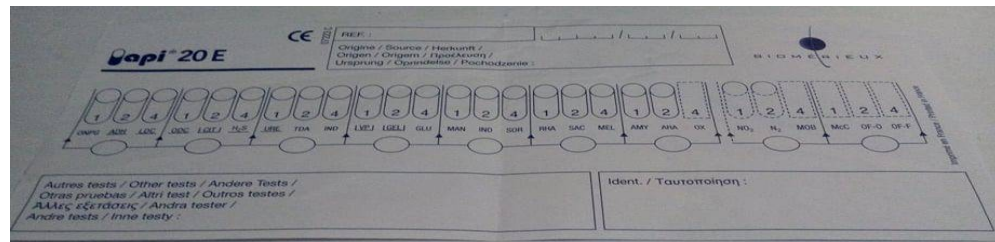


Figure 3: tableau de lecture et l'identification

5. Antibiogramme

L'antibiogramme est un test *in vitro* de sensibilité aux antibiotiques; réalisé par la méthode de diffusion en disque sur milieu gélosé (écouvillonnage) selon les recommandations du CLSI pour chaque germe isolée

➤ Milieu de culture (annexe.2)

On utilise un milieu non sélectif qui est la gélose Mueller-Hinton, couler en boite de pétri sur une épaisseur de 4mm et doivent être séchées avant emploi .

➤ Inoculum

A partir d'une culture pure de 24heures, colonies identiques de la bactérie à étudier sont prélevées puis inoculés dans 5 ml d'eau physiologique.

➤ Ensemencement

En surface par écouvillonnage (technique utilisée) ou par inondation:

Tremper un écouvillon stérile sec dans l'inoculum

Ensemencer en stries sur toute la surface de la boite à 3 reprises.

Enfin, passer l'écouvillon sur les bords de la gélose.

➤ Application des disques d'ATB (Annexe 1)

L'application des disques d'ATB grâce à des distributeurs ou à l'aide d'une pince flambée.

- Les disques d'antibiotiques sont posés sur les boîtes en appuyant légèrement pour assurer le contact avec le milieu. On peut placer au maximum six disques sur une boîte.

- Après application des disques, les boîtes sont mises à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24heures.

➤ Lecture

Après l'incubation à température optimale de croissance:

Pour chaque antibiotique, mesurer avec précision le diamètre de la zone d'inhibition avec un pied à coulisse ou une règle appliqué presque au contact de la surface de la boîte(les diamètres sont exprimés en mm).(Annexe 4)

Comparaison des résultats aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture (Annexe 4). Classement de la bactérie dans une des trois catégories :

✓S : Sensible.

✓R : Résistant.

✓I : Intermédiaire.

Résultats et discussion

A. partie d'analyse

Identification les souches isolée

1. *En cas Escherichia coli*

1.1. Examen macroscopique

Colonies de 1 à 3 mm de diamètre généralement bombées, lisses et brillantes, opaques et blanchâtres sur GN.

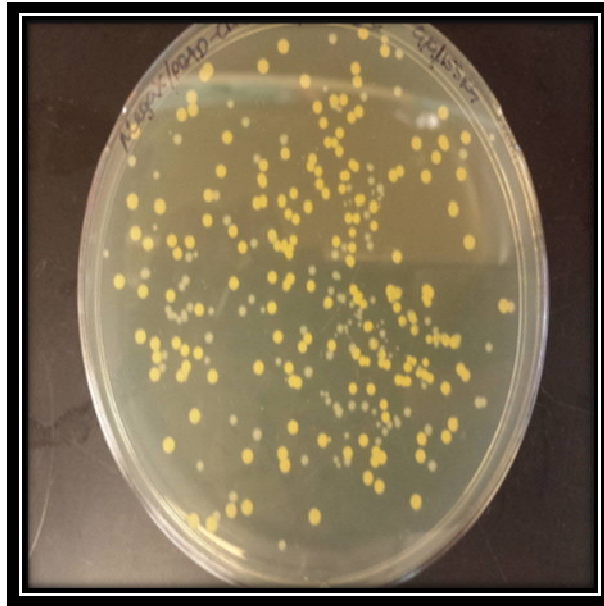


Figure 4. Colonies d'*Escherichia coli* sur gélose de G N.

1.2. Examen microscopique par coloration de Gram :

Après la coloration de Gram les souches purifiées sont apparus sous forme de bacilles à Gram négatif colorés en rose.

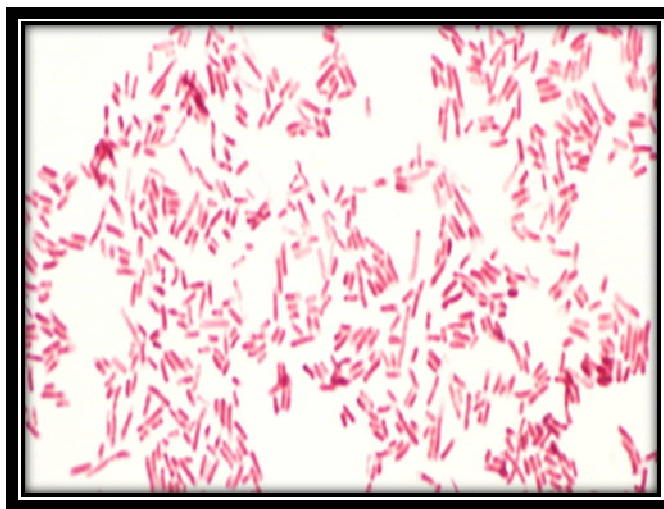


Figure 5: Observation microscope d'*E.coli* après la coloration du Gram G×100

1.3. Test de catalase

Le dégagement de bulles de gaz; ce qui indique la présence de la catalase et que le test positif catalase (+).



Figure 6: Catalase positif d'*Escherichia coli*

1.4. Test de l'oxydase

On observe que le papier reste incolore : il n'y a pas une réaction, la bactérie ne possède pas l'enzyme



Figure 7: Oxydase négatif d'*Escherichia coli*

1.5. Test de Galerie API20E

Après incubation 37C pendant 24h et ajoute les réactive à l'aide dans logiciel on observée.

Tableau 3: les réactif ajoutés dans Galerie API20E

| Caractère | Réactif(s) ajouté(s) | Lecture+ | Lecture- |
|-----------|---|-------------|----------------|
| TDA | TDA / immédiat (Fer III) | Marron Brun | Colore Jaune |
| IND | James/immédiat ou Kovacs / 2mi | Rouge | Incolore Jaune |
| V P | VP1(KOH)+ VP2 (α -naphtol)/ 10min | Rouge | Incolore |

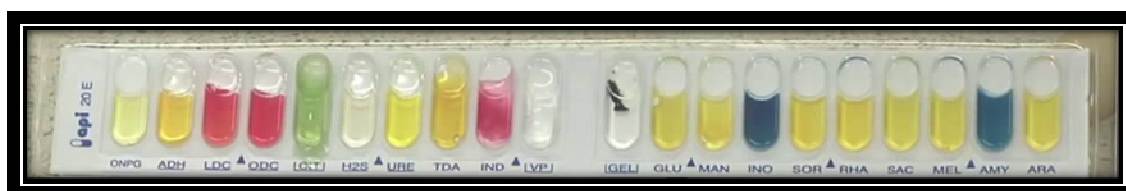


Figure 8: les résultats obtenus grâce API20E

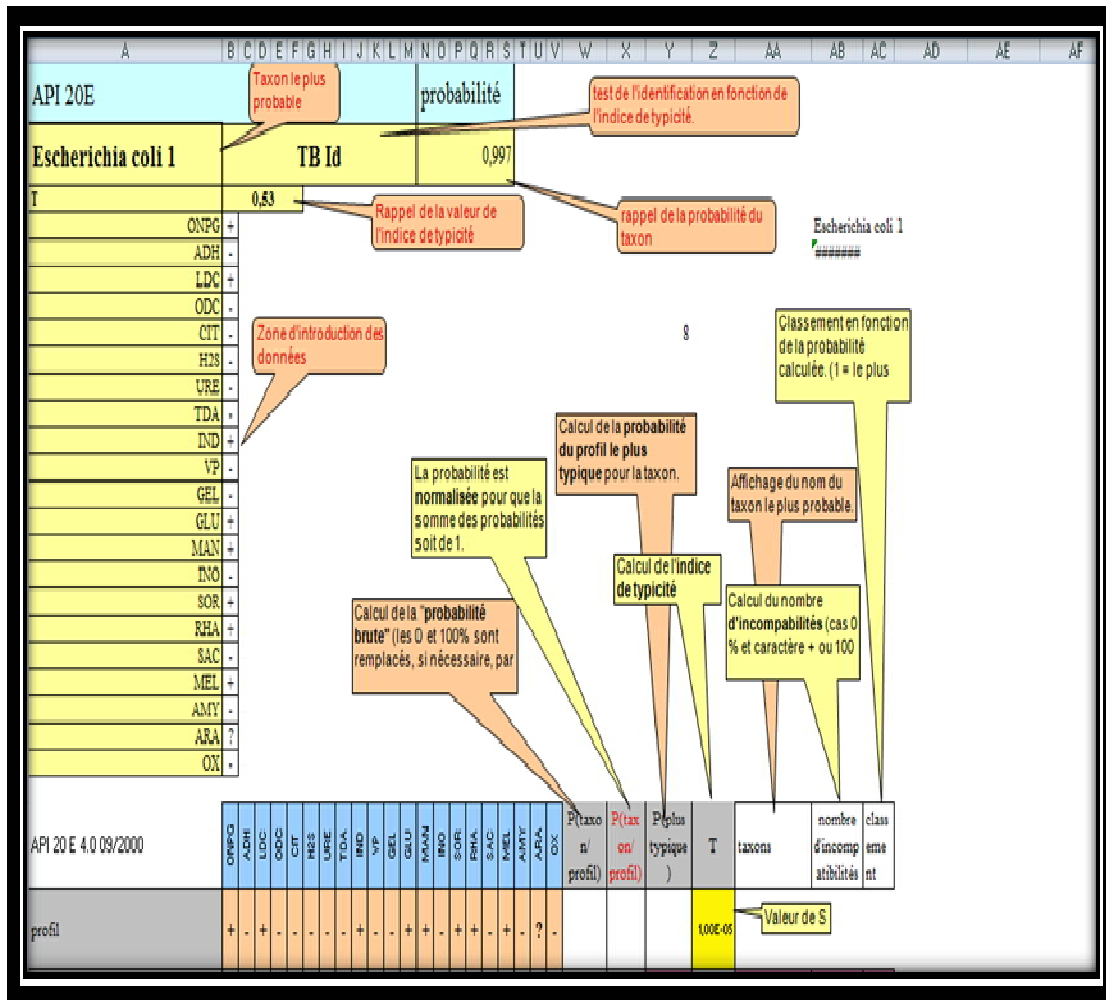


Figure 9: les résultats obtenus grâce au logiciel

2. En cas *Pseudomonas aeruginosa*

2.1. Examen macroscopique

On observe la croissance des colonies de forme plate, contour irrégulier, centre bombé, coloration du milieu en vert, une odeur aromatique de type seringa est souvent présente



Figure 10: Les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sur gélose de Hektoen.

2.2. Examen microscopique après la Coloration de Gram

Bacilles à Gram négatif colorés en rose

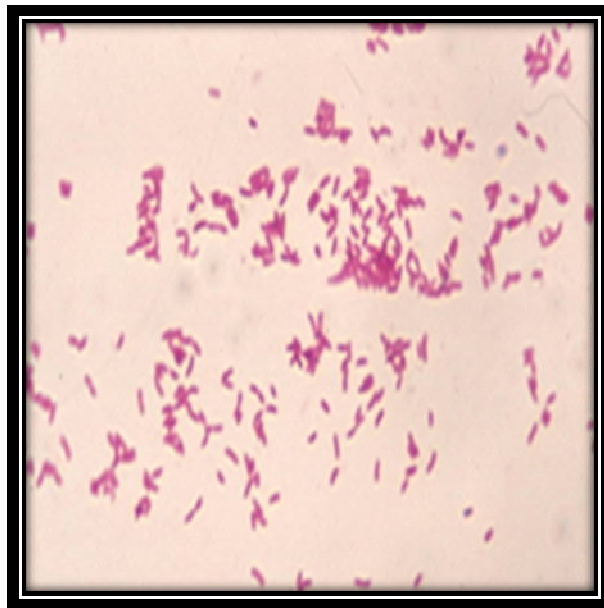


Figure 11: Observation microscopique de *P.aeruginosa* G× 100

2.3. Test de catalase

On a observé le dégagement de bulles de gaz; ce qui indique la présence de la catalase et le test catalase (+).



Figure 12: Catalase positif de *Pseudomonas aeruginosa*

2.4. Test de l'oxydase

Le Papier reste une coloré : il y a une coloration bleu foncée, la bactérie possède l'enzyme oxydase.



Figure 13: Oxydase positif de *P. aeruginosa*

2.5. Test biochimiques classiques

Tableau 4: les tests biochimiques classiques de *Pseudomonas aeruginosa*

| Milieu | TSI | | | | | Mannitol mobilité | | Urée -Indole | |
|---------------------|---------|---------|-----|-----------------|------------------|-------------------|----------|--------------|--------|
| | Glucose | Lactose | Sac | CO ₂ | H ₂ S | Mannitol | Mobilité | Uréase | Indole |
| <i>P.aeruginosa</i> | - | - | - | - | - | - | + | + | - |

3. En cas *Staphylococcus aureus*

3.1. Examen macroscopique

S. aureus se développe bien sur le milieu Chapman; les colonies apparus lisses, luisantes bombées, pigmentées en jaune, le virage au jaune du milieu explique les colonies sont mannitol (+) car elles fermentent le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu.



Figure 14. Colonies de *Staphylococcus aureus* sur gélose de Chapman

3.2. Examen microscopique (Coloration de gram)

Les cellules de *S.aureus* violette sont Gram positives, elle sont isolés ou groupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappes de raisin.

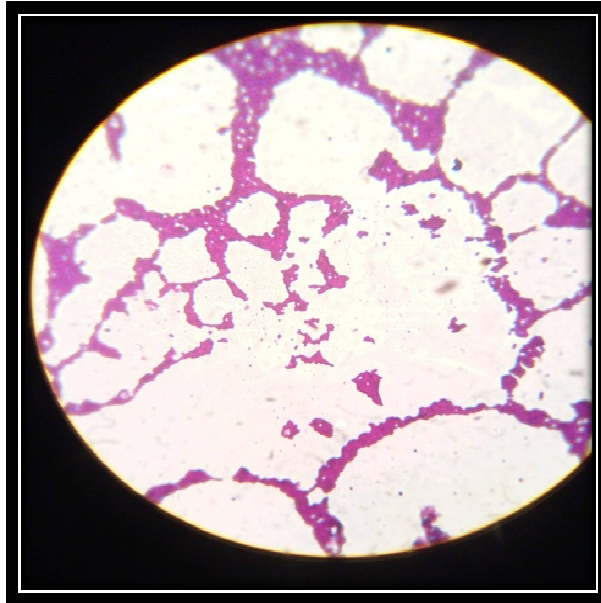


Figure 15: Observation microscope de *S.aureus* G× 100

3.3. Test catalase

On a observé le dégagement de bulles de gaz; ce qui indique la présence de la catalase
test catalase (+).



Figure 16: Catalase positif de *S. aureus*

3.4. Test de l'oxydase

Papier reste incolore : il n'y a pas une réaction, la bactérie ne possède pas l'enzyme



Figure 17: Oxydase négatif de *S. aureus*

3.5. Test de coagulase

Les observations du test coagulase (+)

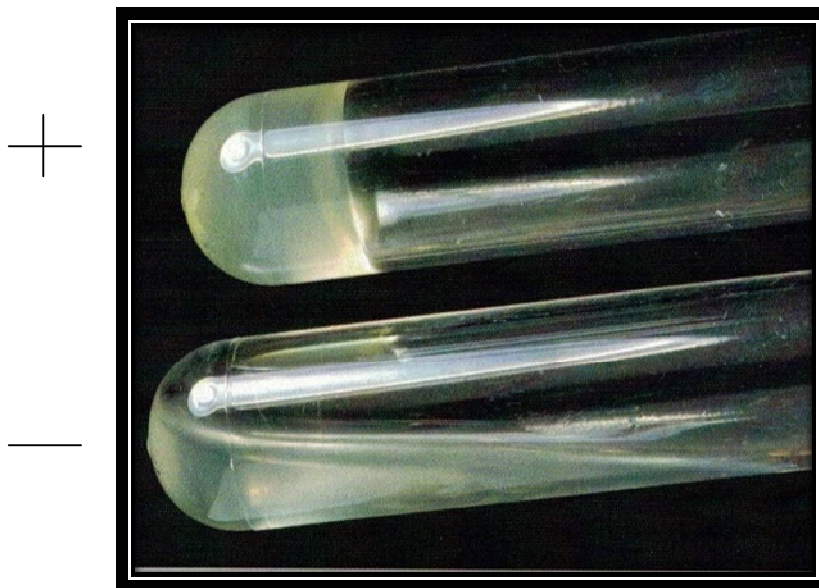


Figure 18 : Test Coagulase de *S. aureus*

I. Résultat de la résistance bactérienne chez les souches isolées

1. En cas *Escherichia coli*

La lecture de l'antibiogramme consiste à déduire à partir de la mesure de ces diamètres, le caractère sensible (S), résistante (R), intermédiaire (I). Les résultats des antibiogrammes réalisés sont résumés dans le tableau 5.

Tableau 5: profile de la résistance bactérienne chez *E.coli*

| ATB | CTX | IMP | AMP | CZO | AMX | FOX | CIP | COL | AMK |
|-------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| D Référence | S/30 | S/26 | S/17 | S/22 | S/19 | S/23 | S/30 | S/12 | S/19 |
| D Souche 1 | R/26 | S/35 | R/12 | S/23 | R/16 | R/17 | R/24 | S/17 | R/16 |
| D Souche 2 | R/18 | S/29 | R/6 | R/6 | R/6 | R/6 | S/35 | S/15 | R/18 |
| D Souche 3 | R/20 | S/34 | R/9 | R/20 | R/10 | R/6 | S/35 | S/13 | S/22 |

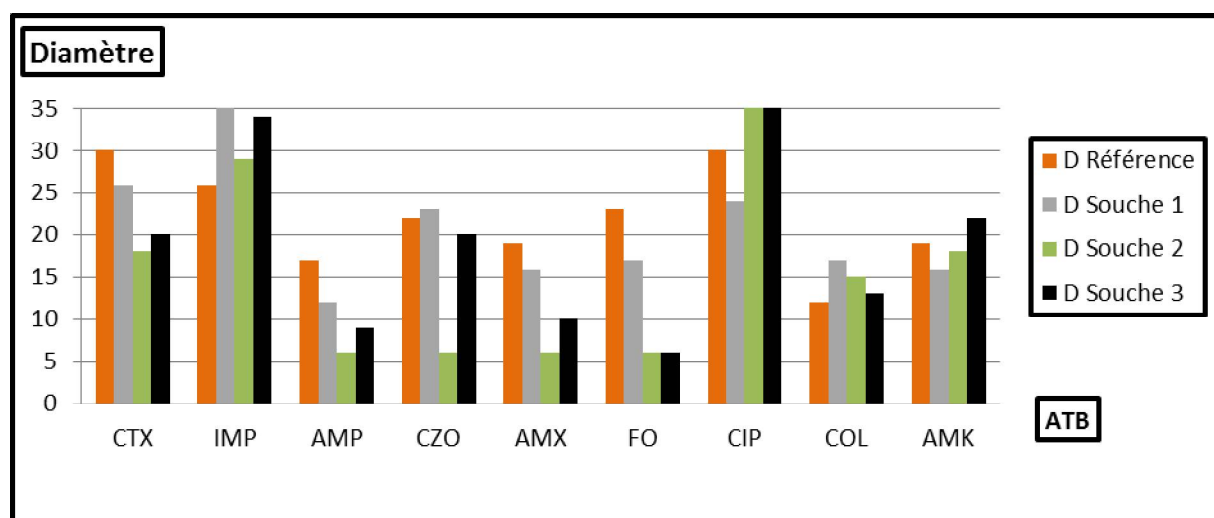


Figure 19: Profile de la résistance chez *E.coli*.

D'après nos résultats; les trois souches des patients hospitalisés.

Toute les *Escherichia coli* sont résistante aux les ATB suivant CTX, AMP, AMX, FOX. Par contre la souche de référence à montrée une sensibilité a tout les antibiotiques. Et autre résultat les *Escherichia coli* sont sensibles aux les ATB l'IPM et COL.

En général, nous concluons que certaines des mutations se sont produites dans les souches des patients, où ils sont devenus résistants à certains antibiotiques.

2. En cas *Pseudomonas aeruginosa*

Les résultats des antibiogrammes réalisés sont résumés dans le tableau 6.

Tableau6: résume la résistance bactérienne chez *P.aeruginosa*.

| ATB | TCC | PI | CAZ | IMP | AMK | GEN | TOB | CIP | COL |
|-------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| D référence | 26/S | 26/S | 23/S | 25/S | 25/S | 17/S | 24/S | 25/S | 12/S |
| D Souche 1 | 24/S | 34/S | 22/S | 14/R | 24/S | 16/S | 24/S | 25/S | 18/S |
| D Souche 2 | 26/S | 28/S | 16/R | 33/S | 26/S | 14/R | 20/S | 33/S | 14/S |
| D Souche 3 | 14/R | 24/S | 11/R | 31/S | 25/S | 14/R | 19/S | 34/S | 14/S |

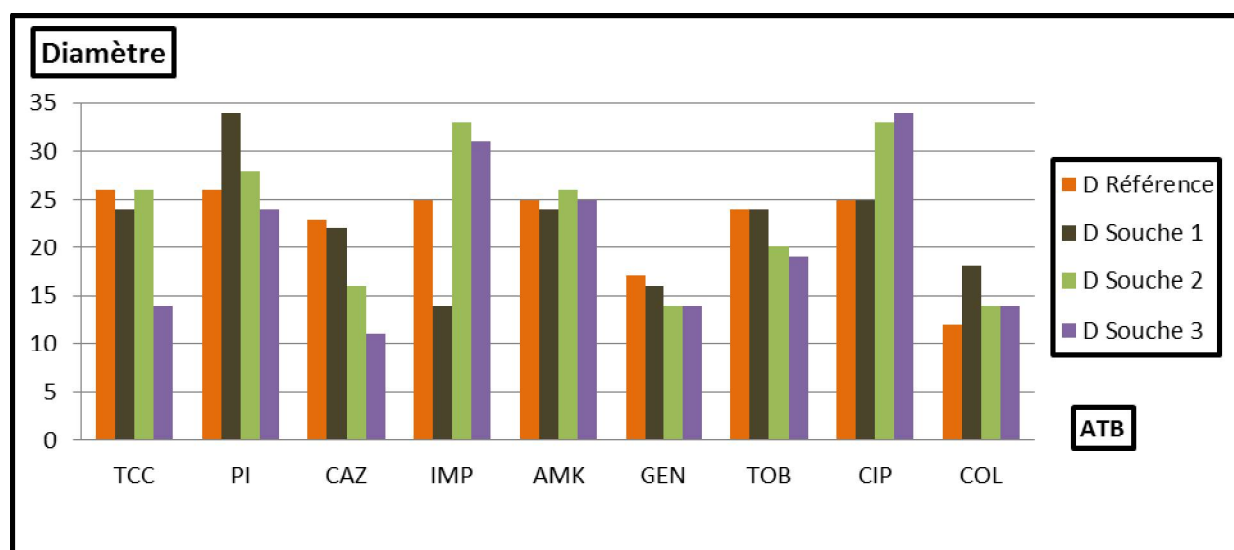


Figure 20.profile de la résistance *P.aeruginosa*

D'après nos résultats on a remarqué la souche référence sensible à tous les ATB a contre les souches 2 et 3 résisté l'ATB (CAZ et GEN).

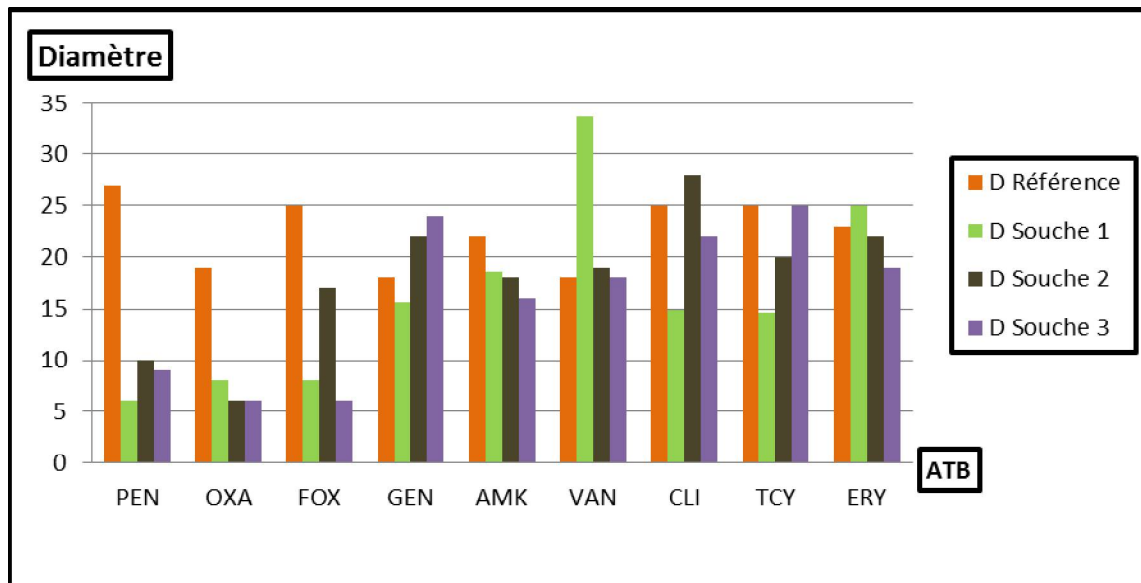
En général, nous concluons le même résultat *d'Escherichia coli* c'est-à-dire que certaines des mutations se sont produites dans les souches des patients, où ils sont devenus résistants à certains antibiotiques.

3. En cas *Staphylococcus aureus*

Les résultats des antibiogrammes réalisés sont résumés dans le tableau 7.

Tableau 7.profil de la résistance bactérienne chez *S.aureus*

| ATB | PEN | OXA | FOX | GEN | AMK | VAN | CLI | TCY | ERY |
|-------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| D Référence | 27/S | 19/S | 25/S | 18/S | 22/S | 18/S | 25/S | 25/S | 23/S |
| D Souche 1 | 6/R | 8/R | 8/R | 16/R | 19/R | 34/S | 15/R | 15/R | 25/S |
| D Souche 2 | 10/R | 6/R | 17/R | 22/S | 18/R | 19/S | 28/S | 20/R | 22/R |
| D Souche 3 | 9/R | 6/R | 6/R | 24/S | 16/R | 18/S | 22/S | 25/S | 19/R |

**Figure 21.**profile de la résistance chez *S. aureus*

D'après nos résultats, les souches sauvages on a remarqué la souche référence sensible à tous les ATB et on a observé la plus par des souches résistent l'PEN, OXA, FOX, c-à-dire la famille β -lactamine et la plus par des souches sensible l'CLI, TCY, GEN.

Nous concluons le même résultat d'*E. coli* et *P. aeruginosa* mais aussi des mutations se sont produites dans les souches des patients, où ils sont devenus résistants presque tous les antibiotiques.

II. Rétrospective

Notre étude était prospective, ce qui nous a permis de définir le taux d'incidence des cas des souches résistantes apparus pendant une période donnée par rapport au nombre total de cas isolées ou trouvées. Nous signale que notre période de prospection est les cas trouvés durant l'année 2017 au laboratoire de l'hôpital Hakim Saadane à Biskra.

1. Taux d'incidence selon la nature des prélèvements

Les germes ont été isolés à partir d'une grande variété des prélèvements cliniques. Nous avons remarqué leur présence dans la majorité des prélèvements principalement les ECBU avec une fréquence de 85 % et les prélèvements de pus avec une fréquence de 11% et suivi par hémoculture avec une fréquence de 4% (Tableau 6).

Tableau 6: Répartition les souches selon la nature des prélèvements

| Nature de prélèvement | Nombre de prélèvement | Pourcentage |
|-----------------------|-----------------------|-------------|
| ECBU | 712 | 85 % |
| Hémoculture | 91 | 4 % |
| pus | 30 | 11 % |

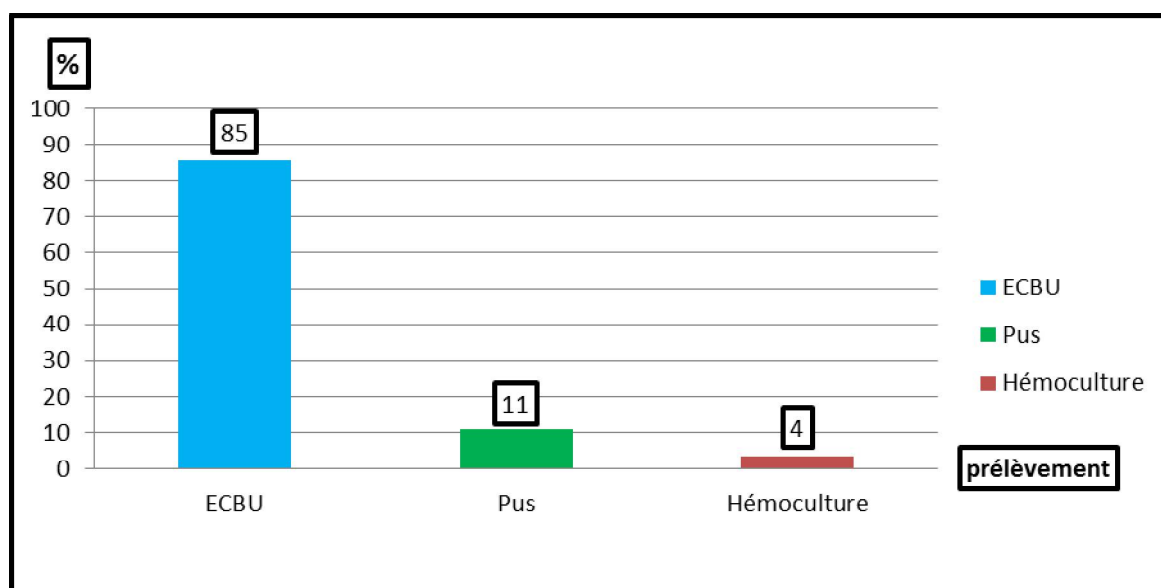


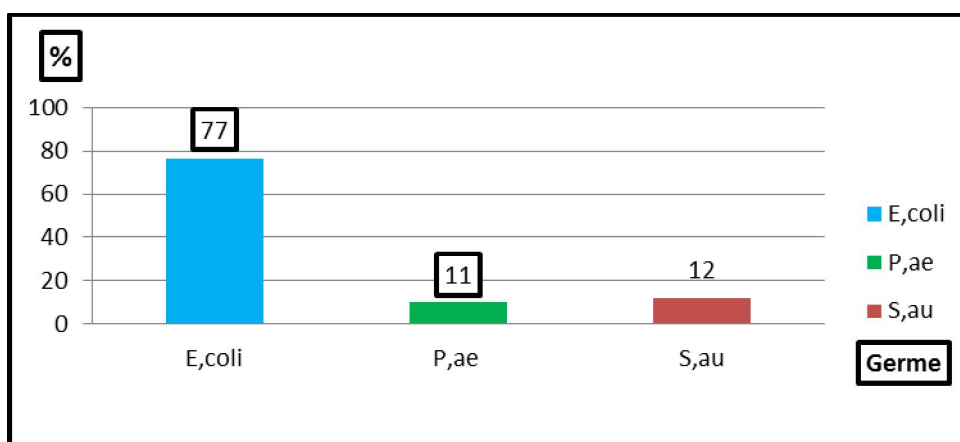
Figure 22. Répartition les souches isolées selon la nature des prélèvements

2. Taux d'incidence selon les germes isolés

Les 833 germes recensés sont répartis au trois espèces bactériennes comme suivant :

Tableau 7: Répartition selon les germes identifiés

| Germes | Fréquence | Pourcentage |
|-------------------------------|-----------|-------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 104 | 12 % |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 89 | 11 % |
| <i>Escherichia coli</i> | 640 | 77 % |
| Totale | 833 | 100 % |

**Figure 23:** Répartition selon les germes identifiés

D'après le (Tableau8) et la (Figure23), nous avons révélé une prédominance des germes le plus représenté est *E.coli* (Gram négatif fermenté) avec un pourcentage de 77%, quelque soit l'âge et le sexe des patients, par la suite nous avons identifié *S.aureus* (cocci à Gram positif), avec un pourcentage de 12%, et dans le dernier vient *P. aeruginosa* (Gram négatif non fermenté) avec un pourcentage de 11%.

La majorité des études indiquent d'*Escherichia coli* est la souche la plus impliquée en pathogène infectieuse.

3. Taux d'incidence selon les services

L'ensemble des infections des germes varient selon le type du service hospitalier. Le taux de l'infection communautaire « Ext » atteint (74.5 %).

En milieu hospitalier, parmi les services de haute prévalence des germes, le service de médecine femme « M.F », ce service montre une diminution du taux d'infection qui va de (9.7%), Ce résultat reste proche du taux de service de pédiatrie « Ped » qui va de (8.3%), Pour les services médecine homme « M.H » du taux d'infection qui va de 5 %, mais on note un

faible taux dans le service Cardiologie et Chirurgie Neurologie et Réanimation qui va de (0.6%), (0.5%), (0.5 %).

Tableau 8: Répartition des souches positives selon les services

| Les services pourvoyeurs | Nombre | Pourcentage (%) |
|--------------------------|--------|-----------------|
| Réanimation | 4 | 0.5 % |
| Cardiologie | 5 | 0.6 % |
| Chirurgie Neurologie | 4 | 0.5 % |
| Médecine femme | 81 | 9.7 % |
| Médecine homme | 42 | 5 % |
| pédiatrie | 69 | 8.3 % |
| Externe | 628 | 75.4 % |

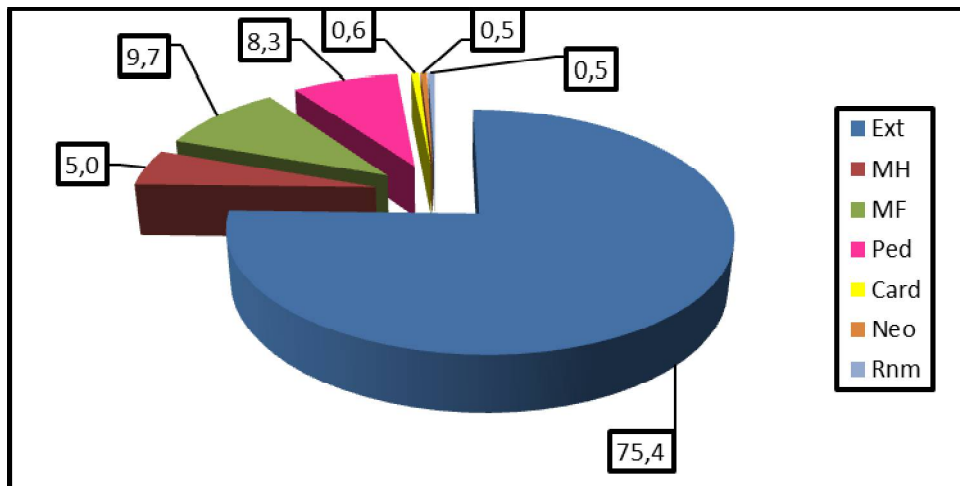


Figure 24: Répartition des souches positives selon les services

4. Taux d'incidence selon Sexe

Durant l'année (2017), on a trouvé 833 échantillons positifs, et on a présenté le pourcentage de chaque sexe dans le tableau ci-dessous (tableau 9) et la figure 25.

D'après les résultats obtenus le sexe féminin est plus exposé aux infections que le sexe masculin. Nous avons observé une différence significative des taux: les femmes (69%) sont plus infectées que l'homme (31%).

Tableau 9: Répartition des patients selon le sexe

| Sexe | Nombre | Fréquence(%) |
|--------------|--------|--------------|
| Femme | 575 | 69 % |
| Homme | 258 | 31 % |

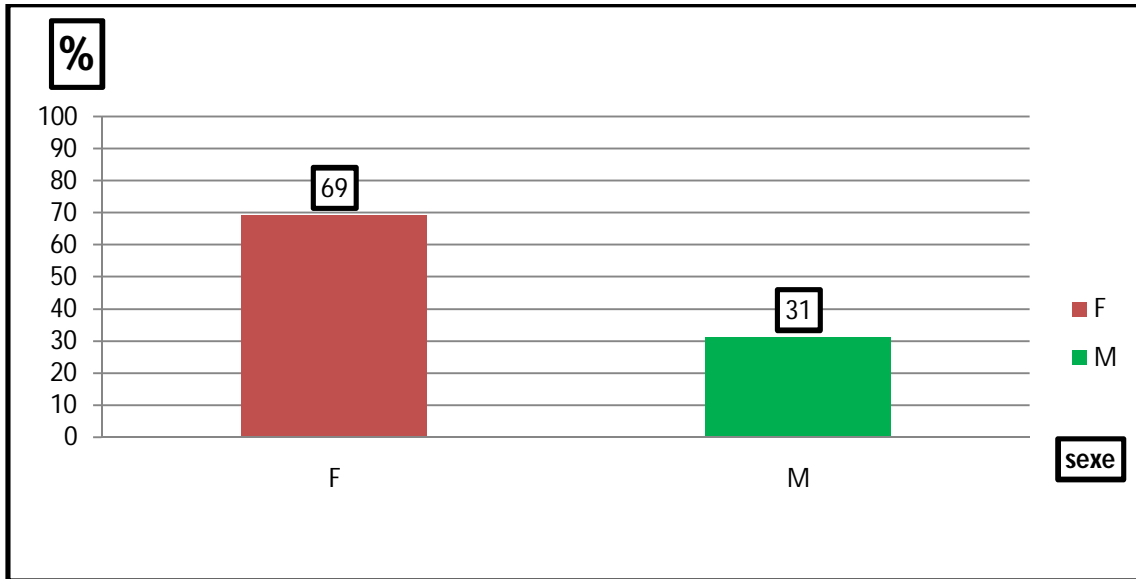


Figure 25: Répartition des patients selon le sexe

5. Taux d'incidence selon l'Age

La Figure 26 nous a montré que la majorité des souches ont été isolées à partir des échantillons prélevés des patients adultes (74%), suivi par (26%) pour les enfants. Les résultats de l'âge (année 2017) nous a montré également que les adultes sont plus infectés que les enfants et cela dépend de plusieurs facteurs.

Tableau 10: Répartition selon l'Age

| Age | nombre | Pourcentage % |
|---------|--------|---------------|
| Adultes | 618 | 74% |
| Enfants | 215 | 26% |

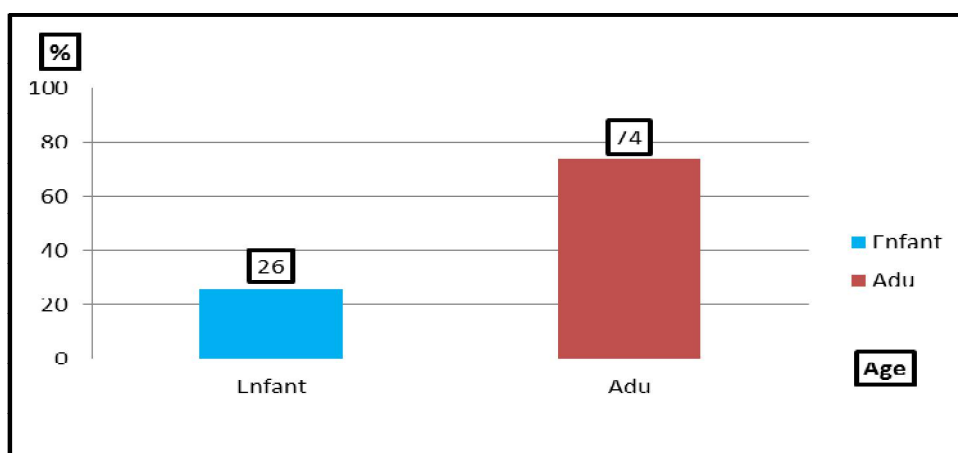


Figure 26: Répartition selon l'Ag

6. La résistance bactérienne chez les souches isolées

6.1. La résistance et la sensibilité aux antibiotiques d'*Escherichia coli*

Tableau 11: profil de la résistance et la aux antibiotiques d'*E. coli*

| ATB | β-LACTAMINES | | | | | | AMI | QUI | POLY |
|---------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| | FOX | AMP | CZO | AMC | CTX | IPM | GEN | CIP | COL |
| R | 168 | 620 | 287 | 577 | 145 | 3 | 61 | 104 | 483 |
| % R | 26 | 97 | 45 | 90 | 23 | 0 | 10 | 16 | 75 |
| S | 472 | 20 | 353 | 63 | 495 | 637 | 579 | 536 | 157 |
| % S | 74 | 3 | 55 | 10 | 77 | 100 | 90 | 84 | 25 |
| R Ext | 137 | 510 | 214 | 474 | 95 | 1 | 43 | 71 | 401 |
| % R Ext | 26 | 96 | 40 | 89 | 18 | 0 | 8 | 13 | 76 |
| S Ext | 393 | 20 | 316 | 56 | 435 | 529 | 487 | 459 | 129 |
| % S Ext | 74 | 4 | 60 | 11 | 82 | 100 | 92 | 87 | 24 |
| R Int | 31 | 110 | 73 | 103 | 50 | 2 | 18 | 33 | 82 |
| % R Int | 28 | 100 | 66 | 94 | 45 | 2 | 16 | 30 | 75 |
| S Int | 79 | 0 | 37 | 7 | 60 | 108 | 92 | 77 | 28 |
| % S Int | 72 | 0 | 34 | 6 | 55 | 98 | 84 | 70 | 25 |

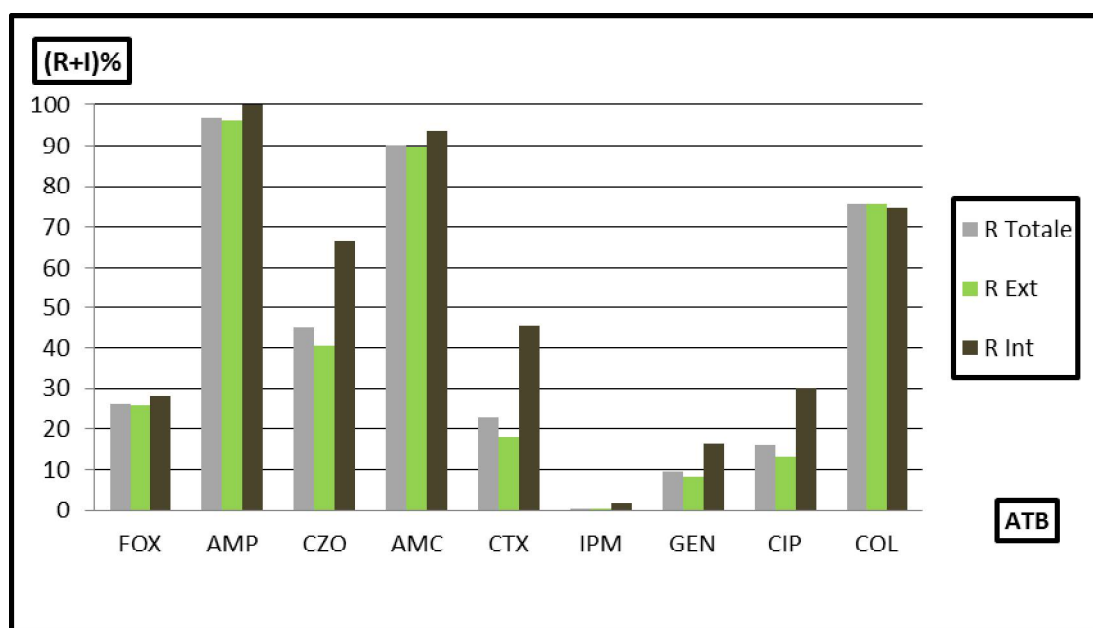


Figure 27: profil de la résistance aux antibiotiques d'*Escherichia coli*

Résultat et discussion

D'après nos résultats; 833 patients hospitalisés (INT) et non hospitalisés (EXT) se sont révélés positif à causée par l'espèce *Escherichia coli*, nos souches montrent la pourcentage de la résistance aux β-lactamines est respectivement (AMP)97% qui content (EXT) 96% et (INT) 100%, (AMC) 90% qui content (EXT) 89% et (INT)100%, (CZO) 45% qui content (EXT) 40% et (INT) 60%, (FOX)26% qui content (EXT) 26% et (INT) 28%, (CTX)23% qui content

(EXT)18% et (INT)45%, (IPM)0% qui content (EXT)0% et (INT) 2%. Ce pendant le pourcentage de la résistance les aminosides touche la (GEN) 10% qui content (EXT) 8% et (INT) 16%, et ensuit la pourcentage de la résistance les quinolones a l'antibiotique (CIP) 16% qui content (EXT) 13% et (INT) 30% , Dans ce dernier vient la famille polypeptides qui touche (COL) 75% qui content (EXT) 76% et (INT) 375% .

E.coli fait partie du premier groupe(G1) des *Entérobactéries*, qui présente une sensibilité totale à toutes les β -lactamines (dit phénotype sauvage).

Autre fois l'ampicilline et l'amoxicilline étaient les molécules les plus utilisées dans le traitement des infections causées par *E. coli*. De nos jours, la sensibilité de cette bactérie à ces deux antibiotiques a beaucoup diminué.

Cette étude confirme le caractère inquiétant de l'évolution de la sensibilité d'*E.coli* aux (amoxicilline 10%, ampicilline 3%). Cette observation est pratiquement conforme aux résultats de certains auteurs africains : BathiY et *al.*, (2002) à Bamako a obtenu 14% de souches d'*E. coli* sensibles à l'amoxicillin.

Quant aux céphalosporines de 2ème et 3ème génération, elles sont très efficaces sur ce germe avec des pourcentages respectifs pour la céfoxitine et environ 74% pour les céphalosporines de 3ème génération (la céfotaxime).

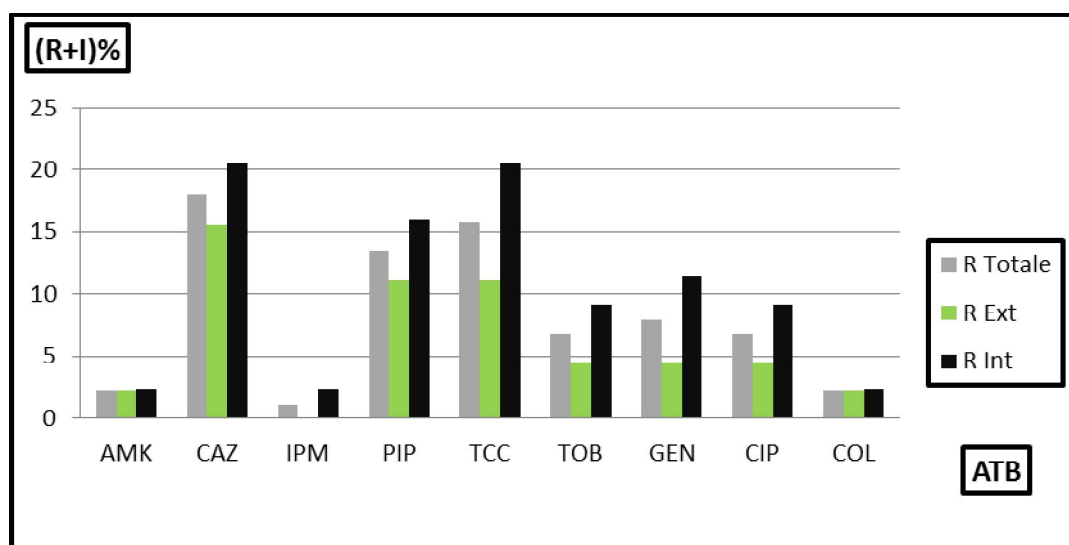
Les aminosides, notre étude révèle respectivement de souches sensibles à la gentamicine et 90%. Cette résultat à conforme aux résultats Eslahpazire. (1993) à Cotonou a révélé 82% de souches sensibles à la gentamicine, cependant POLYPEPTIDES une meilleure activité à la colistine 75%.

Une autre observation que nous découvrons à travers notre étude est que les patients hospitalisés (INT) sont résistantes aux antibiotiques par rapport aux patients non hospitalisés (EXT) a tous les antibiotiques, sauf L'antibiotique colistine les patients non hospitalisés (EXT) sont résistantes aux antibiotiques par rapport aux patients hospitalisés (INT). Cela est dû à l'apport aléatoire d'antibiotiques et de ne pas consulter un médecin pour les prendre.

6.2. La résistance bactérienne *P.aeruginosa*

Tableau 12: profile de la résistance de *P.aeruginosa*

| ATB | β- LACTAMINES | | | | | AMI | | QUI | POL |
|------------|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | AMK | CAZ | IPM | PIP | TIC | TOB | GEN | CIP | COL |
| R Totale | 2 | 16 | 1 | 12 | 10 | 6 | 7 | 6 | 2 |
| % R Totale | 2 | 18 | 1 | 13 | 11 | 7 | 8 | 7 | 2 |
| S Totale | 87 | 73 | 88 | 77 | 79 | 83 | 82 | 83 | 87 |
| %S Totale | 98 | 82 | 99 | 87 | 89 | 93 | 92 | 93 | 98 |
| R Ext | 1 | 7 | 0 | 5 | 5 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| % R Ext | 2 | 16 | 0 | 11 | 11 | 4 | 4 | 4 | 2 |
| S Ext | 44 | 38 | 45 | 40 | 40 | 43 | 43 | 43 | 44 |
| % S Ext | 98 | 84 | 100 | 89 | 89 | 96 | 96 | 96 | 98 |
| R Int | 1 | 9 | 1 | 7 | 5 | 4 | 5 | 4 | 1 |
| % R Int | 2 | 20 | 2 | 16 | 11 | 9 | 11 | 9 | 2 |
| S Int | 43 | 35 | 43 | 37 | 39 | 40 | 39 | 40 | 43 |
| % S Int | 98 | 80 | 98 | 84 | 89 | 91 | 89 | 91 | 98 |

Figure 28. profile de la résistance de *P.aeruginosa*.

Résultat et discussion

D'après nos résultats. Les patients hospitalisé (INT) et non hospitalisé (EXT) se sont révélés positifs causée par des espèces du *P. aeruginosa*. Le profil de résistance des souches de *P.aeruginosa*, enregistre une fréquence de sensibilité presque totale de la Ticarcilline 84% ; ce pourcentage contient les patients hospitalisé (INT) 89% Et non hospitalisé (EXT) 89%, Piperacilline 77% qui contient (EXT) 89%, et INT 84%, Ceftozidime 73% qui contient EXT 84%, et INT 80%, Gentamicine 92% qui contient (EXT) 96% et (INT) 89% , Amikacine 98%

qui contient (EXT) 98%, et (INT) 98% , ciprofloxacine 93% qui contient (EXT) 96% et (INT) 91% , et la Colistine 98% qui contient (EXT) 98% et (INT) 98%, ils présentent alors les molécules de choix pour ces souches , suivie par un taux de sensibilité assez marqué pour l'Imipénème avec 99% qui contient (EXT) 100% et INT 98%, et Ticarcilline+Acide clavulanique 75% qui contient (EXT) 84% et INT 80% , et Tobromycine 93% qui contient (EXT) 96% et (INT) 91% .

Les antibiotiques actifs sur nos souches qu'on a mentionné au paravent sont : L'imipénème et amikacine et colistine et tobromycine et ciprofloxacine qui reste la molécule la plus agissante avec entre 10%-15% de résistance. Ces résultats concordent bien avec ceux obtenus par Baoukhemis A et *al.* (2015.) indiquant aussi que l'imipénème amikacine et colistine et tobromycine et constitue la molécule de choix pour le traitement dans la majorité des cas. On cite également l'amikacine, et aux quels nos souches montrent une sensibilité assez marquée. Ce qui se rapproche de l'étude menée par Bouarroudj Y et *al.* (2015), rapportant des résultats entre 75% et 100% de sensibilité.

L'antibiogramme a démontré aussi la résistance de ces souches vis-à-vis : Amoxicilline, ciprofloxacine. Quant aux souches de *P.aeruginosa* ; elles présentent une sensibilité importante à l'égard des antibiotiques testés , malgré que cette espèce bactérienne soit connue par sa multi-résistance surtout en milieux hospitalier, pour la signification de cette observation on note l'application rigoureuse et stricte des bonnes pratiques et mesures d'hygiène hospitalière dans l'enceinte de la structure de l'hôpital de Biskra .

Les patients non hospitalisé (EXT) est sensible aux antibiotiques de *P.aeruginosa* par rapport Les patients hospitalisé (INT) et cela est dû à l'effet environnemental de l'hôpital sur les patients hospitalisés.

6.3. La résistance bactérienne *S.aureus*

Tableau 13: profile de la résistance bactérienne *S.aureus*

| ATB | β- LACTAMINES | | | AMI | CYCL | MAC | | | GLYC | |
|------------|---------------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|
| | FOX | OXA | PEN | GEN | TCY | ERY | CLI | PRI | VAN | TEC |
| R Totale | 64 | 47 | 103 | 1 | 38 | 27 | 14 | 25 | 7 | 0 |
| % R Totale | 62 | 45 | 99 | 1 | 37 | 26 | 13 | 24 | 7 | 0 |
| S Totale | 39 | 57 | 1 | 103 | 66 | 77 | 90 | 79 | 97 | 104 |
| % S Totale | 38 | 55 | 1 | 99 | 63 | 74 | 87 | 76 | 93 | 100 |
| R Ext | 36 | 22 | 53 | 0 | 23 | 15 | 7 | 13 | 2 | 0 |
| % R Ext | 68 | 42 | 100 | 0 | 43 | 28 | 13 | 25 | 4 | 0 |
| S Ext | 17 | 31 | 0 | 53 | 30 | 39 | 46 | 41 | 51 | 53 |
| % S Ext | 32 | 58 | 0 | 100 | 57 | 74 | 87 | 77 | 96 | 100 |
| R Int | 29 | 25 | 50 | 1 | 15 | 13 | 7 | 13 | 5 | 0 |
| % R Int | 57 | 49 | 98 | 2 | 29 | 25 | 14 | 25 | 10 | 0 |
| S Int | 22 | 26 | 1 | 50 | 36 | 38 | 44 | 38 | 46 | 51 |
| % S Int | 43 | 51 | 2 | 98 | 71 | 75 | 86 | 75 | 90 | 100 |

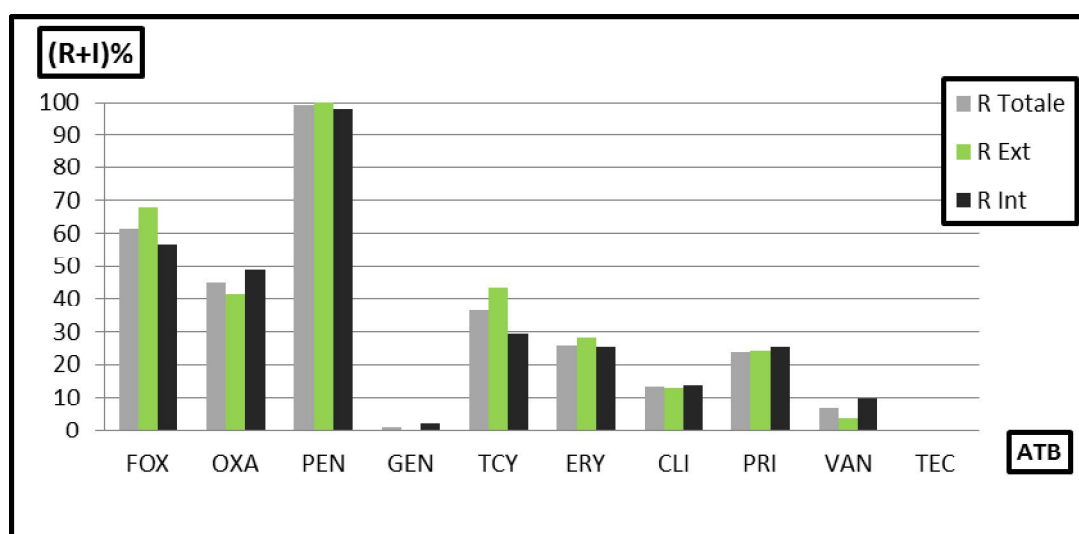


Figure 29: profile de la résistance bactérienne *S.aureus*

Résultat et discussion

D'après nos résultat, Les patients hospitalisé (INT) Et non hospitalisé (EXT) se sont révélés positifs à causée par des souches *S. aureus*, on a observée (PEN) 99% qui contient (EXT) 100%, et (INT) 98%, (FOX)62% qui contient (EXT)68%, et (INT) 29%, (OXA)45% qui contient (EXT)42%, et (INT) 49%, et (GEN)1% qui contient (EXT) 0%, et (INT) 2%, et (TCY)37% qui contient (EXT) 43%, et (INT)29%,et (ERY)26% qui contient (EXT) 28%, et (INT) 25%, et(CLI)13% qui contient (EXT) 13%, et (INT)14%, et (PRI) 24% qui contient

(EXT) 25%, et (INT) 25%, et (VAN) 7% qui contient (EXT) 4%, et (INT) 10%, et (TEC)0% qui contient (EXT) 0%, et (INT) 0% .

Les *staphylocoques* peuvent être sensibles à divers antibiotiques mais se caractérisent par une aptitude remarquable à acquérir de multiples caractères de résistance

La sensibilité des souches de *S. aureus* sauvages aux bêta lactamines varie selon la molécule. Actuellement, 80 % à 95 % des souches de *S. aureus* produisent une pénicillinase qui inactive la pénicilline G et l'ampicilline,

Nos souches montrent une forte résistance à la pénicilline 99% comparé avec les résultats obtenus ultérieurement par Bedaida. (2005) (97.20%). Contrairement à ce qui a été trouvé pour la penicilline, d'après (Sevin et al.(1999). le *S. aureus* résisté à les pénicillines G ou A, par production de pénicillinase. Les souches hospitalières peuvent résister également aux pénicillines du groupe M (mécicilline, oxacilline) par modification des protéines liant la pénicilline (PLP)

Grâce à l'étude, nous avons remarqué que les souches *S.aureus* possède une sensibilité complète à la (TEY) 100%, une sensibilité presque total avec les antibiotique suive (GEN) 99%,(VAN) 93%,(PRI) 76%, (CLI) 87%, (ERY) 74%, Ceci est cohérent avec les études précédentes EYQUEM et al. (2000) et Depovere. (2002) sont montrés que l'emploi d'antibiotiques (vancomycine, pristinamycins) reste actifs sur les souches, mais une résistance commence à apparaitre vis-à-vis de cet antibiotique. Selon l'étude de Rebiah et al.(2011) trois souches seulement se sont avérées résistantes à la vancomycine à partir de 104 souches.

Comme nous observons aussi Pour les autres antibiotiques qui sont à fréquence variable entre la sensibilité et la résistance; ils indiquent que la souche est hétérorésistante; cela a été confirmé par Yvon.(2009) qui a montré que le *S. aureus* est hétéroristant à la (FOX) 38%, (TCY) 63%, (OXA) 55%.

Des antibiotiques seront administrés à toutes les souches considérées comme pathogènes en raison de l'augmentation de la résistance, chez les patients hospitalisés et non hospitalisés Le choix du traitement antibiotique est guidé par l'antibiothérapie et l'état pathogène.

En dernière analyse, nous avons remarqué qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons prélevés sur des personnes à l'intérieur et à l'extérieur des hôpitaux, même si on les trouve à très basse fréquence.

Conclusion

Conclusion

Les entérobactéries représentent une des principales familles de bacilles à Gram négatif responsables des maladies infectieuses, suivies de staphylocoque et de faible fréquence *P.aeruginosa*.

Notre étude prospective et statistique menée au laboratoire de bactériologie de l'EPH Hakim Saadan sur une période de 15 jours. Un totale de 833 collectes durant l'année 2017 dans différents prélèvements comme l'urine, sang et pus de patients hospitalisés et non hospitalisés sont effectués. Trois germes *E.coli* et *S.aureus* et *P. aeruginosa* ont été identifiées biochimiquement et étudié leur résistance aux antibiotiques et une comparaison a été faite entre les patients hospitalisés et les cas externes.

Nous avons trouvé que les sources des souches de *S. aureus* et *E.coli* et *P. aeruginosa* sont liés :

La Nature de prélèvements où Le laboratoire de Hakim Saadane reçoit des échantillons d'urine une fréquence 85 % plus que des échantillons de sang avec une fréquence 4% et de pus avec une fréquence 11%.

Les germes isolés : D'après nos prospection nous avons noté une prédominance des germes le plus représenté est *E.coli* avec un pourcentage 77%, par la suite *S.aureus* (12%) et puis *P.aeruginosa* (11%).

L'âge : toutes les tranches d'âge sont concernées et les personnes adultes sont exposées à plus que les enfants.

Le sexe : le taux d'incidence plus fréquemment chez les femmes que les hommes. Parce que la femme est plus exposée aux différents types d'accidents que l'homme.

En cas *E.coli* plus, leur association à d'autres déterminants de résistance, essentiellement aux aminosides et aux quinolones, ne concourt à une co-sélection de la résistance aux β -lactamines par ces derniers antibiotiques largement utilisés en thérapeutique humaine. Par ailleurs, ces souches productrices de β -lactamase ont présenté une sensibilité totale à l'imipénème et pourcentage entre 75%-95% pour de CIP, GEN, FOX, CTX, et des fort de résistance vis-à-vis de l'AMC 90% et l'AMP 97% et Cela augmente le choix des associations d'antibiotiques

En cas *P.aeruginosa* Les bacilles à Gram négatif non fermentant sont naturellement résistants à de nombreux antibiotiques CAZ, PIP, TCC et GEN peuvent acquérir de nombreux mécanismes de résistance causant de réelles difficultés thérapeutiques. Aucune ou très faible résistance n'a été observée pour la COL et IPM, et AMK.

En cas *S.aureus* Les souches étaient majoritairement d'origine communautaire et présentaient des profils de résistance hétérogènes, et une sensibilité totale à l'TEC et presque totale à l'GEN et l' CLI et l'PRI qui reste constamment efficace.

De plus, dans certains cas, les bactéries pour les patients non hospitalisés sont plus résistantes aux antibiotiques que les patients hospitalisés, et vice versa, en raison de l'absorption aléatoire d'antibiotiques, de l'absence de surveillance médicale et du manque d'hygiène dans les hôpitaux.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- Almi .D , 2006. Mémoire L'étude comparative entre l'effet de l'extrait de propolis et les antibiotique contre les bactéries pathogènes de l'appareil urinaire, Université Kasdi Merbah Ouargla. pp.23-24.
- Archamabaud. M, 2009: Laboratoire Bactériologie-Hygiène .CHU Rangueil Toulouse. P 23-34.
- Avril J.L., Denis F., Dabernat H., Monteil H. 2000. Bacteriologi clinique.2éme édition Marketing, paris. P.148-280.
- Baudry Ch., Brezellec H., 2006 : Microbiologie, immunologie. 2EME ED. Wolters Kluwer France, p.22.
- Baudry Ch., Brezellec H., 2006A: Microbiologie, immunologie. 2EME ED. Wolters Kluwer France, p. 22.
- Belkladi.B, 2012: La résistance bactérienne aux antibiotiques, pp.5-10-16
- Bessisd D., 2008 : Manifestations dermatologiques des maladies infectieuses, métaboliques et toxiques. Volume 2. Springer. p.313.
- Carip., 2008 : Microbiologie Hygiène. Bases microbiologiques de la diététique .Ed TEC et DOC. Médicale International, p.355.
- Davido B., 2010 : Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à *staphylocoque* doré. These de doctorat, , Faculté de médecine Paris, p.57.
- Guardabassi et Courvalin,. 2006. Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Colonster, bâtiment 43a, 4000 Liège. docteur Adeline Muylaert Email : amuylaert@ulg.ac.be *Ann. Méd. Vét., 109- 123*
- Hafiane, A.,and RRavaoarino, M(2008) Various typing methods of *P.aeruginosa* strains isolated from cytic fibrosis patient . *Med Mal Infect* 38:p.238-247.
- Huss Hh., 1988 : Fresh Fish: Quality and Quality Changes ; a Training Manual Prepared for
- Johnson J, Russo T.(2005) Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic)

E. coli. Int J Med Microbiol. Revue. ; p.383-404.

Lewis R, US Food and Drug Administration (FDA). The rise of antibiotic-resistant infections.http://www.fda.gov/fdac/features/795_antibio_lmh .2009 .

Liassine N. (2000). Problème des pathogènes à Gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Schweiz Med Wochenschr* p. 130: p. 1930-1936.

Lister.P.D., Woiter, D.J., and Hanson, N.D.2009. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical import and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev*22, pp. 57.

Lobril J.R. Réévaluation du modèle de croissance de *Monde* : effets des antibiotiques sur l'énergie maintenance. Thèse Université de Lyon I, France.(1998) :p.42-77.

Madigan. M et Martinko. J ,2007. Biologie de Micro-organismes. Université Carbondale de l'Illinois du sud .11e édition. PP.702-862.

Manadell GL ,Bennett JE ,and Dolin R., Mandell. Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Sixième édition, Elsevier, Churchill Livingstone éditeurs, USA. Édition en ligne. [http:// www.ppidonline.com](http://www.ppidonline.com) .2009

Momadid. D, 2010. Classification et mode d'action des antibiotiques, pp.3-10

Mouton.Y, Bingen.E, Deboxker.Y et Dubreuil.L, 2000. Antiviraux Antiinfectieux. Éditions John Libbey Eurotext. Paris.P.116.

Mouy.D et al .1997.: les enterobacteries isolées des infection urinaires en pratique de ville étude AFORCOPIBIO. *Méd.Mal.Infect.* Vol27,pp642-645.

Nordmann P. (2006). Résistance aux β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii* : évolution et émergence de nouveaux mécanismes. *Antibiotiques*. Edition Masson. 8 (2) : 100-107.

Page Clive P, Curtis Michael J, Sutter Morly C. (1999). Pharmacologie intégrée. pp 491.

Perronne Christain. (1999). Maladies infectieuses, volume 1. pp65.

Pechere. J.C, 1991.3éme édition reconnaitre comprendre-traiter les infections.395. P.

The FAO/DANIDA Training Programme on Fish Technology and Quality Control. illustrée,
toxiques. Volume 2. Springer. p.313.

Richard C, Keredjian M. (1995). Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts : *Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucella, Bordetella*. Inst Pasteur, 2e édition. 2,pp : 22-26.

Schaechter M., Medoff G.Eisenstein BI., 1999 : Microbiologie et pathologie infectieuse. Boeck Supérieur, page 1000.

Shimeld LA., Rodgersa ., 1999 : Essentials of Diagnostic Microbiology, illustrated.p.690.

Talbert.M, Willoquet. G et Gervais.R ,2009. : Pharmaco clinique, Wolters Kluwer France.160-165

The FAO/DANIDA Training Programme on Fish Technology and Quality Control. illustrée,
toxiques. Volume 2. Springer. p.313.

The FAO/DANIDA Training Programme on Fish Technology and Quality Control. illustrée,
toxiques. Volume 2. Springer. p.313.

Van Bambeke, 2013 : Pharmacologie et Pharmacothérapie Antiinfectieuse, Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire Université catholique de Louvain,.pp.30-35.

Yamashita SK, et al., Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit. Can J infect Dis Med Microbiol, 2000.11:p.107-11.

Annexes

Annexes

Annexe1: Liste d'abréviation des antibiotiques ([hh/www.sante.dz/aa](http://www.sante.dz/aa))

1. β - lactamines

Pénicilline (PEN)

Oxacilline (OXA)

Ampicilline (AMP)

Amoxicilline +Ac.clavulanique (AMC)

Ticarcilline (TIC)

Ticarcikine + Ac.clavulanique (TCC)

Pipéracllin (PIP)

Céfazoline (CZO)

Céfoxitine (FOX)

Céfotaxime (CTX)

Céftazidime (CAZ)

Impénème (IPM)

2. AMINOSIDES(AMI)

Gentamicine (GEN)

Amikacine (AMK)

Tobromycine (TOB)

3. CYCLINES (CYC)

Tétracycline (TCY)

4. MACROLIDES (MAC)

Erythromycine (ERY)

Clindamycine (CLI)

Pristinamycine (PRI)

5. POLYPEPTIDES (POL)

Colistine (COL)

6. GLYCOPEPTIDES (GLY)

Vancomycine (VAN)

Teicoplanine (TEC)

Annexe 2: Milieu de culture (Composition en g / l d'eau distillée)**Milieu urée-indole**

| | |
|--|--------|
| L-tryptophane..... | 03g. |
| Urée..... | 20g. |
| Monophydrogénophosphate de potassium | 01g. |
| Dihydrogénophosphate de potassium | 01g. |
| Chlorure de sodium | 05g. |
| Éthanol à 95 °..... | 10ml. |
| Rouge de phénol en solution à 1%..... | 2,5ml. |

pH = 6,8**Milieu TSI**

| | |
|---------------------------------------|---------|
| Peptones de caséine..... | 15g. |
| Peptones de viande..... | 05g. |
| Extraits de viande..... | 03g. |
| Extrait de levure..... | 03g. |
| Chlorure de sodium..... | 05g. |
| Lactose..... | 10g. |
| Saccharose..... | 10g. |
| Glucose..... | 01g. |
| Citrate de fer III et d'ammonium..... | 0,5g. |
| Thiosulfate de sodium..... | 0,5g. |
| Rouge de phénol..... | 0,024g. |
| Agar..... | 12g. |

pH = 7,4**Mannitol-Mobilité-Nitrate**

| | |
|---------------------------------------|--------|
| Hydrolysats tryptique de caséine..... | 10g. |
| Mannitol..... | 7,5g. |
| Rouge de phénol..... | 0,04g. |
| Nitrate de potassium..... | 01g. |
| Agar..... | 3,5g. |

pH = 7,6

Gélose Mueller-Hinton

| | |
|------------------------------------|--------|
| Infusion de la viande de bœuf..... | 300ml. |
| Peptone de caséine..... | 17,5g. |
| Amidon de maïs..... | 1,5g. |
| Agar..... | 17g. |

pH = 7,4**Gélose Hektoen**

| | |
|---------------------------------------|---------|
| Protéose-peptone..... | 12g. |
| Extrait de levure..... | 03g. |
| Lactose..... | 12g. |
| Saccharose..... | 12g. |
| Salicine..... | 02g. |
| Citrate de fer III et d'ammonium..... | 1,5g. |
| Sels biliaires..... | 09g. |
| Fuchsine acide..... | 0,1g. |
| Bleu de bromothymol..... | 0,065g. |
| Chlorure de sodium..... | 05g. |
| Thiosulfate de sodium..... | 05g. |
| Agar..... | 14g. |

pH = 7,5**Gélose nutritive**

| | |
|-------------------------|------|
| Extrait de viande..... | 01g. |
| Extrait de levure..... | 02g. |
| Peptone..... | 05g. |
| Chlorure de sodium..... | 05g. |
| Agar..... | 15g. |

pH = 7,4

Annexe 03: Coloration de GRAM

Cette méthode, principalement employée pour caractériser les bactéries en microbiologie diagnostique, permet également de voir si des bactéries présentes dans un tissu sont Gram positif ou Gram-négatif (STEVENS *et al.*, 2004).

C'est la coloration de référence en bactériologie. Elle est réalisée comme suit :

A partir d'un isolement sur gélose : déposer une petite goutte d'eau (flacon du portoir à colorants) au centre de la lame. Faire une suspension homogène avec une seule colonie prélevée à l'anse. Etaler sur environ $\frac{1}{4}$ de la lame, et séchage à la température du laboratoire et puis Sur frottis fixé à la chaleur puis l'alcool.

- ✓ Recouvrir la lame de violet de gentiane : 1 minute
- ✓ Jeter le violet de gentiane.
- ✓ Décolorer à l'alcool, la lame est tenue inclinée. La durée de décoloration à l'alcool est variable selon l'épaisseur du frotti. En pratique, la durée de décoloration est suffisante lorsque ce qui s'écoule en bas de la lame inclinée est devenu claire.
- ✓ Stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau.
- ✓ Recouvrir la lame de fuchsine diluée. 30 secondes à 1 minute.
- ✓ Laver à l'eau.
- ✓ Sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur.
- ✓ Examiner l'immersion (DENIS2011)

Annexe 04 : les Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.(les Antibiotiques utilisés pour cette étude)

Tableau : Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité.

| Antibiotiques testés | Charge des disques | <i>E.coli</i> ATCC 25922 | <i>S.aureus</i> ATCC 25923 | <i>P.aeruginosa</i> ATCC 49226 |
|------------------------------|--------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| Amikacine | 30µg | 19-26 | 20-26 | 18-26 |
| Amoxicilline+Ac clavulanique | 20/10µg | 18-24 | ---- | ---- |
| Ampicilline | 10µg | 16-22 | 27-35 | ---- |
| Cefazoline | 30µg | 21-27 | ---- | ---- |
| Céfoxitine | 30µg | 23-29 | 23-29 | ---- |
| Céfotaxime | 30µg | 29-35 | 25-31 | ---- |
| Ceftazidime | 30µg | ---- | ---- | 22-29 |
| Ciproflowacine | 5µg | 30-40 | ---- | 25-23 |
| Colistine | 10µg | 11-17 | ---- | 11-17 |
| Clindamycine | 2µg | ---- | 24-30 | ---- |
| Erythromycine | 15µg | ---- | 22-30 | ---- |
| Fosfomycine | 200µg | 22-30 | ---- | Non déterminé |
| Gentamicine | 10µg | 19-26 | 19-27 | 16-21 |
| Imipeneme | 10µg | 26-32 | ---- | 20-28 |
| Oxacilline | 1µg | ---- | 18-24 | ---- |

| | | | | |
|-----------------------------|---------------|-------|-------|-------|
| Pénicilline | 10 μ g | ---- | 26-37 | ---- |
| Pipéracilline | 100 μ g | ---- | ---- | 25-33 |
| Tétracycline | 30 μ g | 18-25 | 24-30 | ---- |
| Tétrarcline | 75 μ g | ---- | ---- | 21-27 |
| Tétrarcline+Ac clavulanique | 75/10 μ g | ---- | --- | 20-28 |
| Tobromycine | 10 μ g | ---- | ---- | 19-25 |
| Vancomycine | 30 μ g | ---- | 17-21 | ---- |

hh/www.sante.dz/aarm /Standalisation de l'antibiogramme à l'échelle(médecine et humaine et vétérinaire) 6ème édition 2011

Table de lecture : Valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries. (les Antibiotiques utilisés pour cette étude)

| Antibiotique testés | Charge des disques | Diamètres critiques (mm) | | |
|------------------------------|--------------------|--------------------------|-------|------|
| | | R | I | S |
| Ampicilline | 10µg | ≤13 | 14-16 | ≥17 |
| Amoxicilline+Ac.clavulanique | 20/10µg | ≤13 | 14-17 | ≥18 |
| Céfalotine | 30µg | ≤14 | 15-17 | ≥18 |
| Cefoxitine | 30µg | ≤14 | 15-17 | ≥18 |
| Céfotaxime | 30µg | ≤22 | 23-25 | ≥26 |
| Impénème | 10µg | ≤19 | 20-22 | ≥23 |
| Gentamicine | 10µg | ≤12 | 13-14 | ≥15 |
| Ciprofloxacine | 5µg | ≤15 | 16-20 | ≥21 |
| Colistine | 10µg | ---- | ---- | ---- |

Table de lecture : Valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*. (les Antibiotiques utilisés pour cette étude)

| Antibiotiques testés | Charge des disques | Diamètres critiques (mm) | | |
|-----------------------------|--------------------|--------------------------|-------|----|
| | | R | I | S |
| Tétrarcline | µg | 14 | ---- | 15 |
| Tétrarcline+Ac clavulanique | µg | 14 | ---- | 15 |
| Pipéracilline | µg | 17 | --- | 18 |
| Ceftazidime | µg | 14 | 15-17 | 18 |
| Imipénème | µg | 13 | 14-15 | 16 |
| Amikacine | µg | 14 | 15-16 | 17 |
| Gentamicine | µg | 12 | 13-14 | 15 |
| Tobromycine | µg | 12 | 13-14 | 15 |
| Ciprofloxacine | µg | 15 | 16-20 | 21 |
| Colistine | µg | 10 | --- | 11 |






















Table de lecture : Valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus aureus*.(les Antibiotiques utilisés pour cette étude)

| Antibiotique | Charge des disques | Diamètres critiques (mm) | | |
|----------------|--------------------|--------------------------|-------|------|
| | | R | I | S |
| Pénicilline | 10µg | 28 | ---- | 29 |
| Oxacilline | 1µg | 10 | 11-12 | 13 |
| Cefoxitine | µ30g | 21 | --- | 22 |
| Céfoxitine | 30µg | 24 | ---- | 25 |
| Gentamice | 10µg | 12 | 13-14 | 15 |
| Erythromycine | 15µg | 13 | 14-22 | 23 |
| Clindamycine | 2µg | 14 | 15-20 | 21 |
| Vancomycine | 30µg | ---- | ---- | ---- |
| Teicoplanine | 30µg | 10 | 11-13 | 14 |
| Tétracycline | 30µg | 14 | 15-18 | 19 |
| Pristinamycine | 15µg | □19 | 19-21 | 22 |

hh/www.sante.dz/aarm /Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle(médecine et humaine et vétérinaire) 6ème édition

Remarque: Le reste des antibiotiques que j'ai utilisé sur les notice d'utilisation des antibiotiques dans la boîte d'antibiotiques

Annexe 05 : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée

| TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISEE API 20E | | | | | |
|---|---|---|--|---|---|
| Microtube | Substrat | Caractère recherché | Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire) | Résultat + | Résultat - |
| ONPG | Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside | β -galactosidase | Lecture directe |  |  |
| ADH LDC ODH | Arginine Lysine Ornithine | Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase | Lecture directe |  |  |
| CIT | Citrate | Utilisation du citrate | Lecture directe |  |  |
| H ₂ S | Thiosulfate de sodium | Production d'H ₂ S | Lecture directe |  |  |
| URE | Urée | Uréase | Lecture directe |  |  |
| TDA | Tryptophane | Tryptophane désaminase | Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer |  |  |
| IND | Tryptophane | Production d'indole | Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs |  |  |
| VP | Pyruvate de sodium | Production d'acétoïne | Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol |  |  |
| GEL | Gélatine emprisonnant des particules de charbon | Gélatinase | Lecture directe |  |  |
| GLU à ARA | Substrat carboné | Utilisation de substrat carboné | Lecture directe |  |  |
| NO ₂ / N ₂ | Nitrates (NO ₃) | Nitrate réductase | Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif |  | |

الملخص

في دراستنا قمنا بعزل وتحديد ثلاثة أنواع من الجراثيم (إشريشيا كولي، بسودوموناس اريوجينوزا، ستافيلو كوك اورييس). حيث قمنا بجميع التحاليل لمعرفة أصل هذه السلالات، ثم قمنا باختبار مدى مقاومة هذه الجراثيم للمضادات الحيوية في مختبر علم الأحياء الدقيقة بمستشفى حكيم سعدان بسكرة، حيث سلطنا الضوء على حالة مقاومة للمضادات الحيوية للعينات ومقارنتها بالسلالة المرجعية (السلالة البرية)، وايضا قمنا بالمقارنة مقاومة المضادات الحيوية للعينات المأخوذة من أقسام الخاصة بالمستشفى و المستقبلية من خارجه.

من خلال دراستنا ودراسات سابقة لم نلاحظ أي مقاومة مكتسبة للسلالات المرجعية.

- ستافيلو كوك اورييس مقاومة للبينيسيلين و معظمها حساسة للفونكوميسين وجينتاميسين و تيكوبلانين .
- بسودوموناس اريوجينوزا مقاومة سيفتاديزيم وبييراكلين ، ومعظمها حساسة للإمبينام وأميكاسين و كوليستين
- إشيريشيا كولي مقاومة للمضاد الحيوي امبيسيلين والبينيسيلين وحساسة لمضادات الحيوية الإمبينام وأميكاسين وجينتاميسين

الكلمات المفتاحية : المقاومة الحساسة . المضادات الحيوية.السلالات البرية .المضادات الحيوية . الجراثيم.

Résumés

Dans notre étude nous avons isolées et identifier les souches *S. aureus* et *E.coli* et *P. aeruginosa*, ensuite nous avons déterminé le profil de résistance vis-à-vis des antibiotiques testés afin d'évaluer et mettre en évidence l'état de la résistance de ce groupe des germes dans l'EPH Hakim Saadan de Biskra.

Nous avons par la suite comparé la résistance de ces souches isolées avec celle des souches référence, puis une étude comparative de la résistance aux antibiotiques des souches isolées entre les prélèvements externes et les prélèvements internes dans l'hôpital Hakim Saadan. En globale; aucune résistance acquise a été observé les souches référence.

-*S.aureus* résiste à la pénicilline et la plupart des souches sont sensibles à la VAN, TEC, GEN, CLI.

-*E.coli* résistent à l'AMP et AMC, et la plupart des souches sont sensibles à l'IPM et CIP et GNT.

-*P. aeruginosa* résistent à l'CAZ, PIP, et la plupart des souches sont sensibles à l'IPM, AMK, COL.

Les mots clés : Résistance. Sensibilité : Souche de référence : Antibiotique : Germes.

Abstract

In our study we isolated and identified strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, and then we determined the resistance profile against antibiotics tested in order to evaluate and highlight the state of the resistance of this group of germs in the EPH Hakim Saadan Biskra.

We then compared the resistance of these isolated strains with that of the reference strains and a comparative study of the antibiotic resistance of strains isolated externally and internally in Hakim Saadan Hospital. In global; no acquired resistance was observed the reference strains.

S.aureus are resistant to penicillin and most strains are sensitive to NPV, TEC, GEN, CLI A.

E.coli strains are resistant to AMP and AMC, and most strains are susceptible to IPM and CIP and GNT.

P. aeruginosa strains are resistant to CAZ, PIP, and most strains are susceptible to IPM, AMK, COL.

Key words: Resistance; Sensitivity; Reference strain; Antibiotic; Germs.