



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Larbi Ben M'hidi OumEl Bouaghi

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département De Science De la Nature Et de La Vie

Filière : Science Biologique

N° d'ordre :

N° de série :

MEMOIRE PRESENTE EN VUE DE L'OBSTINATION DU DIPLOME DE MASTER

Option : Microbiologie Appliquée

SOUS LE THEME

Caractérisation et profil de résistance de quelques souches commensales cutanées

Présenté par :

Bechegaoui Bariza

Benzoua Chahinez

Faregh Hadil Lina

Devant le jury :

- **Président : Mme Benslama. O** Université d'Oum EL Bouaghi
- **Encadreur : Mme Meradi.L** Université d'Oum EL Bouaghi
- **Examineur: Mme khanouchi N.CH** Université d'Oum EL Bouaghi

Année universitaire : 2022-2023

Remerciements

Le plus grand merci revient d'abord à « Dieu » qui, lui seul, nous, A guidé dans le bon chemin durant notre vie et qui nous a donné le

*Courage, la volonté, et la force pour élaborer ce travail de recherche. Nous remercions notre directrice de thèse madame **MERADI.L***

Qui a accepté avec toute modestie de nous encadrer, Malgré ses multiples charges, tout le long de ces années d'études.

Nous la remercions pour son aide, sa patience, ses compétences, Scientifiques, sa confiance qu'elle nous a accordée et surtout pour

Ses très grandes qualités humaines et sa gentillesse particulières et Ses conseils précieux qui ont conduit à l'achèvement ce travail.

Qu'elle trouve ici l'expression notre plus profond respect et nos Profondes gratitude.

Nous remercions vivement les membres de jury :

*Madame **BENSLAMA OUIDED**, nous sommes très honorées que vous Acceptez la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici L'expression de nos sincères remerciements et soyer assuré de notre Profonde gratitude.*

*Madame **KHANOUCHE N.C.H**, votre revenu en tant*

Qu'examinatrice nous honore, nous vous sommes très Reconnaisantes et nous vous adressons nos vifs remerciements.

Un grand remerciement pour tous nos enseignants pour leurs Contributions dans notre cursus universitaire, dans le département

*De Microbiologie, Université d'Oum El Bouaghi. Un très grand merci, à Médecin Microbiologiste **SERRAR HINDA** à l'ensemble du personnel du laboratoire et*

*Tous les employeurs de l'hôpital **MOHAMED BOUDIEF** et la **MATERNITE de OUM EL BOUAGHI**, et Librairie El Adib El Arabi.*

Pour leurs aides, leurs conseils et pour leurs complicités. Nous remercions également tous ceux qui ont contribué de prêt ou De loin à la réalisation de notre mémoire.



Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À l'homme mon précieux offre du dieu,

Ecole de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études et à mis à ma disposition tous les moyens nécessaire pour que je réussisse, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me Donner l'aide et à me protéger : Mon cher père Djamel

À la femme qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui n'a jamais dit non âmes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi : ma adorable mère Alima.

À ma chère soeur et son mari et mon adorable frère et sa femme qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études,

À mes merveilleux neveux : Hanin, Djassem, Djoud qui m'ont procuré la joie et le bonheur que dieu les protégés.

À toute ma grande famille ; mes tantes, mes oncles mes cousins et mes voisins : avec toute mon affection et mes meilleurs souhaits de bonheur et de santé.

À mes chères amies : Hadil, Doudi, Afaf, Anfel, Asma, Amira, Hadil, Hadil, Omniya et Ritedj vous m'avez toujours soutenu, encouragé et aidé, merci beaucoup pour tout ce que vous avez fait pour moi, pour votre présence. Je vous adore.

Sans oublier mes binôme Liza et Khawla pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Hadil



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude à tous celui qui a sacrifié pour m'offrir les conditions propices à ma réussite :

À ma mère, à qui je dois la réussite, pour l'éducation qu'elle m'a prodigué ;

Avec tous les moyens et au prix de tous les sacrifices qu'elle a consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'elle m'a enseigné depuis mon enfance.

À l'âme de mon père

À mes frères et mes sœurs et toute ma famille avec tous mes sentiments

De respect, d'amour, de gratitude et de reconnaissance pour tous mes enseignant.

Et tout qui m'aide et compulse ce Modesto travail.

En fin je remercie mes binômes Lydia et khawla.

Liza



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

A mon très cher père, pour ses encouragements, son soutien, surtout pour sa patience.

A la prunelle de mes yeux Aridj

A mes chers frères : Areslen et Chemss Eddine et mes beaux-frères : Bilel et Nadhir.

A mes sœurs : Rayan, Nour Djihène et Khawla.

A mes neveux : Racim et Ratyl.

Pour mes papillons : Djawhara, Liza, Lydia, Souhila, Hadil, Asma et Hadil Kadi.

A tous les employeurs de Laboratoire d'analyse médicale Maternité et EPH Mouhamed Boudiaf.

A toute ma famille et mes ami(e)s.

Et tout qui m'aide et compulse ce modeste travail.

Chahinez

RESUME

Résumé

Une étude de 30 échantillons de flore cutanée commensale sur les mains, visant à réaliser une description phénotypique de certaines des souches obtenues et à déterminer leur niveau de sensibilité, a montré la présence de 62,5% de *Staphylococcus aureus* à Gram positif et à coagulase négative et 37,5% des bacilles à Gram négatif. La résistance de toutes les souches isolées à certains antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu Mueller-Hinton. Les résultats de cette étude ont montré que *Staphylococcus aureus*, présentait une résistance à la bêta-lactamine (Pénicilline, 87,5% Oxacilline 87%, Céfotaxime 62%), (Lincomycine / Erythromycine 25%), (kanamycine 62%) et à Carbapénème (Imipénèm 25%)

Comme pour les Staphylocoques à coagulase négative, résistants à la bêta-lactamine (Pénicilline 86%, Oxacilline 71%, Céfoxitine 57%) (Erythromycine / kanamycine 71 %), (Lincomycine 57%), (Imipénèm 14%). Les bacilles à Gram négatif, en particulier *E. coli*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Enterobacter* et *Pseudomonas* ont une résistance élevée de 100 % à l'amoxiclav et aux Céphalosporines (Céfazoline, Céfixime, Céftazidime, Céfuroxime) *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp* présentent une résistance de 100 % à l'aztréonam et la ciprofloxacine et la résistance de 100% à l'imipénem pour *Pseudomonas*

Le taux de résistance de la flore commensale cutanée est alarmant.

Mots clés : Microbiote cutané commensale, résistance, Staphylocoques, Entérobactéries, Antibiotiques.

الملخص

أظهرت دراسة 30 عينة للفلورا الجلدية المتعايشة على اليدين الهدف منها إجراء وصف مظهري لبعض السلالات المتحصل عليها وتحديد مستوى حساسيتها، وجود 62.5% مكورات عنقودية موجبة الجرام ذهبية وسالبة التخثر و 37.5% عصيات سالبة الجرام. تم تحديد مقاومة جميع السلالات المعزولة لبعض المضادات الحيوية بطريقة الانتشار في وسط Mueller-Hinton حيث أظهرت نتائج هذه الدراسة أن المكورات العنقودية الذهبية، تظهر مقاومة للبيتالاکتامين (87.5% بنسلين، 87% أوكساسيلين، 62% سيفوكسيم) كاربابينيم (25% إيميبينيم) لينكوميسين و إريثروميسين (25%) كاناميسين (62%) أما بالنسبة للمكورات العنقودية السالبة التخثر، مقاومة للبيتالاکتامين (بنسلين 86%، أوكساسيلين 71%، سيفوكسيتين 57%) (إريثروميسين / كاناميسين 71%)، (لينكوميسين 57%)، (إيميبينيم 14%). العصيات سالبة الجرام على وجه الخصوص *E.coli*، *Klebsiella*، *Acinetobacter*، *Enterobacter* و *Pseudomonas* لديها مقاومة عالية بنسبة 100% لأموكسيكلاف وسيفالوسبورين (سيفازولين، سيفيكسيم، سيفتازيديم، سيفيروكسيم) تُظهر *Pseudomonas sp* و *Acinetobacter sp* مقاومة بنسبة 100% لكل من ازتريونام و سيبروفلوكساسين وفي دراستنا مقاومة *Pseudomonas* للإيميبينيم بنسبة 100% نتائج دراستنا تدق ناقوس الخطر حول مقاومة الفلورا المتعايشة للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: الكائنات الحية الدقيقة الجلدية المتعايشة، المقاومة، المكورات العنقودية، البكتيريا

المعوية المضادات الحيوية.

RESUME

ABSTRACT

A study on 30 samples of commensal flora on hands, whose purpose—the study's—was to give a physical description of some of the strains and to determine the level of their sensitivity, the existence of 62.5% gram-positive-negative-stain *Staphylococci aureus*, and 37.5% gram-negative bacilli. All the strains' level of resistance to some antibiotics was identified through a medium diffusion method (Mullar Hinton). The results of this study have shown that the *Staphylococci aureus*, show resistance to beta-lactamine (87.5 % Penicillin, 87% Oxacilline, 62% Cefoxim), carbapenem (25% Imipenem), Lincomycin and Erythromycin (25%), and Kanamycin (62%). While the coagulation negative *Staphylococci*, showed resistance to beta-lactamine (86 % Penicillin, 71% Oxacilline, 62% Cefoxim/ Cefoxitin/ Kanamycin 71%), Lincomycin 57%, 14% Imipenem. The gram negative *Enterobacteriaceae*, particularly *E.coli* , *Klebsiella* , *Acinetobacter* , *Enterobacter*, and *Pseudomonas*, have a strong resistance towards with a percentage of 100% towards Amoxiclav and cephalosporin (Cephazolin, Cefixime, Ceftazidime, Cefuroxime). Both *Pseudomonas sp* and *Acinetobacter sp*, show 100% resistance to both Aztreonam and Ciprofloxacin. Also in this study, *Pseudomonas*' resistance to Imipenem is 100%. This study draws attention to the threat of commensal flora's resistance to antibiotics.

Keywords :Commensal skin microbiota, Resistance ,*Staphylococci*, *Enterobacteriaceae*, Antibiotics.

TABLES DES MATIERS

TABLES DES MATIERS

<i>Remerciements</i>	<i>I</i>
<i>Dédicaces</i>	<i>II</i>
<i>Dédicaces</i>	<i>III</i>
<i>Dédicaces</i>	<i>IV</i>
<i>Resume</i>	<i>V</i>
TABLES DES MATIERS	VIII
LISTE DES TABLEAUX	XI
LISTE DES FIGURES	XII
LISTE DES ABREVIATIONS	XIV

Introduction

Introduction	1
--------------------	---

Synthèse bibliographique

Chapitre I : la flore commensale

I-La flore Commensale.....	4
1-Déffinition :.....	4
2-Les différents types de la flore commensale :.....	4
II-La flore commensale cutanée	4
1-la flore cutanée des mains :.....	4
1-1-Flore cutanée résidente :	5
1-2-Flore cutanée transitoire :	6
2-Les bactéries résidentes et transitoires isolés dans cet étude sont :	6
2-1- <i>Staphylococcus aureus</i> :	6
2-2- <i>Staphylococcus Epidermidis</i>	7
2-3-Les levures :.....	7
2-4- <i>Escherichia coli</i> :.....	8
2-5- <i>Klebsiella</i>	8
2-6- <i>Pseudomonas</i>	9
2-7- <i>Enterobacter</i>	9
2-8- <i>Acinetobacter</i> :.....	10

TABLES DES MATIERS

Chapitre II : les antibiotiques

I-les antibiotiques	12
1-Définition	12
2-Mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques.....	12
3-Facteurs génétiques de la résistance.....	12
3-1-La résistance chromosomique :	12
3-2-La résistance plasmidique :.....	12
4-Spectre bactérienne	12
5-Classification des antibiotiques :.....	13
6-Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques :.....	15
<i>Partie expérimentale</i>	16
<i>Matériels et méthodes</i>	17
I-Type, lieu et période de l'étude :	18
II-Population cible :.....	18
III- Outils de recherche :	18
III-1-Matériels et réactifs :	18
III-2-Prélèvements des échantillons :.....	18
III-3-Culture et isolement :.....	19
III-4-Identification :.....	19
III-5-Etude de la sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques :.....	20
III-5-1-Identification bactérienne :.....	20
III-5-2- Identification biochimique	23
III-5-3- Étude de la sensibilité aux antibiotiques :	25
<i>Résultats et discussions</i>	
Résultats	Erreur ! Signet non défini.
I- Répartition de la flore commensale cutanée des mains	Erreur ! Signet non défini.
I-1 Répartition de la flore résidante et transitoire analysées	Erreur ! Signet non défini.
I-1-1 Flore résidante	Erreur ! Signet non défini.
I-1-2 Flore transitoire	Erreur ! Signet non défini.
II. Etude de l'évolution de Profil de résistance des bactéries.....	Erreur ! Signet non défini.
II-1-Profil de résistance de la flore résidante	Erreur ! Signet non défini.
II-1-1- profil de résistance de Staphylocoque à coagulase (+).....	Erreur ! Signet non défini.

TABLES DES MATIERS

I-1-2- Profil de résistance de Staphylocoque à coagulase (-).....	Erreur ! Signet non défini.
II-2-Profil de résistance de la flore transitoire.....	Erreur ! Signet non défini.
II-2-1 Profil de résistance de <i>Escherichia coli</i>	Erreur ! Signet non défini.
II-2-2- Profil de résistance de <i>klebsiella.sp</i>	Erreur ! Signet non défini.
II- 2-3- Profil de résistance d' <i>Acinetobacter sp</i>	Erreur ! Signet non défini.
II- 2-4- Profil de résistance d' <i>Enterobacter Sp</i>	Erreur ! Signet non défini.
II- 2-5 profil de résistance de <i>Pseudomonas sp</i>	Erreur ! Signet non défini.
III-Aspect macroscopique de quelques souches isolées :.....	Erreur ! Signet non défini.
IV-Aspect microscopique de quelques souches isolées après Coloration de Gram :.....	Erreur ! Signet non défini.
V-identification biochimique :	Erreur ! Signet non défini.
VI-Résultats d'antibiogramme :	Erreur ! Signet non défini.
Discussion	Erreur ! Signet non défini.

Références bibliographiques

Annexes

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1:Classification des antibiotiques (Dr. Mohammedi.,2014)	13
Tableau 2: Les antibiotiques testes pour Staphylocoques sp.....	28
Tableau 3: Les antibiotiques testes contre les entérobactéries.....	28
Tableau 4: Nombre des souches des entérobactéries isolées	Erreur ! Signet non défini.

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Coupe transversale de la peau (https://microbiologiemedicale.fr)	5
Figure 2: Mode d'action des antibiotiques (J.L Mainardi)	13
Figure 3: Les différents mécanismes de la résistance aux antibiotiques (https://devsante.org)....	15
Figure 4: Les étapes de prélèvement.....	18
Figure 5: Les étapes d'isolement	19
Figure 6: Préparation d'un frotti pour une coloration de Gram.....	21
Figure 7: Les étapes de coloration de Gram	22
Figure 8:Préparation d'un inoculum (suspension bactérienne).....	26
Figure 9: Les étapes d'antibiogramme.....	27
Figure 10: Répartition de la flore commensale cutanée.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 11: Répartition de la flore résidante	Erreur ! Signet non défini.
Figure 12: Répartition de la flore transitoire.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 13: : Représentation graphique des pourcentages de résistance staphylocoque à coagulase positive aux antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 14 : Représentation graphique des pourcentages de résistance Staphylocoque à coagulase négative aux antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 15 : Représentation graphique des pourcentages de résistance d' <i>E.coli</i> aux antibiotiques	Erreur ! Signet non défini.
Figure 16: Représentation graphique des pourcentages de résistance de <i>Klebsiella</i> aux antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 17: Représentation graphique des pourcentages de résistance d' <i>Acinetobacter</i> aux antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 18 : Représentation graphique des pourcentages de résistance d' <i>Enterobacter sp</i> aux antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 19 : Représentation graphique des pourcentages de résistance de <i>Pseudomonas sp</i> aux antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 20:Aspect des colonies de.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 21:Aspect des colonies de Staphylocoque doré sur milieu Chapman	Erreur ! Signet non défini.
Figure 22: Aspect des colonies de levure sur milieu Sabouraud	Erreur ! Signet non défini.
Figure 23:Aspect des colonies d' <i>E.coli</i> sur milieu Hektoen	Erreur ! Signet non défini.
Figure 24:Aspect des colonies de <i>Klebsiella</i> sur milieu Hektoen.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 25:Aspect des colonies d' <i>Enterobacter</i> sur milieu Hektoen.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 26: Aspect des colonies d' <i>Acinetobacter</i> sur milieu Hektoen...	Erreur ! Signet non défini.

LISTE DES FIGURES

- Figure 27:Aspect des colonies de *Pseudomonas* sur milieu Hektoen.. **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 28:Observation microscopique de l'état frais d'une Levure objectif $\times 40$ **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 29 :Observation microscopique d'une Lévure après coloration de bleu de méthylène objectif $\times 100$ **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 30 : Observation microscopique de Staphylocoque objectif $\times 100$ **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 31 : Observation microscopique de *Klebsiella* objectif $\times 100$... **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 32 : Identification biochimique résultats d'une galerie classique (*Escherichia coli*).
..... **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 33:Résultats d'un antibiogramme (*Klebsiella*). **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 34 : Résultats d'un antibiogramme (Staphylocoque) **Erreur ! Signet non défini.**

LISTE DES ABREVIATIONS

- A T B : Antibiotique
AMC : Amoxicilline + acide Clavulanique
AK : Amikacine
AT : Aztréonam
CAZ : Céftazidime
CFM : Céfixime
CIP : Ciprofloxacine
CL : Colistine
CoNS : Staphylococcus à Coagulase négative
CTX : Céfotaxime
CXM : Céfuroxime
CZ : Céfazoline
E : Erythromycine
E - Coli : Escherichia coli.
G : Gentamicine
IMP : Imipénem
K : kanamycine
K. sp : klebsiella sp
L: Lincomycine
O : Oxacilline
P : Pénicilline
P.aeruginosa : Pseudomonas aeruginosa
RA : Rifampyicin
VA : Vancomycine
L P S :Lipopolysaccharide .
O N P G : Orthonitrophényl1-B-D-galactopyrannoside.
R M : Rouge de Méthyle.
T S I : Triple Sugar Iron.
U F C : Unité Forment Colonie
V P : Vosges –Proskauer .
LOS : Lipooligosaccharide

Introduction

Introduction

Nous devons souligner que chez toutes les espèces, la peau représente une interface entre l'organisme et le monde extérieur. Elle procure, à la fois, une barrière protectrice et abrite diverses communautés de microorganismes que l'on regroupe sous le nom de microbiote. L'hôte va ainsi évoluer en parallèle ou en association avec ces communautés bactériennes, virales, fongiques et parasitaires. On retrouve le microbiote sur toutes les parties du corps contenant un épithélium en contact avec l'environnement extérieur la peau, les voies respiratoires, l'appareil digestif et l'appareil urogénital. A côté des autres épithéliums, la peau est la plus défavorable à l'installation et au développement des microorganismes du fait de sa capacité à desquamer, de son pH, de la présence de nombreuses substances antimicrobiennes, de son humidité et de sa température plus basse due au contact direct avec l'extérieur (**Tabey.M., 2022**). A la naissance les bébés sont dépourvus de microorganismes néanmoins ils deviennent rapidement colonisés par une microflore dense et complexe venant de la mère et du milieu environnant. Un homme adulte héberge environ 10^{14} cellules bactériennes dans son tube digestif, sur sa peau et ces muqueuses, cette microflore peut être résidente (commensale) ou transitoire (saprophyte)(<http://tele-ens.univ-oeb.dz>).

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections et leur développement a révolutionné le traitement de ses maladies. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques. Cette situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier et le nombre de bactéries résistantes est sans cesse d'augmentation et nous assistons de plus en plus à l'émergence de nouvelles résistances (**Boukhatem.L., 2013**).

L'objectif de ce travail est de faire la caractérisation phénotypique de quelque souche commensale cutanés et leur profil de sensibilité aux antibiotiques afin de savoir si l'impact de ces derniers sur cette flore conditionne l'avenir de la résistance ?

Synthèse bibliographique

*Chapitre I : la flore
commensale*

I-La flore Commensale

1-Déffinition :

Les bactéries commensales sont présentes dans la flore normale des sujets en bonne santé, elles jouent un rôle protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes.

Certaines bactéries commensales peuvent provoquer une infection si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les staphylocoques cutanés à coagulase négatif provoquent des infections sur cathéter vasculaire et les *Escherichia coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante des infections urinaires (Michel et al.,2005)

2-Les différents types de la flore commensale :

Selon leur localisation, quatre grands types de flores commensales sont définis :

- ✓ La flore commensale cutanée qui réside au niveau de la peau.
- ✓ La flore commensale respiratoire qui réside dans les voies aériennes supérieures.
- ✓ La flore commensale génitale qui se situe au niveau des muqueuses génitales féminines.
- ✓ La flore commensale digestive qui réside dans l'appareil digestif.

(<https://digestion.ooreka.fr>).

II-La flore commensale cutanée

1-la flore cutanée des mains :

Cette flore se trouve sur les couches les plus superficielles de l'épiderme et sur la partie supérieure des follicules pileux et des conduits des glandes sébacées.

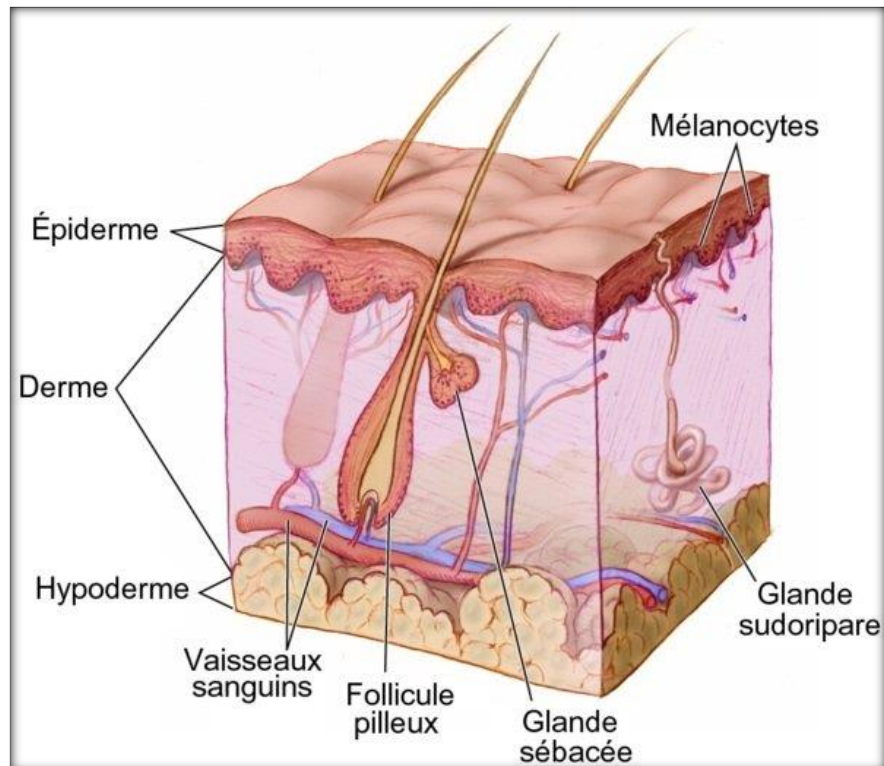


Figure 1: Coupe transversale de la peau (<https://microbiologiemedicale.fr>)

On distingue :

- ✓ La flore résidente constituée d'espèces présentes de façon prolongée voire permanente sur la peau.
- ✓ La flore transitoire composée d'espèces qui font un bref séjour cutané.

1-1-Flore cutanée résidente :

On y trouve essentiellement des bactéries à Gram positif. En effet, ces bactéries sont plus résistantes à l'absence d'humidité que les bactéries à Gram négatif. Les trois genres prédominants sont :

Staphylococcus (essentiellement *Staphylococcus epidermidis* mais aussi d'autres espèces coagulase négative).

Corynebacterium.

Propionibacterium(bactéries corynéformes anaérobies strictes).

Une levure lipophile appartient également à cette flore : *Malassezia furfur*.

Notons que cette flore résidente constitue une barrière efficace contre la colonisation par des microorganismes exogènes. Les corynébactéries lipophiles (*Propionibacterium acnes*) sécrètent des lipases dont l'activité libère des acides gras et donc acidifie le sébum.

La densité de la population microbienne varie selon les régions du revêtement cutané. Elle dépend de la densité des follicules pileux, des glandes sébacées et des glandes sudoripares.

C'est pourquoi, dans les régions humides du corps, telles que les aisselles, les plis inguinaux, le périnée, la densité de la population microbienne peut atteindre 10^3 à 10^5 UFC/cm². En revanche, dans les régions sèches, on dénombre entre 10^2 à 10^3 UFC/cm².

Pour cette même raison, l'occlusion par pansement peut élever ces chiffres à 10^7 /cm² en favorisant la sudation locale.

1-2-Flore cutanée transitoire :

Les micro-organismes de la flore transitoire ne sont pas adaptés aux conditions écologiques de l'épiderme. Ainsi, ils ne peuvent s'y multiplier et leur séjour à la surface de l'épiderme est bref.

Cette flore se compose de bactéries provenant :

De l'environnement extérieur : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, ...

D'un portage digestif (entérobactéries, entérocoques,) ou ORL (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*...)

Cette flore instable se transmet facilement d'individu à individu. Elle est responsable d'infections croisées à transmission manuportée à l'hôpital.

(<https://microbiologiemedicale.fr>)

2-Les bactéries résidentes et transitoires isolés dans cette étude sont :

2-1-Staphylococcus aureus :

Staphylococcus aureus ou *S.aureus* ou encore Staphylocoque doré est un coccus Gram positif, présenté en amas ou "grappe de raisin " et c'est l'espèce le plus pathogène du genre Staphylocoque .

15% à 30% des individus sont porteurs sains et *S.aureus* se révèle donc comme un pathogène opportuniste dans certaines circonstances mais n'est pas considéré comme commensal à proprement parlé contrairement à *Staphylococcus épidermidis*.

Cette bactérie a une porte d'entrée essentiellement cutanée et les infections que l'on peut rencontrer en officine de ville, se traduisent par les infections cutanées suppuratives à type de panaris ou de furoncles par exemple, par des otites ou sinusites mais aussi des intoxications alimentaires.

La transmission est inter humaine par contact direct ou via une source environnementale.

(Docteur clic.,2019)

2-2-Staphylococcus Epidermidis

Staphylococcus epidermidis est une bactérie cocci à coagulase négative et à Gram positif qui forme des grappes. C'est aussi un anaérobie facultatif catalase positif. Ce sont les espèces de *Staphylococcus* à coagulase négative les plus courantes qui vivent sur la peau humaine. Dans ses environnements naturels tels que la peau ou les muqueuses humaines, ils sont généralement inoffensifs. **(Harmory BH et al.,1987)**, Plusieurs fois, ces espèces de staphylocoques à coagulase négative envahissent le corps humain via des prothèses, auquel cas un petit nombre de microbes descendent de la prothèse jusqu'à la circulation sanguine. Les bactéries peuvent alors produire des biofilms qui aident à les protéger de la défense de l'hôte ou des antimicrobiens. **(Zheng CX et al.,2018)**

La croyance est que *Staphylococcus epidermidis* est l'une des causes les plus courantes d'infection nosocomiale, avec des taux d'infection aussi élevés que ceux de *Staphylococcus aureus*. **(Lax S et al.,2015)**

2-3-Les levures :

Sont des champignons microscopiques unicellulaires de forme ovoïde ou sphérique habituellement commensaux de la peau et des muqueuses, Elles ne deviennent pathogènes que dans certaines conditions (on parle de pathogènes opportunistes) et se reproduisent par bourgeonnement. Selon les espèces, ce bourgeonnement peut s'allonger et donner un pseudofilament **(CHABASSE et al., 2003)**.

Il s'agira en grande majorité des candidoses (80% des cas), mais retrouvera également des malassezioses et des trichosporonoses **(JORIS., 2013)**.

En général, les levures se multiplient entre 20 et 40°C et meurent à des températures allant de 50 à 70°C. Cependant, elles se conservent à 0°C et croissent avec un potentiel hydrogène (pH) entre 3 et 8. Le doublement de la population est d'environ 1 h 30m (min). Les espèces du genre *Candida* se reproduisent en grande majorité selon un processus asexué (CHABASSE et al., 2006)

Lors de la culture de ce *Candida*, on observe des colonies blanches, crémeuses, lisses sur milieu Sabouraud. Certaines colonies sont plus rugueuses. Après quelques jours de culture, on observe des filaments qui s'enfoncent dans la gélose (DATRY A ; SEHRYNE S.,2015)

2-4-*Escherichia coli* :

E.coli ou colibacille est une bactérie à Gram négatif en forme de bâtonnet, mobile, ciliature péritriche, culture sur milieu sélectif /indicateur Lactose positif. Elle appartient à la famille des Entérobactéries (kaper et al., 2004)

L'habitat normal est le tractus intestinal de l'homme et de l'animal à sang chaud, pour cette raison c'est un indicateur de contamination fécale (Fritz et al .2017)

E.Coli est une bactérie commensale c'est à dire qu'elle vie au sein de son hôte mais elle est aussi pathogène et donc associée à des pathologies diverses chez l'homme et l'animal à type de diarrhées, gastro-entérites, infections urinaires, méningites, septicémies ...

La transmission se fait par contact direct ou via des contaminations fécales. (Soza TH et al., 2017)

Les bactéries était initialement sensible à beaucoup d'antibiotiques. Mais l'acquisition de résistances est fréquente, surtout en milieu hospitalier (Naciel et Vildé .,2005)

2-5-*Klebsiella*

Ce sont des bactéries Gram négatif, immobiles en forme de bâtonnet et généralement encapsulées qui appartiennent à la famille des entérobactéries commensales de l'intestin et des voies respiratoires de l'homme.

Sur les milieux classiques d'isolement pour les entérobactéries (Drigalski,EMB,Hektoen, Mac Conkey), les colonies de *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* sont lactose positives, bombées, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine, d'un diamètre de 3 à 4 mm en 18-24h à 37°C (Kone Komba,2010).

K.pneumoniae est naturellement résistante au aminopénicillines (Amoxicilline, Ticarcilline) par production d'une B-lactamase .

De nombreuses souches de *K. pneumoniae* résistent aux inhibiteurs des beta lactamases de classe A de type IRT insensibles à l'acide clavulanique. (**Heaggman, 1997**)

La virulence de la bactérie est fournie par plusieurs facteurs qui peuvent entrainer une infection et une résistance aux antibiotiques tels que les adhésines, les sidérophores, les polysaccharides capsulaires, les lipopolysaccharides de surface cellulaire (LPS) et les toxines. (**Janda, Abbott.,2006**)

2-6-Pseudomonas

De la famille des *Pseudomonadaceae*, est un germe opportuniste, chef de file des bacilles à Gram négatif non fermentants, aérobie stricte, il se développe plus facilement dans un environnement humide.

La peau saine, lipophile, se colonise mal par la bactérie à l'inverse des muqueuses en présentant une ambiance hydrophile (respiratoire, digestive, urinaire). De nombreux facteurs peuvent se conjuguer lui attribuant une virulence : facteurs d'adhérence (pili, adhésine) de multiplications (Sidérophilines, alginates), d'infection et lésionnels (cytokines, exotoxine A et protéases actives sur les tissus pulmonaires vasculaires et oculaires)

Pseudomonas est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques, il possède également la capacité d'acquérir très rapidement d'autres résistances soit par mécanismes enzymatiques (protéase, betalactamases à spectre élargi [BLSE], type céphalosporinases, imipenemase). (**An Burns Fire Disasters., 2008**)

2-7-Enterobacter

C'est un genre de bacille à Gram négatif anaérobie facultatif, mobile grâce à un flagelle péritriche appartient à la famille des Entérobactéries. Il peut causer de nombreux types d'infections tel que les infections nosocomiales et considéré comme un pathogène opportuniste. (**Hart.,2006**)

Les espèces du genre *Enterobacter* se trouvent souvent dans l'environnement (sol, eau et eaux usées) (**Farmer, Boatwright et janda., 2007**)

Colonisent principalement le tractus gastro-intestinal inférieur des humains et des animaux environ 1000 cellules sont considérées comme une dose infectieuse

La transmission se fait par contact direct ou indirect des surfaces muqueuses avec l'agent infectieux (**Hart.,2006**).

Les espèces du genre *Enterobacter* sont résistantes à l'ampicilline, aux céphalosporines de première et de deuxième génération et à la céphalotine (**Russo.T.A etJohnson.J.R., 2008**)

2-8-Acinetobacter :

C'est un genre de bactéries à Gram négatif avec un métabolisme aérobie strict. C'est-à-dire sans fermentation du glucose, cette bactérie se présente sous la forme d'un bacille cocoïde, immobile à cause de l'absence de flagelle. Le terme *Acinetobacter* provient du grec *acineto* qui signifie immobile.

Les bactéries *Acinetobacter* se trouvent dans différents milieux : sur la peau, dans le sol, l'eau et sur les végétaux. Elles peuvent faire partie de la flore buccale et fécale, sont cultivables en laboratoire et ce genre comprend différentes espèces dont *Acinetobacter baumannii* et *Acinetobacter chlcoaceticus* qui peuvent causer des infections nosocomiales.

Certaines souches d'*Acinetobacter baumannii* sont résistantes à la plupart des antibiotiques beta lactamine. La bactérie *Acinetobacter* est présente dans l'environnement et ne cause pas de pathologie chez des personnes en bonne santé mais elle favorise des infections graves chez des patients fragilisés comme des septicémies et des pneumopathies potentiellement mortelles. (<https://www.Futura.sciences.com>)

Chapitre II : les antibiotiques

I-les antibiotiques

1-Définition

Les antibiotiques sont définis comme des agents antibactériens, des composés naturels ou synthétiques inactivant les micro-organismes spécifiques à faibles concentration et qui sont capables d'inhiber leurs croissances ou les Tuer. (Ola., 2010)

2-Mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques

Certaines espèces bactériennes sont résistantes à quelques antibiotiques de manière innée (ou naturelle) le caractère de la résistance dans ce cas est porté sur le chromosome et l'on dénomme l'intrinsèque. Par contre nous constatons régulièrement que les bactéries initialement sensibles à un antibiotique deviennent résistantes, ce changement dû à une modification génétique soit par mutation, soit par acquisition de matériel génétique (un plasmide) à l'action des antibiotiques. On parle alors de résistance acquise (Yvon., 2009)

3-Facteurs génétiques de la résistance

3-1-La résistance chromosomique :

Elle est toujours liée à des mutations de l'ADN bactérien lors de la réplication, ces mutations chromosomiques sont héréditaires et réversibles rare et spontanées.

3-2-La résistance plasmidique :

Ce type de résistance est très fréquente présente 90 % de résistance acquise qui se traduit par la production des enzymes spécifiques pour inhiber ou bloquer l'activité de l'antibiotique. (Yvon, 2009)

4-Spectre bactérienne

Les antibiotiques agissent à l'échelleon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie.

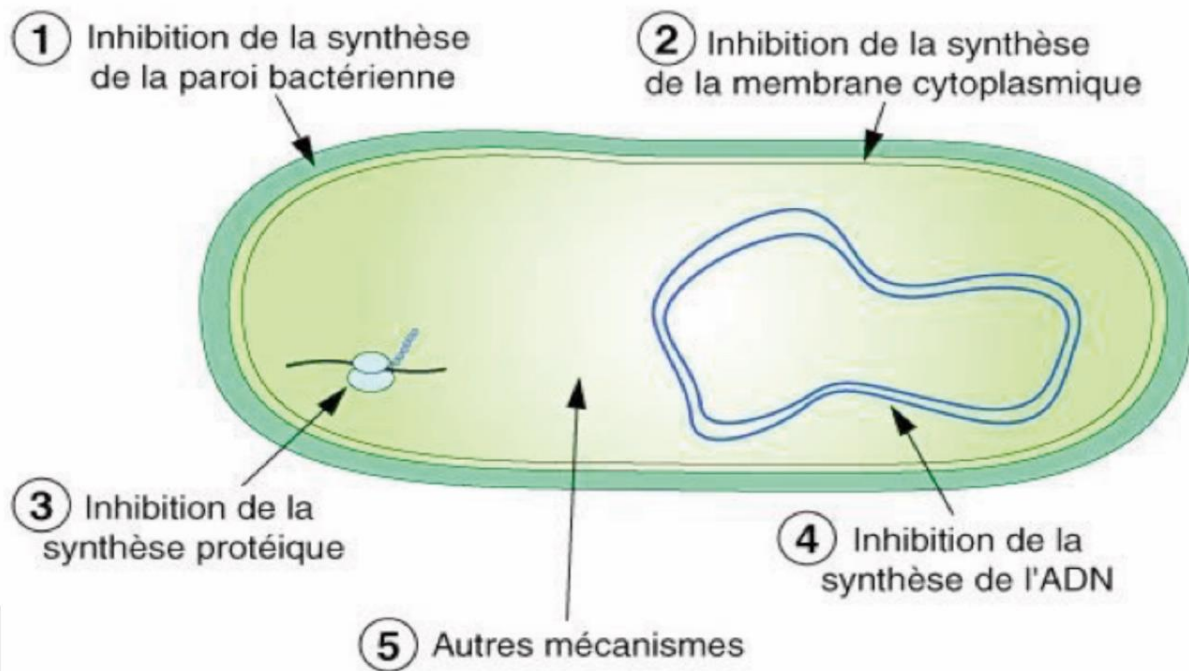


Figure 2: Mode d'action des antibiotiques (J.L Mainardi)

5-Classification des antibiotiques :

Le tableau 1. Présente un résumé de classification des antibiotiques

Tableau 1:Classification des antibiotiques (Dr. Mohammedi.,2014)

Familles	Sous familles	Exemples de molécule	Mode d'action
B-lactamines	Pénicillines Céphalosporine	- Groupe A : Ampicilline - Groupe M : Oxacilline Céfalotine 1 ^{ère} génération Ceftriaxone 3 ^{ème} génération	Blocage de la synthèse des constitutions de la paroi
Aminosides	/	Nétilmicine Gentamicine	Blocage de la synthèse des protéines
Tétracyclines	/	Tétracycline	Blocage de la synthèse des

CHAPITRE II : LES ANTIBIOTIQUES

		Lymécycline	protéines
Macrolides	/	Erythromycine Lincomycine	Blocage de la synthèse des protéines
Phénicoles	/	Chloramphénicol Thiomphénicol	Blocage de la synthèse des protéines
Polypeptides	/	Colistine Bacitracine	Destruction membranaire
Nitrofuranes	/	Nitrofurfoline Nitrofurantoine	Blocage de la synthèse des acides Nucléiques
Quinolones	Quinolones Fluoroquinolones	Acide nalidixique Acide oxolinique Ciprofloxacine Norfloxacine	Blocage de la synthèse des acides Nucléiques
Nitroimidazoles	/	Métronidazole Trinidazole	Blocage de la synthèse des acides Nucléiques
Sulfamides	/	Sulfadiazine Sulfadoxine	Blocage de la synthèse des protéines

6-Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques :

La figure 03 présente les mécanismes de résistance aux antibiotiques :

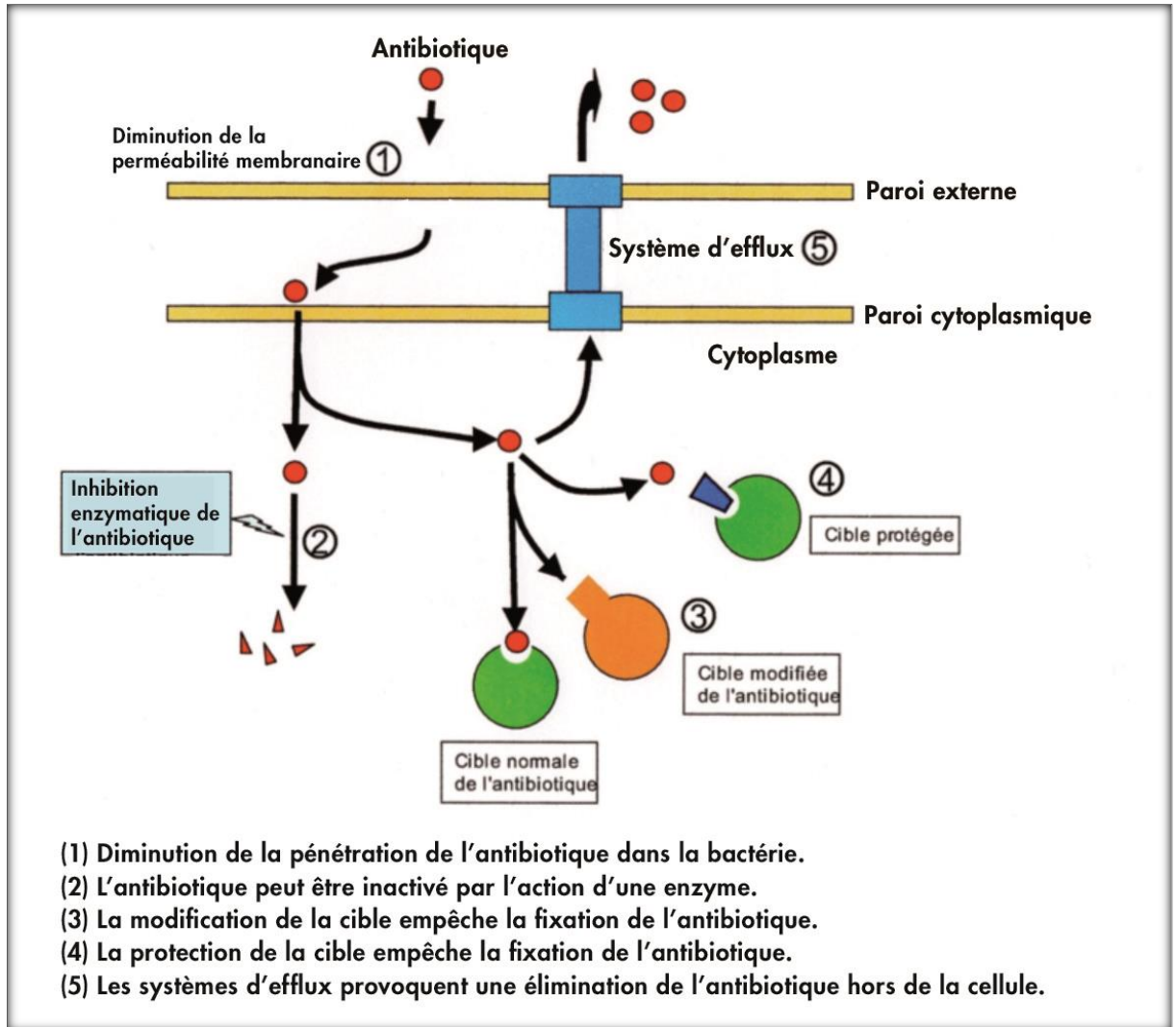


Figure 3: Les différents mécanismes de la résistance aux antibiotiques

<https://devsante.org>

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

MATERIELS ET METHODES

I-Type, lieu et période de l'étude :

Il s'agit d'une étude bactériologique réalisée au niveau de laboratoire de EPH Mouhamed Boudiaf et de laboratoire universitaire l'Arbi Ben Mhidi, dès le 06/03/2023 jusqu'à la fin du mai, cette étude est la première réalisée dans notre faculté pour se faire une idée sur le degré de sensibilité aux antibiotiques chez quelques souches de flore commensale cutanée.

II-Population cible :

Notre étude porte sur l'analyse de 30 prélèvements des mains des sujets sains, leur âge varie entre 4 et 50 ans, dont dix personnes leur âge est de 4 et 12 ans, la deuxième dizaine entre 20 et 30 ans et dernière dizaine entre 30 et 50 ans.

III- Outils de recherche :

III-1-Matériels et réactifs :

La liste complète des réactifs et milieux utilisés dans cette étude est présentée dans l'annex.

III-2-Prélèvements des échantillons :

Les prélèvements ont été réalisés par la méthode d'écouvillonnage qui consiste à frotter les mains à l'aide d'un écouvillon préalablement humidifié dans l'eau physiologique stérile.

L'écouvillon est réintroduit immédiatement dans un Bouillon nutritif en coupant le bâtonnet.

Les prélèvements ont été acheminés au laboratoire pour incuber à 37°C/24h. (François Denis.,2016)



Figure 4: Les étapes de prélèvement

MATERIELS ET METHODES

III-3-Culture et isolement :

Faire un ensemencement sur les milieux de cultures sélectifs :

Gélose Chapman pour les cocci Gram positif.

Gélose Hektoen et Mac Conkey pour les entérobactéries.

Milieu King A et B pour *Pseudomonas*.

Gélose Sabouraud pour les levures et les champignons.

L'ensemencement effectué par la technique des cadrans.

L'incubation des boîtes à 37°C pendant 24 h.



Figure 5: Les étapes d'isolement

III-4-Identification :

Réalisation d'une observation microscopique à l'état frais et une coloration de Gram pour les colonies bactériennes et une coloration de bleu méthylène pour les levures

Réalisation des tests biochimiques pour l'identification des entérobactéries (TSI, Citrate de Simmons, Mannitol mobilité, Urée Indol, test respiratoire, test de voie fermentative et test ONPG) et pour les Cocci Gram positif (Test catalase et coagulase).

La lecture de galerie biochimique, détermination du germe et faire de l'antibiogramme.

III-5-Etude de la sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques :

III-5-1-Identification bactérienne :

❖ Examen macroscopique :

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.

Les éléments d'identification macroscopiques sont :

- 1- La forme des colonies : rondes, irrégulières... etc.
- 2- La taille des colonies par la mesure du diamètre.
- 3- La couleur de la colonie et l'opacité (opaque, translucide ou transparente).
- 4- L'aspect : colonie lisse, rugueuse ou muqueuse.
- 5- L'odeur dégagée par l'ensemble de la culture.
- 6- L'adhérence appréciée par raclage à l'aide de l'anse de platine. (**Mergoud et Belmessikh**)

❖ Examen microscopique :

➤ Examen à l'état frais :

C'est un examen qui se fait entre lame et lamelle.

- 1- Déposer une goutte d'H₂O sur la lame.
- 2- Prélever une colonie avec une pipette pasteur stérile.
- 3- Déposer sur la goutte, mélanger.
- 4- Poser lamelle. (**François Denis.,2016**)

➤ Examen après coloration :

• Coloration de Gram :

Faire un frottis :

- Nettoyer une lame à l'alcool.
- Déposer une goutte d'H₂O sur la lame.
- A l'aide d'une pipette pasteur stérile prélever une colonie en mettant sur la goutte.
- Frotter la pipette sur la lame stérile.
- Laisser sécher à l'air.

MATERIELS ET METHODES

- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme du bec bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

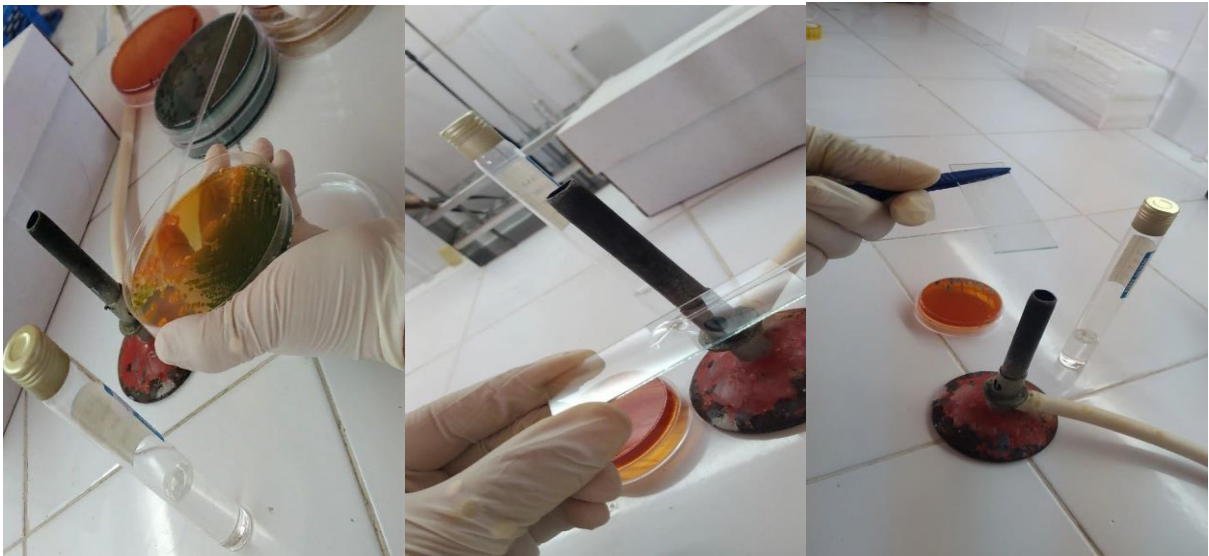


Figure 6: Préparation d'un frotti pour une coloration de Gram

Coloration :

- 1- Déposer quelques gouttes de solution de Violet de Gentiane sur le frottis fixé. Laisser agir 1 minute (le violet colore le cytoplasme des bactéries)
- 2- Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes.
- 3- Déposer quelques gouttes de Lugol sur le frottis (le lugol permet de fixer le violet dans les bactéries), laisser agir 1 minute.
- 4- Inonder la lame par solution de décolorant (alcool) 15 seconde.
- 5- Rincer à la l'eau pour arrêter la décoloration.
- 6- Recouvrir la lame de Fuchsine basique ou « Safarine » 30 secondes.
- 7- Laver la lame dans un jet d'eau douce et indirecte de l'eau du robinet jusqu'à ce que qu'aucune couleur n'apparaisse dans l'effluent, puis sécher avec du papier absorbant.
- 8- Observer les résultats de la procédure de coloration sous immersion. Examiner au microscope, objectif x 100 (**Nathan ;2019**)

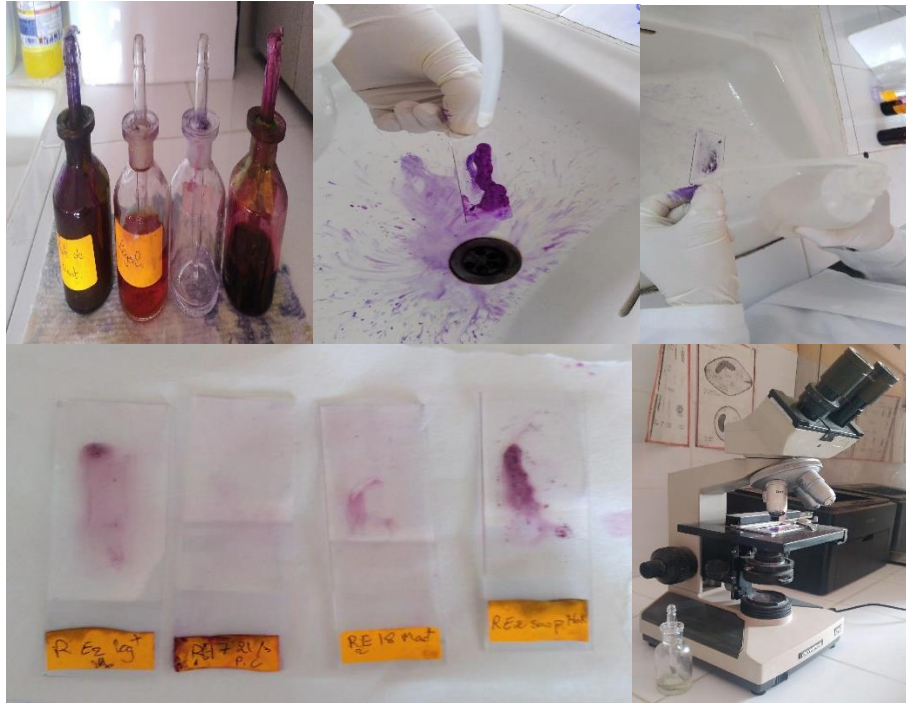


Figure 7: Les étapes de coloration de Gram

- **Coloration de bleu de méthylène :**

-Faire un frottis des bactéries sur une lame propre et sèche : avec une anse on étale doucement un peu de suspension bactérienne sur le milieu de la lame.

-Sécher.

-Fixer à l'alcool et rincer à l'eau, ou fixer à la flamme en passant la lame trois fois dans la flamme du bec Bunsen réglé en flamme éclairante (virole fermée).

-Recouvrir d'une solution de bleu de méthylène pendant une minute.

-Rincer et sécher entre deux papiers-filtres.

-Eliminer l'humidité résiduelle au-dessus de la veilleuse du bec Bunsen.

Observation

Les bactéries sont tuées, fixées sur la lame et colorées. Condensateur monté jusqu'à la lame si le microscope le permet. Diaphragme ouvert (maximum de lumière).

Objectif x 100 à immersion. Pour la mise au point, l'objectif trempe dans la goutte d'huile. Nettoyer au papier Joseph après utilisation de l'objectif. (Dr.Boussena S., 2019)

III-5-2- Identification biochimique

L'identification des souches isolées a porté sur une série de tests biochimiques.

❖ Test TSI

Le test TSI (Triple Sugar Iron) milieu pour la différenciation des entérobactéries basée sur la production de sulfure d'hydrogène et la fermentation du lactose, du saccharose et du D-glucose.

La pente du milieu TSI estensemencée par stries sinueuses et le culot par piqure centrale, ne pas visser le bouchon complètement, Puis incuber à 37° pendant 24 heures.

❖ Test urée- indole

Le milieu de culture urée-tryptophane, généralement appelé urée indole est utilisé pour l'identification des entérobactéries. Ce milieu permet de mettre en évidence les caractères

Suivants : l'hydrolyse de l'urée par une urgeas et la production d'indole par l'hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase.

Dans un tube contenant l'urée indole, on rajoute quelques gouttes de la suspension bactérienne, puis incuber à 37° pendant 24 heures.

❖ Test Citrate de Simmons

Le test du citrate détermine la capacité d'une bactérie d'utilisé le citrate comme seule source de carbone. Le milieu le plus utilisé est la gélose citrates de Simmons.

La pente du milieu Citrate de Simmons estensemencée avec une strie longitudinale sur toute la surface. L'incubation est réalisée à 37°C/ 24h.

❖ Test Mannitol mobilité

Le milieu Mannitol mobilité est utilisé pour l'identification des entérobactéries basé sur la fermentation de mannitol, la mobilité et sur la réduction des nitrates en nitrites.

L'ensemencement se fait à l'aide d'une anse de platine par une piqûre centrale.

L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24h.

❖ Test catalase

Cette enzyme catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H_2O et $\frac{1}{2} O_2$. Cette réaction est caractérisée par un dégagement gazeux résultant de la décomposition de l'eau oxygénée.

MATERIELS ET METHODES

Ce test est constitué pour les Cocci à Gram + un critère de différenciation entre les Staphylocoques (possédant une catalase) et les streptocoques (absence d'une catalase)

Avec une pipette boutonnée, prélever une colonie bactérienne et la déposer dans une goutte d'eau oxygénée préalablement déposée sur une lame propre et dégraissée.

❖ Test coagulase

La coagulase est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence d'une activité coagulase libre chez une souche de *Staphylococcus sp* est un des critères d'identification de *Staphylococcus aureus* en médecine humaine.

Dans un tube à hémolyse stérile, 0,5 ml de plasma oxalaté est introduit, puis additionné de 0,5 ml d'une culture de 18 heures en bouillon Cœur Cervelle de la souche à étudier. Le tube est homogénéisé puis incubé à 35°C ou à 37°C pendant 4 à 5 heures

❖ Milieu Clark et Lubs

Ce milieu permet l'étude de la voie de fermentation du glucose (tests RM et VP).

L'étude de cette voie permet de différencier les bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* (bacilles Gram -, oxydase -).

Bouillon Clark et Lubs est inoculé par une goutte d'une suspension trouble de bactéries. Après 18h à 37°C, on divise le bouillon dans 2 tubes stériles. Chaque tube sert à révéler une des 2 voies :

- Voie des Acides mixtes : Addition d'une goutte de rouge de méthyle (test au RM)
- Voie Butylène-Glycolique : Addition de 2 gouttes de KOH à 10% et d'Alpha-naphtol (réaction de Voges-Proskauer)

➤ Test RM (rouge de méthyle) :

Ce test permet la mise en évidence, grâce au rouge de méthyle, de la fermentation du glucose en acides mixtes par acidification d'un milieu glucosé.

➤ Test VP (Voges-Proskauer) :

Ce test permet la mise en évidence de la production d'acétoïne (ou 3-hydroxy-butanone) au cours de la fermentation butylène glycolique: en présence d'une base forte (soude ou potasse) et d' α -naphtol, l'acétoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygéné.

MATERIELS ET METHODES

Remarque : le test VP est beaucoup plus spécifique que le test RM qui ne donne qu'une idée globale du métabolisme.

Le test VP est particulièrement intéressant pour caractériser le groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* et *Serratia* (complexe KEHS cf. cours des entérobactéries).

❖ Test ONPG :

Ce test permet de rechercher la présence d'une enzyme intracellulaire β -galactosidase (ONPG hydrolase) qui permet l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose.

❖ Gélose Viande Foie (VF) :

Ce milieu permet de déterminer le type respiratoire d'une bactérie, c'est-à-dire définir son comportement vis-à-vis du dioxygène.

Certaines bactéries ne peuvent vivre qu'en son absence, d'autres qu'en sa présence, d'autres encore sont indifférents.

➤ Technique

-Régénérer pendant 20 minutes au bain d'eau bouillant : élimination des gaz dissous pour la création d'un gradient partiel en O₂

- Ensemencer, à l'aide d'une pipette pasteur fermée et chargée en remontant en remontant en spirale dans la gélose. Le tube doit être en surfusion (45°C).

-Solidifier, puis mettre à l'étuve 24h à 37°C. (Dr. Boussana Sabrina., 2019-2020)

III-5-3- Étude de la sensibilité aux antibiotiques :

L'antibiogramme est un test particulier en biologie clinique car il s'adresse à des être vivants infectieux et non au corps humain. Il constitue l'outil de mesure de la résistance bactérienne. Sa pratique et son interprétation font appel à de nombreuses connaissances cliniques, pharmaceutiques, bactériologiques, biochimiques et génétiques. (Marcel., 2005)

➤ Inoculum

Pour l'antibiogramme proprement dit, il faut préparer une suspension de l'inoculum en eau physiologique (10ml), sa charge doit être équivalente au 0,5 Mc Farland (10⁸ bactéries /ml) à partir de colonies pures de 24 heures.

L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation. Son emploi doit être fait au plus tard dans les 60 min qui suivent sa préparation.

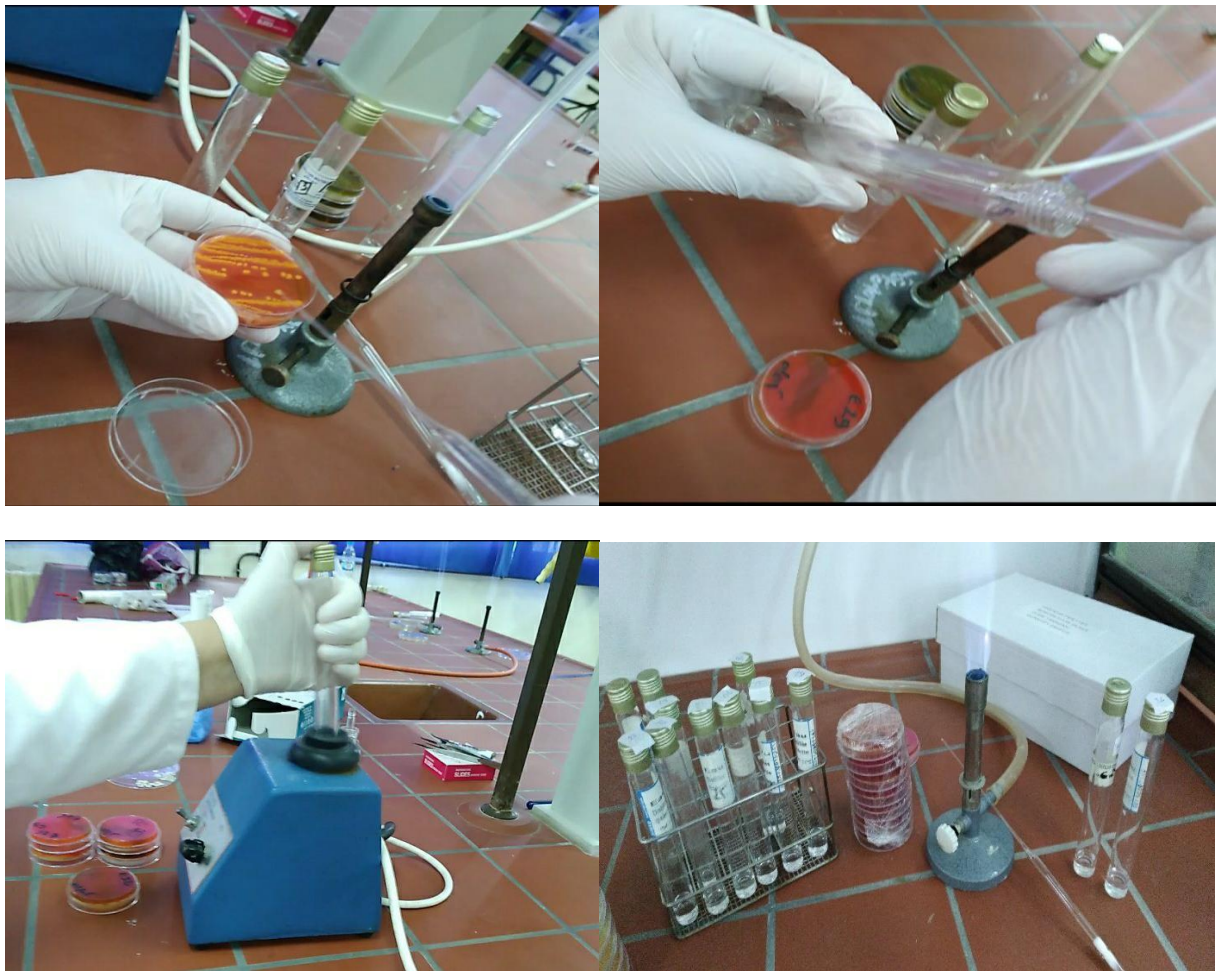


Figure 8: Préparation d'un inoculum (suspension bactérienne)

➤ **L'ensemencement :**

Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.

Il est important de rejeter l'excès de liquide pour éviter une sur-inoculation des boîtes, en particulier pour les bactéries à Gram négatif.

Écouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions ou en utilisant un ensemencement rotatif. L'inoculum doit être réparti de façon homogène sur toute la surface de la gélose en prenant soin de ne pas laisser d'espace entre les stries.

L'ensemencement se fait par les disques sont déposés sur la gélose à 30 mm l'un de l'autre à l'aide d'un applicateur automatique ou à la pince flambée. Les boîtes sont ensuite laissées à la température ambiante pendant 30 minutes sur la paillasse pour permettre la

MATERIELS ET METHODES

diffusion de l'antibiotique dans la gélose. On incube les boîtes de Pétri à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.



Figure 9: Les étapes d'antibiogramme

➤ **Lecture :**

Après incubation, les boîtes de pétri sont examinées et les diamètre des zones d'inhibition entourant les disques sont mesurés et comparés aux valeurs critiques des différents agents antimicrobiens testés, afin de déterminer la catégorie clinique (résistant, intermédiaire, sensible). L'interprétation en sensible (S) intermédiaire (I) ou résistante (R) est effectuée selon les critères définis par (EUCAST 2022).

Les tableaux (02) et (03) contiennent les antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme pour les staphylocoques et les entérobactéries

Tableau 2: Les antibiotiques testés pour Staphylocoques.

Antibiotique	Abréviation	La charge (Mg)	La famille
Pénicilline	P	10	B-lactamine
Oxacilline	Ox	5	
Céfoxitine	Fox	30	
Céfazoline	Cz	30	
Amikacine	AK	30	Aminoside
Kanamycine	K	30	
Vancomycine	VA	30	Glycopeptide
Ciprofloxacine	Cip	10	Fluoroquinolone
Erythromycine	E	15	Macrolide
Lincomycine	L	2	Lincosamide
Imipenèm	IMP	10	Carbapénème
Rifampicine	RA	30	Rifamycine

Tableau 3: Les antibiotiques testés contre les entérobactéries

Antibiotique	Abréviation	La charge (Mg)	La famille
Amoxiclav	AMC	30	B- Lactamine
Céfazoline	CZ	30	
Céfuroxime	CXM	30	
Céfotaxime	CTX	30	
Ceftazidime	CAZ	30	
Céfixime	CFM	05	
Gentamicine	GEN	10	
Imipenèm	IMP	10	Carbapénème
Colistine	CL	10	Polymixine
Ciprofloxacine	CIP	05	Fluoroquinolone
Aztréonam	AT	30	B-Lactamine

Conclusion

CONCLUSION

La résistance d'antibiotique est un sujet majeur et problématique de société, une menace sans frontières au fil des années depuis l'émergence de la résistance et des bactéries multi-résistantes, qui présentent dans tous les domaines, vétérinaires, hospitalières, communautaires ...etc

L'objectif de ce travail était de faire l'état des connaissances sur quelques souches de microbiote commensal cutané en s'intéressant particulièrement aux familles et espèces bactériennes qui les composent et déterminer le profil de sensibilité aux différentes familles d'antibiotiques pour empêcher la propagation des infections.

Selon nos résultats le profil de résistance de *Staphylocoque aureus* montre un taux important de résistance avec (Oxacilline 87,5%, Céfoxitine 62,5%, Pénicilline 87,5%, Erythromycine / Lincomycine 50%, Céfoxitine / kanamycine 62,5 %)

Et pour *Staphylocoque* à coagulase négative avec les β -lactamines (Pénicilline 86%, Oxacilline 71%, Céfoxitine 57%, kanamycine / Erythromicine 71% et Lincosamide 57%)

Une importante augmentation de résistance aux antibiotiques a été constatée ces dernières années chez les bacilles Gram négatif en particulier les entérobactéries vis à vis les différentes familles surtout les B-lactamines.

Nos souches isolées *E.coli*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* ont perdu leur sensibilité aux Amoxiclav, les Céphalosporine 1^{er} génération

Pseudomonas sp, *Acinetobacter sp* à Monobactame (Aztrénam 100%) Fluoroquinolone (Ciprofloxacine 100%)

Pseudomonas a une résistance de 100% à Imipénèm (carbapénème) et au cours de nos études la Gentamicine reste sensible à cause de l'utilisation imprudente des agents antimicrobiens en médecine humaine et d'autre domaine, l'augmentation de taux de résistance général et la flore commensale sonne l'alarme qui conditionne l'épidémiologie de l'antibiorésistance.

Ces résultats ont confirmé la présence d'une résistance importante des souches isolées à partir d'une flore commensale cutané des mains des sujets sains, cette augmentation de taux de résistance dû à la surconsommation des antibiotiques qui sont prescrites de manière excessive par des agents de la santé et les vétérinaires ou de leur utilisation à des doses subefficaces.

Donc si le taux de résistance de la flore commensale cutané atteint à ce point alarmant, alors comment sera cela de la flore clinique ?

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

1. A. Chaibdraa, M.S. Medjellekh, A. Saouli, et M.C. Bentakouk. (2008) Dec 31. Le *Pseudomonas*:Expérience du Centre des Brûlés D'Annaba et Revue de la Littérature; 21(4):210-218.
2. Bao L, Peng R, Ren X, et al. (2013). Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics. *Pakistan Journal of Medical Sciences*; 29(1):135-139.
3. Boukhatem. L. (2013) Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen, Microbiologie, Université AboubekerBelkaid Tlemcen p10.
4. CA-SFM. (2022) Avr.Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie Recommandations. V1. 0.
5. Chabasse D., Robert R., Marot A., PihetM.(2006). *Candidas pathogènes*. Paris, Lavoisier, Editions TEC et DOC.
6. Chambers HF., DeleoFR. (2009). Waves of resistance *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*,7:629-41.
7. Detry A., SehrineS. (2010). Association de Biologie Praticienne : mycologie. Paris.
8. Docteurclic.com, (2019). Staphylocoque doré.
9. Dr.Boussena Sabrina.(2019-2020). Manuel des travaux pratiques de Bactériologie Institut des sciences vétérinaires Département de Productions Animales
10. Farmer, J. J., Boatwright, K. D., & Janda, J. M. (2007). *Enterobacteriaceae*: Introduction and identification. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A.Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical microbiology* (9th ed., pp. 649-669).
11. François Bigonnesse, Microbiologiste.(2022).Technique de prélèvement des échantillons pour analyse microbiologique des aliments et de l'eau.10-11.
12. Fritz H.K., Erik C.B., Peter D., Otto H., Axel R. (2017). Manuel de poche de Microbiologie médicale.2ème Ed Lavoisier française. France.741P.
13. Haeggman S., Lofdahl S., Burman L.G. (1997). An allelic variant of the chromosomal gene for class a beta-lactamase k2, specific for *klebsiella pneumoniae*, is the ancestor of shv-1. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.Pp 2705-2709.
14. Hamory BH, Parisi JT, Hutton JP. (1987) Apr. *Staphylococcus epidermidis*: a significant nosocomial pathogen. *Am J Infect Control*.;15(2):59-74.
15. Hamory BH, Parisi JT, Hutton JP. (1987) Apr. *Staphylococcus epidermidis*: a significant nosocomial pathogen. *Am J Infect Control*. ;15(2):59-74.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

16. Hart, C. A. (2006). *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* and *Serratia spp.* In S. H.Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), Principles and practice of Clinical Bacteriology (2nd ed., pp. 377- 386).
17. Holmes RL, Jorgensen H. (2008). Inhibitory activities of 11 antimicrobial agents and bactericidal activities of vancomycin and daptomycin against invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates obtained from 1999 through 2006. Antimicrob Agents Chemother 52: 757-760. DOI: 10.1128/AAC.00945-07.
18. J.L. Mainardi. Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques/ Session interactive autour de l'antibiogramme. Unité Mobile de Microbiologie Clinique Service de Microbiologie Hôpital Européen Georges Pompidou Faculté et Université Paris René Descartes.
19. James B. Kaper 1, James P Nataro, Harry L Mobley. (2004) février. *Escherichia coli* pathogène. Nat RevMicrobiol. ;2(2) : 123-40.doi : 10.1038/nrmicro818.
20. Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2006). The Genera *Klebsiella* and *Raoultella*. The Enterobacteria (2nd ed., pp. 115-129).
21. Joris, C. (2013). Mycose cutanée a l'officine étude sur des populations en milieu confiné.
22. Khennouchi, N (2016). Evaluation de l'antibiorésistance du genre *Enterobacter* aux antibiotiques. Thèse de doctorat : Microbiologie Appliquée. Annaba : Université Badji Mokhtar.
23. Kone Koumba Diallo. (2010). Frequence D'isolement Des *Klebsiella* Au Laboratoire De BacteriologieCvd Du Chu Gabriel Toure De 2002 A 2007.Thèse Pour obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie (Diplome D'etat).
24. Lax S, Gilbert JA. (2015) Jul.Hospital-associated microbiota and implications for nosocomial infections. Trends Mol Med.;21(7):427-32.
25. Lax S, Gilbert JA.(2015) Jul .Hospital-associated microbiota and implications for nosocomial infections. Trends Mol Med. ;21(7):427-32.
26. Lina, G., Quaglia, A., Reverdy, M. E., Leclercq, R., Vandenesch, F., & Etienne, J. (1999). Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among *Staphylococci*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 43(5), 1062-1066.
27. LowyFd.(1998). *S. aureus* infections. N Engl J Med ; 339 (8) : 520-532.
28. Marcel J. P. (2005). L'antibiotique et son impact medical. Elsevier SAS. 07 (01).1-10.
29. Massanari RM, Pfaller MA, Wakefield DS. 1988. Implication of acquired oxacillin resistance in the management and control of *Staphylococcus aureus* infections. J Infect Dis 158 : 702-709. DOI : 10.1093/infdis/158.4.702.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

30. Mergoud.L et Belmessikh.A. Techniques d'ensemencement et d'isolement des microorganismes. Manuel des travaux pratiques de Microbiologie générale 2^{ème} année LMD.
31. Michel Otto. (2009) Aout. *Staphylococcus epidermidis* - l'agent pathogène "accidentel". Nat RevMicrobiol.
32. Nanciel C et Vilde J. L. (2005). Bactériologie Médicale. Ed. Masson, Paris :49-157.
33. Nathan (2019). MICROBIOTE HUMAIN ET SANTÉ Protocole : coloration de Gram SVT 2de, collection SVT Lycée – p. 265
34. Nor A'shimi¹, Ahmed Ghazi Alattraqchi^{1,2}, Farahiyah Mohd Rani', NorIza A Rahman¹, Salwani Ismail', Fatimah Haslina Abdullah³, Norlela Othman³, David W Cleary^{4,5}, Stuart C Clarke^{4,5,6}, ChewChieng Yeo¹. (2019). Biocide susceptibilities and biofilm-forming capacities of *Acinetobacter baumannii* iclinicalisolates from Malaysia Muhammad Harith.; 13(7):626-633.
35. Ola s.(2010). Antibiotics and antibiotic resistance mécanismes .
36. Russo, T. A., & Johnson, J. R. (2008). Diseases Caused by Gram-Negative Enteric Bacilli. In A. S. Fauci, & A. Fauci (Eds.), Harrison's principles of internal medicine (17th ed.,). New York: McGraw-Hill Medical Pub. Division.
37. Shittu A, Oyedara O, Abegunrin F, Okon K, Raji A, Taiwo S, Ogunsola F, Onyedibe K, Elisha G. (2012). Characterization of methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococci* in the clinical setting: a multicentre study in Nigeria. BMC Infect Dis 12: 286. DOI : 10.1186/1471-2334-12-286.
38. Soza TH baban .(2017) Aout. Prevalence and antimicrobial susceptibility.
39. Srinivasan A, Dick JD, Perl TM. (2002). Vancomycin resistance in *staphylococci*. Clin MicrobiolRev15: 430-438. DOI : 10.1128/CMR.15.3.430-438.2002.
40. TabeyMarion. (2022). Le microbiote cutané bactérien de l'homme, du chien et du chat : actualité et comparaison. Thèse présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1 (Médecine - Pharmacie).
41. Y VON M. (2009). Une histoire de la résistance aux antibiotiques : à propose de six bacteries. P40.
42. Zheng CX, Ma XF, Zhang YH, LiHj, Zhang GF. (16 août 2018) ;40 (8) :607-619
43. Zheng CX, Ma XF, Zhang YH, Li HJ, Zhang GF. (2018) Aug. Research progress in the mechanism of translation initiation of eukaryotic mRNAs. Yi Chuan. 16;40(8):607-619.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

44. Zheng CX, Ma XF, Zhang YH, Li HJ, Zhang GF. (2018) Aug. Research progress in the mechanism of translation initiation of eukaryotic mRNAs. Yi Chuan. 16;40(8):607-619.




Site d'internet :

1. <http://tele-ens.univ-.dz>
2. <https://digestion.ooreka.frhttps://www.Futura.sciences.com>
3. <https://devsante.org> /articles/antibiotiques: modes d'action, m canismes_de_la_r sistance
4. <https://microbiologiemedicale.fr>
5. <online.statref.com/document.aspx?FxId=55&DocID=1&grpalias=>
6. https://sofia.medicalistes.fr.Classification_et_mode_d_action_des_antibiotiques.,Dr.Mouhammedi.
7. <http://www.abiopratt.com/resultats/mycologie/MYCO103.pdf>

Annexes

Annexes

La lecture des résultats des test biochimique (Le Minor et richard., 1993)

Les tests	Lecture	Figure
<p align="center">TSI</p>	<p>Lactose + ; Saccharose+</p> <p>Glucose+ : virage de culot au jaune.</p> <p>Production de Gaz+ : Apparition des bulles ou des poches gazeuses qui décalent la gélose de fond de tube.</p> <p>Production d'H₂S : Noircissement du milieu.</p>	
<p align="center">Urée-indole</p>	<p>Uréase+ : Virage du milieu au rouge/ rose.</p> <p>Indole+ : Apparition d'un anneau rouge en surface après l'ajout de quelques gouttes de réactif de kovacs</p>	
<p align="center">Citrate de simmons</p>	<p>Citrate + : virage de milieu au bleu et une culture de colonie sur La pente.</p>	



ANNEXES

<p style="text-align: center;">Mannitol Mobilité</p>	<p>Mannitol+ : Coloration jaune du milieu.</p> <p>Mobilité+ : apparition de la diffusion des bactéries dans la gélose de part est d'autre de la piqûre centrale</p>	
<p style="text-align: center;">ONPG</p>	<p>ONPG+ : apparition de couleur jaune qui signifie que la bactérie a hydrolysé l'ONPG en ONP.</p>	
<p style="text-align: center;">Catalase</p>	<p>Catalase+ : dégagement gazeux abondant sous forme de mousse</p>	
<p style="text-align: center;">Coagulase</p>	<p>Coagulase+ : la formation d'un coagulum</p>	


Annexe II

Composition des milieux de culture

Solution	Composition
Urée-indole	<ul style="list-style-type: none"> • Tryptophane 3g/L • Urée 20g/l • KH₂PO₄ 1g/l • K₂HPO₄ 1g/l • Na Cl 5g/l • Alcool à 95° 10 mL • Rouge de phénol 2,5 mL
Violet de Gentiane	<ul style="list-style-type: none"> • Violet de Gentiane 10 g • Phénol 20 g • Éthanol (90 °GL) 100 ml • Eau distillée 1 l
Lugol	<ul style="list-style-type: none"> • Iodure de potassium 2 g • Iode métalloïde I₂ 1 g • Eau q.s. ad 100 g <p>q.s. ad 100 g signifie "quantité suffisante pour obtenir 100 g de solution"</p>
Fuchsine	<ul style="list-style-type: none"> • Fuchsine basique 10 g • Phénol 50 g • Éthanol 100 mL • Eau distillée 1 L
Milieux de	Composition

Culture solides	
<p>TSI</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Peptones de caséine 15 g/l • Peptones de viande 5 g/l • Extraits de viande 3 g/l • Peptones de levure 3 g/l • NaCl 5 g/l • Lactose 10 g/l • Saccharose 10 g/l • Glucose 1 g/l • Citrate ammoniacal de Fer (III) 0,5 g/l • Thiosulfate de sodium 0,5 g/l • Rouge de phénol 0,024 g/l • Agar 12 g/l
<p>Mueller Hinton</p>	<ul style="list-style-type: none"> • fusion de viande de bœuf 300,0g/l • Hydrolysate de caséine 17,5 g/l • Amidon 1,5 g/l • Agar 17,0 g/l • Eau distillée (qsp) 1L 
<p>Gélose Hektoen</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Protéosepeptone 12g • Extrait de levure 3g • Chlorure de sodium 5g • Thiosulfate de sodium 9g • Citrate de fer III et d'ammonium 1,5g • Salicine 2g 

ANNEXES

	<ul style="list-style-type: none"> • Lactose 12g • Saccharose 12g • Fuschine acide 0,1g • Bleu de bromothymol 0,065g • Agar 14g • Eau distillée (qsp) <p>1000mL</p>
Chapman	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone 11.0g/l • Extrait de viande 1,0g/l • Chlorure de sodium 75g/l • Mannitol 10,0g/l • Rouge de phénol 0,025 g/l • Agar 15,0g/l • PH 7,4 <div data-bbox="999 819 1428 1115" style="text-align: right;">  </div>
Citrate de Simmons	<ul style="list-style-type: none"> • Sulfate de Mg 0,2 g/l • Phosphate monoammoniaqué 1g/l • Phosphate bipotassique 1g/l • Citrate de sodium 2g/l • Na Cl 5g/l • Bleu de bromothymol 0,08g/l • Agar 15g/l • pH 6,8
Viande foie :	<p>Composition pouvant être modifiée</p> <p>Pour 1 litre de milieu :</p> <p>Peptone viande-foie : 30 g</p>

	Glucose : 2 g Amidon soluble : 2 g Sulfite de sodium : 2,5 g Citrate ferriqueammoniacal : 0,5 g Agar agar : 11 g PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2.
--	--

Annexe III

❖ **Instrument et appareillage :**

Gants stérile, Pincés métalliques, Bec Bunsen, Boites de Pétri, Ecouvillons, Pipettes Pasteur, Anses de platine, Tubes stériles Etuves, Bains marie, Lames et lamelles, Microscope optique, Four pasteur, Autoclave et réfrigérateur pour la conservation des réactifs et des souches, Sachets collecteurs.

❖ **Réactif :**

Violet de gentiane, Lugol, Alcool, Fuschine basique, Bleu de méthylène, chlorryure de fer, Huile de Immersion, bouillon nutritif, Eau oxygénée, Eau distillée, Eau physiologique, Disques d'antibiotiques, Disques d'ONPG Citrate de Simmons, TSI, Kovacs, Mannitol mobilité, urée Indol, Clarck et Lubs, VP1, VP2, RM.