



MAST-579-27/01

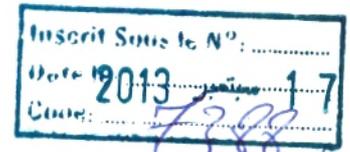
## Mémoire de master

Filière : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Option : MICROBIOLOGIE

Présenté par

Mme Djoher Soumia



Intitulé du Thème

Etude l'écologie bactérienne chez nouveau-né à l'unité de néonatalogie dans l'établissement hospitalisé E.H.S. Mère et enfant de TLEMCEM

Soutenu le : 08 Juillet 2013

Devant le jury composé de :

Mr REBIAHI Sid Ahmed

Maitre de Conférences B

Promoteur

Mme HASSAINE Hafida

Professeure

Examinatrice

Mme CHABNI

Maitre de conférence

Présidente



Année Universitaire : 2012-2013

# Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b><i>I. Synthèse bibliographique</i></b>	
Chapitre 1 ; le nouveau-né	
1-Généralités.....	2
2-Colonisation du nouveau-né.....	2
2-1-Facteurs influençant l'acquisition de la flore néonatale.....	2
2-2-Colonisation digestive du nouveau-né.....	3
2-3-Colonisation des autres sites.....	3
2-4-Importance de la flore normale du nouveau-né.....	3
3-Influence de l'antibiothérapie maternelle sur le nouveau-né.....	4
Chapitre 2 ; les infections nosocomiales néonatales	
1-Définition de l'infection nosocomiale.....	5
2- Définition de l'infection nosocomiale néonatales.....	5
3-L'origine des infections nosocomiales.....	5
4-Les critères de signalement externe d'une infection nosocomiale.....	6
5-Les facteurs favorisant l'infection nosocomiale néonatale.....	6
6-Classification des infections nosocomiales néonatales selon leur sites.....	7
7-Microorganismes responsables des infections nosocomiales néonatales.....	8
8-Impact des infections nosocomiales néonatales sur nouveau-né.....	9
9-Les bactéries à Gram négatif incriminés dans les infections nosocomiales néonatales.....	9
Chapitre 3 ; Diagnostic et traitement des infections nosocomiales néonatales	
1-Diagnostic.....	16

1-1-Les critères de diagnostiques.....	16
1-2-Les différentes diagnostiques.....	16
1-3-Diagnostic de laboratoire en microbiologie.....	17
2-Traitement.....	17
2-1-La résistance aux antibiotiques.....	17
2-2-Définition de la résistance.....	18
2-3- La résistance des bactéries à Gram aux antibiotiques.....	18
2-3-1-la nature de la résistance aux antibiotiques.....	18
2-3-1-1-la résistance non génétique.....	18
2-3-1-2- la résistance génétique.....	18
2-4-Les principaux mécanismes de la résistance.....	19
2-4-1-mécanismes enzymatiques.....	20
2-4-2- mécanismes non enzymatiques.....	21
2-4-3-phénotype de résistance.....	21

## ***II Matériels et méthodes***

1-Type d'étude.....	24
2-Lieu d'étude.....	24
3-période d'étude.....	24
4-Population étudié.....	24
5-Démarche suivi.....	24
6-Méthodes.....	26
6-2- Isolements.....	26
6- 3- Purification.....	26
6-4-Coloration de Gram.....	26
6-5-Test de catalase.....	27
6-6-Identification.....	27
6- 7-antibiogramme.....	29

6-8-Conservation des souches.....	30
-----------------------------------	----

### ***III Résultats et discussion***

Résultat.....	32
---------------	----

1-Coloration de Gram .....	32
----------------------------	----

2-Catalase.....	32
-----------------	----

3-Identification.....	33
-----------------------	----

4-Résistance aux antibiotiques.....	35
-------------------------------------	----

Discussion.....	37
-----------------	----

*Identification.....	37
----------------------	----

* Résistance aux antibiotiques.....	38
-------------------------------------	----

<b><i>Conclusion.....</i></b>	<b>40</b>
-------------------------------	-----------

### ***Références Bibliographiques***

### ***Annexes***

## Remerciements

Notre thèse a pu voir la lumière grâce à Dieu.

Sous l'encadrement de **Monsieur *Rebiahi Sid Ahmed*** maitre de conférences B université de Tlemcen qui ma guidé sur le choix de ce thème pendant toute la rédaction de ce mémoire avec patience et gentillesse. Je souhaiterai de remercier de ma profonde gratitude pour son aide, ces conseils judicieux et son sérieux qui nous a poussé à aimer notre travail.

Je remercie chaleureusement **Mme *Hassaine Hafida*** pour le très grand honneur qu'elle nous a accordé en acceptant de présider le jury de ce mémoire et je vous remercie de la confiance que vous avez bien voulu ma témoigner.

Merci également à **Mme *CHABNI***, Maitre de conférence à l'université de Tlemcen d'avoir accepté d'examiner ce manuscrit. Soyez assuré de ma reconnaissance et ma profonde considération.

J'adresse mes sincères remerciements à **mon *marie*** qui m'a beaucoup aidé à la réalisation de ce travail.

Je terminerai en remerciant ma famille et plus particulièrement ma mère de m'avoir soutenue, encouragée et conseillée. Je lui dédie ce travail.

Nous remercions également toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# Dédicaces

A l'aide du Dieu tout puissant, qui ma tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie à ;

La plus chère personne dans ma vie, la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de mon existence ; ma mère ainsi que mon père. (Dieu de Mai a pitié de lui).

Mon deuxième père kheir Abdellah et ma deuxième mère MAMA qui m'avoir soutenue, encouragée et conseillée.

Mon marie qui m'a encouragé, aidé, guidé, conseillé et soutenu. Je souhaite que Dieu me le garde et que vie nous donne temps pour le remercier.

Ma seule sœur Hayat qui je souhaite réussite et persévérance dans tous ce qu'elle empreindra.

Mes familles ; Djoher , Mébakhki et surtout la famille kheir qui ma donné l'espoir de continuer ce travail.

Mes frères et mes soeurs : Salim, Lotfi, Sallah eddin , Imen , Ibtissem

Mes amis ; Khadija, Semahen,Asma, Jalila....

A tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail, A tous ceux que j'ai oubliés... Excusez-moi.

Enfin j'espère du fond du cœur que tout ce petit monde .mon monde à moi, trouve ici un mot de reconnaissance et que chacun se reconnaisse en ce qui le concerne. J'espère aussi que l'effort déployé dans le présent travail répondre aux attentes des uns et autres.

## Liste des abréviations

**ADVIN** ; Association de défense pour les victimes d'infection nosocomiale.

**Ampc** : Céphalosporinase

**API 20 E** : Appareillage et Procédé d'identification

**ATB** : Antibiotique

**BGN**: bactéries à Gram negative

**BHIB**; Bouillon brain heart infusion broth

**CDC**; Centers for Disease Control and Prevention

**CLSI**: Clinical and Laboratory Standards Institute.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

*E.coli* : *Escherichia coli*

**EHS** : Etablissement Hospitalier Spécialisé

**IN** : Infection nosocomiale

**INN** ; infection nosocomiale néonatale

**IUN** ; infection urinaire nosocomiale

**Mex** ; multiple efflux

**NICHD**; National Institute of Child Health and Human Development

**SFHH** ; Société Française d'hygiène hospitalière.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Microorganismes responsables des infections nosocomiales néonatales .....	8
<b>Tableau 2</b> . Présentation des bactéries à gram négatif responsables d'IN.....	9
<b>Tableau 03</b> : Les différents mécanismes de la résistance.....	20
<b>Tableau 4</b> : la résistance de quelques bactéries à Gram négatifs responsables d'IN .....	22
<b>Tableau 5</b> : Résultats d'identification pour les prélèvements des nouveau-nés.....	34
<b>Tableau 6</b> : Résultats d'antibiogramme pour les souches provenant des nouveau-nés.....	36
<b>Tableau 7</b> : L'antibiotype des souches.....	36

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Emergence d'une résistance acquise aux antimicrobiens.....	19
<b>Figure2 :</b> représentation des mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	20
<b>Figure 3 :</b> Schéma de la démarche suivie.....	25
<b>Figure 4 :</b> la présentation d'une galerie API 20 E.....	28
<b>Figure 5:</b> La répartition de la population étudiée en fonction du sexe.....	31
<b>Figure 6 :</b> la répartition des nouveau-nés selon leurs âges gestationnels.....	31
<b>Figure 7 :</b> Aspect des colonies dans les boites de pétri après incubation.....	32
<b>Figure 8 :</b> la répartition des bactéries dans les prélèvements des nouveau-nés.....	32
<b>Figure 9 :</b> la répartition des prélèvements selon la présence et l'absence des bulles.....	33
<b>Figure 10 :</b> Exemples des résultats d'identification des bactéries selon API20E.....	33
<b>Figure 11:</b> Répartition des souches identifiées.....	35
<b>Figure 12 :</b> Résultats de l'antibiogramme.....	35
<b>Figure 13 :</b> profil de résistance de souches testées.....	37

# Introduction

## **Introduction :**

La mère et son enfant constitue le groupe le plus précieux d'une société humaine. Ce qui impose que la protection maternelle et infantile soit une activité primordiale et prioritaire dans le domaine de la santé publique.

En réalité la connaissance des problèmes menaçant les nouveau-nés représente le premier pas vers la détermination du choix des solutions convenables et efficaces pour affronter une infection devenue propagée dans les hôpitaux, telle est l'infection nosocomiale.

Les infections nosocomiales représentent dans tous les services d'hospitalisation et particulièrement en maternité un enjeu en termes de santé publique. Elles sont responsables d'une augmentation de la morbidité et occasionnent un coût important pour la collectivité (Rouzic et *al.* , 2008). Parmi ces infections les infections néonatales bactériennes qui surviennent pendant la période néonatale qui sont responsables de cinq millions de morts par ans dans le monde (Aujard .,2011).

La néonatalogie est une partie intégrante de la pédiatrie, s'occupe de la pathologie des nouveau-nés dès la naissance à 28 jours de vie dont les infections nosocomiales. (B.Guy et *al.* , 2003).

Un grand nombre d'agents infectieux (parasites, levures, bactéries, virus, prions) peuvent être responsables d'infections nosocomiales (IN). Néanmoins, certains d'entre eux sont plus fréquemment impliqués ; il est indispensable de les identifier et de connaître leur habitat préférentiel, leur mode de transmission, leur porte d'entrée dans l'organisme et les principales pathologies dont ils sont à l'origine afin d'organiser plus efficacement la prévention et la prise en charge de ces dernières (Pozzetto, 2009).

L'objectif de cette étude est d'isoler et identifier une collection de souches bactériennes chez nouveau-né et de connaître leur niveau et leur sensibilité de résistance aux antibiotiques. Pour infléchir cette tendance des généralités sur le nouveau-né ainsi que d'actualité sur les infections nosocomiales néonatales sont présentés dans la première partie de ce travail qui est consacrée à une synthèse bibliographique. Dans la deuxième partie seront présentés les matériels et les méthodes qui ont été utilisés, la troisième partie présentera les résultats qui ont été obtenus.

synthese  
anhydrid

## Chapitre 1 : Le nouveau-né

### 1. Généralités :

- Le nouveau – né, stérile à la naissance, se colonise avec une flore résultant du contact avec sa mère et son environnement, il acquiert une flore cutanée et muqueuse à partir des germes des voies génitales maternelle et de l'environnement du service par l'intermédiaire du personnel soignant (Campeotto et al ., 2007).

-Un certain nombre de définitions sont à connaître :

\*Un nouveau-né à terme : se définit comme un enfant naissant après 40 semaines de gestations.

\*Un prématuré : se définit comme un enfant naissant avant 40 semaines de gestations.

-Les nouveau-nés se caractérisent par un âge gestationnel et un poids de naissance dont il y a un poids bas inférieur 2500 g, un poids très bas inférieur 1500 g et un poids extrêmement bas inférieur 1000g. (Kaufman et Fairchild ., 2004).

### 2. Colonisation du nouveau-né :

-La colonisation est la présence d'un microorganisme sur ou dans un hôte et qui se multiplie sans aucune expression clinique. (Maussi-Pinhata et Do Nascimento ., 2001).

-Les facteurs de risque favorisant la colonisation bactérienne sont la prématurité, l'hospitalisation préalable, la nutrition parentérale. (Campeotto et al ., 2004).

-La colonisation normale du nouveau-né débute durant l'accouchement après la rupture de la membrane amniotique au fur et à mesure des contacts subséquents avec l'environnement une flore endogène équilibrée à composition précise s'établira. (Maussi-Pinhata et Do Nascimento ., 2001).

-Selon la société française d'hygiène hospitalière (SFHH), les zones les plus colonisées sont l'ombilic, les plis de la peau, les fesses et la plante des pieds.

#### 2.1. Facteurs influençant l'acquisition de la flore néonatale :

\*La flore génitale maternelle.

\*L'âge gestationnel.

\* Le mode d'accouchement.

\*Le type de nutrition du nouveau-né.

\*Les personnes en contact direct avec le nouveau-né.

\*L'environnement tel que la flore provenant du matériel médicale.

\*L'antibiothérapie. (Waligora-Dupriet et al ., 2007).

## Synthèse bibliographique

---

### 2.2. Colonisation digestive du nouveau-né :

-Les sources de cette colonisation sont la flore vaginale lors de l'accouchement et l'alimentation telle que l'allaitement maternel dont des auteurs ont constaté l'apparition au niveau de l'intestin après 12 heures chez les nouveau-nés subissant un allaitement maternel :

\*Des bactéries anaérobies facultatives, des bifidobactéries et des clostridies chez moins de 50% de nouveau-né.

\*Des bactéroïdes chez moins de 30% des nouveaux nés (Posfay et al . , 2001).

-Ainsi l'alimentation artificielle dont chez les nouveau-nés nourris par le lait artificiel, la colonisation digestive pendant le 1<sup>ier</sup> et le 2<sup>ème</sup> est identique à celle obtenue lors de l'allaitement maternel, l'augmentation du nombre des bifidobactéries, mais le nombre des autres bactéries anaérobies ne diminuent pas surtout les bactéries Gram négatifs (Posfay et al . , 2001).

-C'est ainsi que des clostridies sont retrouvées chez 50 à 80% des nouveau-nés âgés de 6 jours. Les bactéroïdes sont présentés chez 60 à 80 % des cas dont leur nombre est  $10^8$  à  $10^{10}$  germes par gramme de selles. la flore est donc moins stable chez les nouveau-nés nourris par le lait artificiel. (Posfay et al . , 2001).

-Un facteur influençant la colonisation digestive est l'environnement dont la flore digestive d'un nouveau né hospitalisé est différente de celle de nouveau-né retourné rapidement à domicile : on remarque dès le 15<sup>ème</sup> jour hospitalisation, l'apparition de souches résistantes même en dehors de toute antibiothérapie. (Posfay et al . , 2001).

-Ainsi la colonisation par les bactéries opportunistes du milieu hospitalier augmente avec la durée de séjour. (Borderon et al . , 1996).

### 2.3. Colonisation des autres sites :

D'autres sites du corps du nouveau né sont colonisés quelques jours après la naissance :

\*La peau et les muqueuses (nasopharynx, oropharynx, conjonctive) par des microorganismes.

\*Le vagin par *Candida albicans* (Maussi-Pinhata et Do Nascimento ., 2001).

### 2.4. Importance de la flore normale du nouveau-né:

La présence de la flore normale protège le nouveau né de certains microorganismes pathogènes et cela par ce que les microorganismes appartenant à cette flore s'étendent vers les différents sites du corps et entrent en compétition avec les microorganismes pathogènes. (Maussi-Pinhata et Do Nascimento ., 2001).

## Synthèse bibliographique

---

### 3. Influence de l'antibiothérapie maternelle sur le nouveau-né :

Pour les femmes infectées, Blond et ses collègues (2001) ont procédé à une antibiothérapie *per partum* dont l'antibiotique utilisé est l'ampicilline afin d'éradiquer le germe en cause. Ensuite, ils ont étudié l'influence de cette antibiothérapie sur la mère et sur le nouveau-né. Et pour les femmes enceintes, ils ont effectué un dépistage de l'infection à *Streptococcus agalactiae*.

Ils ont trouvé que le premier cas diminue de façon hautement significative les infections à *Streptococcus agalactiae* chez la mère et le nouveau né mais elle génère des risques maternels : l'émergence des bactéries à Gram négatif résistantes à l'ampicilline ; et des risques néonataux : la survenue des septicémies néonatales et des infections à bactéries résistantes à l'ampicilline. (Blond et al ., 2001 ).

## Chapitre 2 : Les infections nosocomiales néonatales

### 1. Définition de l'infection nosocomiale :

Une infection nosocomiale est une infection contractée dans un établissement de santé. Le terme nosocomial vient du grec *nosos* (maladie) et de *komein* (soigner) qui forment le mot *nosokomeion* (hôpital). (Bernard et Didier ,2011)

Elle est dite nosocomiale ou hospitalière, si elle est absente lors de l'admission du patient à l'hôpital et qu'elle se développe 48 heures au moins après l'admission. Ce délai permet de distinguer une infection d'acquisition communautaire d'une infection nosocomiale. Ce critère ne doit pas être appliqué sans réflexion et il est recommandé d'apprécier, dans les cas douteux, la plausibilité du lien causal entre hospitalisation et infection (Garner et *al .*, 1996).

### 2. Définition de l'infection nosocomiale néonatale :

Une infection nosocomiale néonatale c'est toute infection acquise à l'hôpital par le nouveau-né qui se manifeste au-delà de 48<sup>ème</sup> heures de vie alors qu'aucun signe clinique d'infection n'est présent de la naissance (Malavaud et *al .*, 2003). Aussi si le nouveau-né présente dès la naissance une infection consécutive à une infection nosocomiale de la mère, cette infection est considérée comme une infection nosocomiale néonatale par transmission materno-fœtale. (Malavaud et *al .*, 2003).

Cependant, une infection touchant un nouveau né , né par voie basse dont l'agent responsable provient de la flore vaginale de la mère ainsi toute infection associée à la rupture de la membrane amniotique (Maussi-Pinhata et Do Nascimento , 2001).

Les INN se développent chez le nouveau né en maternité, unité de soins intensifs et unité de néonatalogie (Guibert et *al .*, 1999).

### 3. L'origine des infections nosocomiales :

Les infections nosocomiales peuvent être directement liées aux soins ou simplement survenir lors de l'hospitalisation indépendamment de tout acte médicale alors il existe plusieurs types relevant de modes de transmission différent :

**\*une origine endogène :** c'est à dire que le malade se contamine par ses propres germes, à l'occasion d'un acte invasif et/ou en raison d'une situation médicale du patient c'est à dire son âge et sa pathologie, ses traitements, la qualité des soins, la présence de germes pathogènes pour certains patients fragilisés (Faure, 2002).

Les infections endogènes représentent 50 % au moins des infections nosocomiales (Faure, 2002).

## Synthèse bibliographique

---

**\*une origine exogène :** qui sont soit des infections croisées transmises d'un malade à l'autre, soit des infections provoquées par les germes du personnel porteur, soit des infections liées à la contamination de l'environnement hospitalier (Faure, 2002).

Ces deux origines peuvent être causées par :

- un manque de bonnes pratiques d'hygiène (absence de lavage des mains ...).
- les progrès de la médecine et de la chirurgie avec l'apparition de nouvelles techniques thérapeutiques de plus en plus agressives qui peuvent être des possibles sources d'infections (Faure, 2002).

### **4. Les critères de signalement externe d'une infection nosocomiale**

1. □ Infection nosocomiale ayant un caractère rare ou particulier, par rapport aux données épidémiologiques locales, régionales ou nationales, du fait □ de :

- \* La nature, des caractéristiques ou du profil de résistance aux anti-infectieux de l'agent pathogène en cause;
- \* La localisation de l'infection ;
- \* L'utilisation d'un dispositif médical suspect d'avoir été préalablement contaminé ;
- \* Procédures ou pratiques pouvant exposer ou avoir exposé, lors d'un acte invasif, d'autres personnes au même risque.

2. □ Décès lié à une infection nosocomiale.

3. □ Infections nosocomiales suspectes d'être causées par un germe présent dans l'eau ou dans l'air environnant.

4. □ Maladies devant faire l'objet d'une déclaration obligatoire à l'autorité sanitaire et dont l'origine nosocomiale peut être suspectée (Poujol et al., 2010).

### **5. Les facteurs favorisant l'infection nosocomiale néonatale :**

Les facteurs de risque peuvent être divisés en facteurs intrinsèques et extrinsèques.

\*facteurs intrinsèques :

- Age gestationnel (Habzi et al., 2001).
- Poids de naissance (Habzi et al., 2001).
- Immaturité immunologique accentuée par la prématurité. (Guibert et al., 1999).
- Maladies sous-jacentes : les patients atteints des maladies chroniques telles que la leucémie et le diabète sont plus sensibles aux infections opportunistes (Ducel et al., 2008).

\*facteurs extrinsèques :

- Agents microbiens : virulence intrinsèque et quantité d'inoculum (Ducel et al., 2008).
- Durée d'hospitalisation (Habzi et al., 2001).

## Synthèse bibliographique

---

-Procédures invasives (Habzi et al., 2001).

-Usage massif des antibiotiques surtout ceux à large spectre. (Habzi et al., 2001).

### **6. Classification des infections nosocomiales néonatales selon leurs sites :**

Les infections nosocomiales néonatales peuvent être classées selon le site dans lequel survient l'infection en septicémies nosocomiales, bactériémies nosocomiales, pneumopathies nosocomiales, infection urinaire nosocomiale, gastro-entérite et infection de la peau et des tissus mous.

\*Septicémies nosocomiales :

La septicémie est caractérisée par la présence d'hémoculture(s) positive(s). S'il s'agit d'un germe pathogène ; une seule hémoculture suffit, s'il s'agit d'un germe commensal de la peau : le CDC, pour un enfant âgé de 12 mois ou moins, exige l'apparition d'au moins un des signes cliniques suivants : hyperthermie (plus de 38 °C), hypothermie (moins de 37 °C), apnée, bradycardies ; pour les enfants ne présentant pas les critères cliniques du CDC, on retient le diagnostic de septicémie si le clinicien est convaincu du diagnostic sur la foi d'autres signes cliniques, si l'antibiothérapie est maintenue pendant plus de 4 jours et existe au moins une hémoculture positive si l'enfant a un cathéter veineux central et au moins deux hémocultures positives si l'enfant n'a pas de cathéter veineux central. (Guibert et Boithias., 1999).

\*Pneumopathies nosocomiales :

La définition des pneumopathies nosocomiales est des critères cliniques, radiologiques et microbiologiques observés après 48 heures d'admission à l'hôpital qui sont : opacités radiologiques récentes et progressives au niveau du parenchyme pulmonaire, toux expectorations purulentes et fièvre d'apparition trans-trachéale ou biopsie. (Ducel et al., 2008)

\*Bactériémie nosocomiales :

Une bactériémie nosocomiale est définie comme une hémoculture positive documentée plus de 48 heures après l'admission du patient associée à la présence de signes cliniques évocateurs d'un état septique. (Pittet et al., 1998).

Une pseudobactériémie est définie comme une seule hémoculture positive en absence de symptômes ou des signes cliniques, elle est considérée comme une contamination. (Pittet et al., 1998).

Elle n'est pas incluse dans les bactériémies nosocomiales. (Josette et al., 2000)

Les types de bactériémies sont :

-bactériémies primaires : Elles surviennent en absence de source d'infection au niveau d'un autre site anatomique. Selon le CDC, lorsqu'un patient développe une bactériémie dont la source n'est

## Synthèse bibliographique

pas identifiée et qu'il est porteur d'un cathéter intraveineux ou intra-artériel, l'infection est dite bactériémie primaire associée au cathéter. (Pittet et al.,1998).

-bactériémies secondaires : Elles compliquent les infections documentées au niveau d'un autre site anatomique (pneumonie, infection de paie,...) elles constituent 30% de tous les épisodes bactériémiques.

Il est possible que l'infection source soit polymicrobienne et que la bactériémie secondaire soit monomicrobienne. (Pittet et al.,1998).

\* infection urinaire nosocomiale :

Elle est définie par un examen cyto bactériologique des urines positif (moins de 10 000 UFC/ml, la culture étant mono-microbienne ou, au plus, bi-microbienne)

\*gastro-entérites nosocomiales :

Elle est définie comme une installation de diarrhée à l'admission (selles liquides pendant plus que 12 heures), avec ou sans vomissement ou fièvre (température supérieure 38°C) et après avoir éliminer les causes non infectieuses.(Guibert et Boithias , 1999).

\*infection de la peau et des tissus mous :

L'omphalite est habituellement provoqué par *S.aureus* ou des entérobactéries .il peut y avoir une dissémination locorégionale (abcès) ou systémique à type d'arthrite de hanche ou d'abcès de cerveau. (Sarlangue et al ., 2001).

### 7. Microorganismes responsables des infections nosocomiales néonatales:

Le tableau 1 présente les microorganismes incriminés dans les INN.

**Tableau 1 : Microorganismes responsables des infections nosocomiales néonatales**

(Habzi et Benomar ,2001).

Bactéries à Gram positif	Bactéries à Gram négatif	Virus	levure
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E.coli</i>	Rotavirus	<i>Candida</i>
<i>S.epidermidis</i>	<i>Pseudomonas</i>	Cytomdgalovirus	<i>albicans</i>
Enterocoques	<i>Klebsiella</i> <i>Salmonella</i>	Adénovirus	
Streptocoques B	<i>Leginella</i> <i>Campylobacter</i>	et Enterovirus	

## Synthèse bibliographique

### 8. Impact des infections nosocomiales néonatales sur nouveau né :

Elles influencent sur le fonctionnement du corps du nouveau né par exemple de la méningite peuvent résulter une perte d'audition, affaiblissement de vue , paralysie cérébrale , difficulté d'apprentissage et retard mental ( Newby et *al.*, 2008).

### 9. Les bactéries à Gram négatif incriminés dans les infections nosocomiales néonatales : (tableau 2)

Les bactéries pathogènes à Gram négatif retrouvées en milieu hospitalier appartiennent à différentes familles bactériennes: les entérobactéries sont représentées par *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. (*K. pneumoniae* et *K. oxytoca*), *Proteus* spp. (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri*), *Enterobacter* spp. (*E. cloacae*, *E. agglomerans*), *Citrobacter* (*C. freundii*, *C. braakii*, *C. koseri*). Au sein des *Pseudomonas*, l'espèce *P. aeruginosa* est la plus fréquemment isolée; les autres bactéries d'intérêt médical sont représentées par les Acinetobacter (*Acinetobacter baumannii*) (Liassine, 2000) donc les micro-organismes responsables d'infection nosocomiale sont des germes opportunistes souvent résistants au antibiotiques (Guibert et Boithias, 1999).

**Tableau 2. Présentation des bactéries à gram négatif responsables d'infection nosocomiales (Pozzetto, 2009).**

	souches	Habitat préférentiel	Mode de transmission	Porte d'entrée à l'hôpital	Principales pathologies nosocomiales
entérobactéries	<i>Escherichia.coli</i>	Humain (TD) Animal (TD) Environnemental (eau,aliment)	Contact indirect (manuportage)	Digestive Endogène	Diarrhée, Suppuration Infections urinaire et génitale Bactériémie Méningite Toxi-infection, alimentaire
	<i>Klebsiella sp</i>	Humain (TD) Animal (TD) Environnemental (eau, sol, végétaux)	Contact indirect (manuportage)	Digestive Endogène Respiratoire cutanéomuqueuse	Suppuration Infections urinaire Bactériémie pneumopathie

## Synthèse bibliographique

	<i>Enterobacter cloacae</i>	Humain (TD) Animal (TD) Environnemental (eau, sol, végétaux)	Contact indirect (manuportage)	Digestive Endogène Respiratoire cutanéomuqueuse	Suppuration Infections urinaire Bactériémie pneumopathie
Bacilles à gram négatif non fermentaires	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Humain (TD) Environnemental (eau, sol, végétaux)	Contact indirect (manuportage)	Digestive Endogène Respiratoire cutanéomuqueuse	pneumopathie Infections urinaire infection de la peau et des parties molles (plaie, brulure) Suppuration Bactériémie
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Humain (peau et muqueuse) Environnemental (eau, sol)	Contact indirect (manuportage)	Digestive cutanéomuqueuse	pneumopathie Bactériémie

TD=tube digestif.

### 1/les entérobactéries :

Les *Entérobactéries* sont des bacilles à Gram négatif facultatifs, retrouvés partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier (Verhaegen, 2004).

Ce sont des bactéries qui sont d'une longueur de 2 à 4 microns sur 0,4 à 0,6 microns de large, mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles, poussant sur milieux de culture ordinaires, aérobies - anaérobies facultatifs, fermentant le glucose avec ou sans production de gaz, réduisant les nitrates en nitrites, oxydase négatif (Pierre et al., 2003).

L'identification de ces espèces est de plus en plus facilitée au laboratoire par l'utilisation de nombreuses galeries d'identification dont les galeries classiques avec un nombre de caractères limités et les galeries API qui sont très performantes mais leur coût est élevé (Gueye., 2007).

Les entérobactéries possèdent toutes des antigènes de paroi « somatiques » ou antigènes

## Synthèse bibliographique

---

O. elles possèdent en plus des antigènes de flagelle « flagellaires » ou antigènes H et certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K. (Pierre et al ., 2003).

### 1-1-les principaux genres

#### 1-1-1-Escherichia coli

Généralité

*Escherichia coli* (colibacille) est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole (Pierre et al ., 2003 ).Elle se développe en 24 h à 37 C° dans les milieux gélosés en donnant de colonies rondes , lisses , de 2 à 3 mm de diamètre , non pigmentées (avril et al . , 1992 ).

Hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux ( $10^7$  à  $10^9$  par gramme de selles) (Cattoir, 2005). Elle provoque 40 à 50 % de toutes les infections nosocomiales (Verhaegen, 2004).

Selon le NICHD *E.coli* est la plus fréquente cause de sepsis précoce et tardive du aux bactéries à Gram - chez les nouveau né à terme. (D .kaufman et K.D Fairchild , 2004).

Cependant, les souches d'*E.coli* sont responsables de septicémie associée aux prématurités et haute mortalité (L.cordero et al . ,1999).Ainsi que de diarrhée et infection urinaire nosocomiale (S.M jacobsen et al . ,2008).

Pouvoir pathogène

Le colibacille est responsable d'infection intestinale et extra intestinale, ces souches sont classées dans des variétés pathogènes (Joly et Reynauld , 2003 ).

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

Les souches d'*Escherichia coli* responsables d'infection chez l'homme sont différentes de celles qui constituent l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie des adultes et des enfants (Delarras , 2007 ).

#### 1-1-2-Enterobacter

Généralité

sont des bacilles à gram négatifs, anaérobies, facultatives généralement mobiles et sont souvent VP positive (Delarras , 2007 ).

Le genre *Enterobacter* comprend 9 espèces dont *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. agglomerans* et *E. gergoviae* sont les plus importants. Les enterobacter sont des entérobacteries mobiles qui poussent rapidement sur tous les milieux d'isolement pour bacilles Gram négatif (Verhaegen, 2004).

## Synthèse bibliographique

---

### Pouvoir pathogène

Les *Enterobacter* sont responsables d'infections nosocomiales à l'hôpital (Delarras, 2007) dont les deux principales espèces qui sont *E. aerogenes* et *E. cloacae* peuvent être isolés à partir d'infection nosocomiales urinaire ou de plaie (Sougakoff et Trystam, 2003).

Cependant, *entérobacter sakazakii*, *E.agglomerans* et *E. cloacae* peuvent contaminer les aliments déshydratés des nouveaux-nés (kaufman et fairchild, 2004).

Ainsi, l'utilisation de céphalosporines de troisième génération augmente le risque de colonisation par *enterobacter cloacae*. (Lachassinne et al., 2003).

*E.cloacae* et *E.aerogenes* sont responsables des septicémies (Cordero et al., 1999). Alors que *E.sakazakii* peut causer le sepsis et méningite chez les prématurés (kaufman et fairchild, 2004). Ainsi que des abcès du cerveau et elle tue 40% à 80 % des nouveau-nés infectés (Bowen et Braden, 2006).

Ainsi, le cathétérisme intraveineux et la nutrition parentérale sont les facteurs de risque les plus importants pour la survenue des septicémies à entérobacter (Fok et al., 1998). Les espèces d'enterobacter sont aussi responsables de pneumonies associées à la ventilation (Foglia et al., 2007).

### 1-1-3-Klebsella

#### Généralité

Espèce commensale des voies aériennes supérieures et du tube digestif qui a un métabolisme fermentaire particulier, c'est-à-dire qui produit de l'acétone (Pierre et al., 2003).

Ce sont des Enterobacteriaceae toujours immobiles, généralement entourées d'une capsule polysaccharidique, plus ou moins volumineuse selon les espèces et selon les types antigéniques capsulaires. Elles peuvent avoir des origines très diverses : on les isole chez l'homme et les animaux, du sol, des végétaux, des aliments. (Verhaegen, 2004).

Le genre *Klebsiella* compte 5 espèces : *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. planticola*, *K. terrigena* et *K. ornithinolytica* (Delarras, 2007).

#### Pouvoir pathogène

Les *Klebsiella* sont des germes opportunistes chez les malades fragilisés (Delarras, 2007) qui peuvent impliquer dans des infections nosocomiales généralement les infections urinaires, les pneumopathies et les septicémies (Sougakoff et Trystam, 2003).

## Synthèse bibliographique

---

Elles provoquent aussi des surinfections des bronches chez les bronchitiques chroniques mais elle est naturellement résistante à l'ampicilline par production de pénicillinase chromosomique (Pierre et al ., 2003 ).

Les *klebsiella spp* sont rarement présentes sur la peau ou elles passent comme un membre transitoire de la flore de la dermique. (Podschn et Ullmann, 1998).

*Klebsiella pneumoniae* est présenté en tant que saprophyte dans le nasopharynx et l'intestin. (Podschn et Ullmann,1998).

Ainsi *k.pneumoniae* et *k .oxytoca* peuvent contaminer les aliments artificiels des nouveaux- né (Bowen et Braden , 2006).

*Klebsiella spp* est responsable des bactériémies dans les unités de néonatalogie (Alcanter-Curiel et al .,2004) ainsi que de pneumonie associée à la ventilation (Foglia et al ., 2007).

### **2/les bacilles à Gram négatif non fermentaire**

Les bacilles à Gram négatif non fermentant (BGNnF) sont des bactéries ubiquitaires retrouvés dans l'environnement, se développe entre 4 et 41 C° (Husson et al ., 2000) , elles sont dites pathogènes opportunistes car bien que pouvant être isolées d'infection communautaires et plus souvent responsables d'infection nosocomiale (Jarvis , 1992).

Ces bactéries ont une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques et peuvent acquérir de nombreuses autres résistances par pression de sélection antibiotique ou par échange de matériel génétique (Berthelot et al ., 2005).

Les genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter* jouent un rôle important dans les infections nosocomiales et sont multi résistantes aux antibiotiques (résistance naturelle et acquise), ce qui rend le traitement difficile (Morice, 2005).

#### **2-1-les principaux genres**

##### **2-1-1-Pseudomonas**

Généralités

Bacilles à Gram négatif, aérobies stricte, à métabolisme oxydatif, saprophytes de l'eau, des soles humides et des végétaux, 1 à 3 µm de long ; 0.5 à 1 µm de large, mobiles par une ciliature polaire, rarement immobiles, non sporulés (Talon et Bertrand, 2004) dont certains ont la capacité de se développer à une température de 42 C° et de sécréter des protéases ainsi que des toxines (Tanner et Chappuis, 2005).

Ce sont des bactéries chimio-organotrophes, réduisant les nitrates en nitrites, elles possèdent deux pigments caractéristiques : la Pyoverdine et la Pyocyanine et aussi sont caractérisées par leur résistance aux antiseptiques et aux antibiotiques (Avril et al . , 1992).

## Synthèse bibliographique

---

### Pouvoir pathogène

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie pathogène opportuniste, on la trouve dans le tube digestive (Fauchère , 2002) dont elle produit plusieurs toxines cytotoxiques (Nauciel , 2000).elle peut aussi surinfecter des lésions cutanées , des plaies traumatiques ou postopératoire(Cattoir , 2005).

Cette bactérie a des gènes de virulence qui sont exprimées sous le contrôle d'un mécanisme de régulation dépendant de la densité bactérienne c'est le quorum-sensing (Ruimy et al ., 2004) .

C'est une espèce répandue dans l'hôpital connue comme présente dans les incubateurs humidifiés , éviers et conduits de ventilation (kaufman et Fairchild ,2004). Ainsi que dans l'équipement de thérapie respiratoire, antiseptiques, savons et médicaments. (Lister et al., 2009).

*Pseudomonas* est responsable de 50% à 75% de mortalité due au sepsis tardif dans unités de soins intensives néonataux (kaufman et Fairchild , 2004).

### 2-1-2-Acinetobacter

#### Généralités

Les *Acinetobacter* sont des bacilles immobiles, souvent groupés en diplobacilles courts, aérobies stricts, oxydase négatif, habituellement saprophytes. Ils jouent un rôle d'opportuniste mineur en milieu hospitalier (Pierre et al ., 2003).

Ce sont des bactéries de l'environnement (eau, sol...) et commensales de la peau, elles possèdent 17 espèces dont *A. baumannii* est l'espèce la plus fréquemment rencontrée dans ce type d'infection (Cattoir, 2003).

#### Pouvoir pathogène

*Acinetobacter baumannii* est un pathogène opportuniste responsable d'infections pulmonaires, les infections de plaies et de tracus urinaire (Jans et al ., 2004). Leur grande résistance aux antibiotiques rend le traitement de ces infections difficile. (Levent et al ., 2011).

Les infections envahissantes à *Acinetobacter* chez les nouveaux nés se manifestent généralement sous forme de bactériémie, de méningite ou les deux ensemble (Robinson et al ., 2008).

Lors de bactériémie, les espèces d'*Acinetobacter* peuvent être retrouvées comme étant un seul pathogène, ou comme une partie d'une bactériémie polymicrobienne (Bergogne-Bérézin et Towner ,1996).

Selon les données provenant de la surveillance nationale des IN en Etats-Unis en 2003, *Acinetobacter spp* cause 6,9% de pneumonies nosocomiales, 2,4% des septicémies ,2.1% d'ISC et 1.60% d'IUN (kilic et al ., 2008).

## Synthèse bibliographique

---

Ces pathogènes opportunistes ont la capacité de survivre lentement et de persister dans l'environnement hospitalier sur des surfaces abiotiques multiples (Brossard et Campagnari ,2011).

La vraie fréquence des IN causées par *Acinetobacter* n'est pas facilement déterminée car l'isolement de ces germes à partir des prélèvements cliniques ne reflète pas seulement l'infection mais aussi la colonisation. (Bergogne-Bérézin et Towner ,1996).

# Synthèse bibliographique

---

## Chapitre 3 : Diagnostic et traitement des infections nosocomiales néonatales

### 1. Diagnostic

Le diagnostic est une procédure permettant de distinguer une maladie sur la base des symptômes décrits et des examens pratiqués. (Petignat ,2005).

1-1-Les critères de diagnostic :

Le diagnostic des infections nosocomiales repose sur :

- Les signes cliniques imposent un bilan biologique.
- Les signes hématologiques, les tests d'inflammation, les anomalies de la radio pulmonaire
- Le diagnostic d'infection sera confirmé pas les examens bactériologiques :

-On pratique systématiquement une hémoculture, un ECBU et une ponction lombaire.

-les prélèvements périphériques n'ont pas de valeur chez les nouveau-nés mais peuvent mettre en évidence une flore prédominante dans les selles ou le liquide gastrique.

L'examen microbiologique permet d'identifier les pathogènes responsables des infections, et de déterminer leur sensibilité aux antibiotiques. Cela permet de choisir le traitement adapté à chaque patient (Denis et al., 2007).

1-2- Les différents diagnostics :

**NFS** : numération formule sanguine reste très utilisée dans les situations des infections néonatales (HAS « Haute Autorité de Santé »,2009).

**CRP** : la C-réactive protéine semble être un outil intéressant pour le diagnostic et le suivi des nouveau-nés (Merchaoui et al .,2009) .

**PCT** : La procalcitonine est un marqueur d'infection bactérienne reconnue. Les malades hospitalisés ont souvent des taux de procalcitonine de base élevé, ce qui rend ce marqueur peu utile pour diagnostiquer une infection nosocomiale (Luyt, 2010).

**Les interleukines** : parmi Les interleukines, l'Il-6 est la mieux validée, est un marqueur très utilisé en routine dans les infections néonatales (HAS ,2009).

D'après plusieurs études, le couple CRP-IL6 constituerait le marqueur le plus sensible pour le diagnostic de l'infection néonatale (Mishrac et al., 2006).

## Synthèse bibliographique

---

**ECBU** : Examen cyto bactériologique des urines : L'ECBU chez le nouveau-né de moins de 72 heures suspect d'infection précoce d'origine maternelle. (ANAES ,2002)

**Coproculture** : c'est l'examen bactériologique des selles L'objectif de cette analyse consiste à rechercher le(s) micro-organisme(s) pathogène responsable de la diarrhée (Archambaud et Clave ,2008).

**LCR** : Examen bactériologique du liquide céphalo-rachidien(LCR) ; celui –ci est pratiqué devant toute suspicion de méningite (Archambaud et Clave, 2008).

Chez les nouveau-nés, les germes responsables de la méningite purulente sont surtout les entérobactéries (Bisco, 2011).

**L'hémoculture** : est l'examen de référence pour confirmer l'infection néonatale (Has, 2009).

1-3-Diagnostic de laboratoire en microbiologie :

### ✚ Prélèvement

Pour la mise en évidence d'un agent infectieux, il est important de savoir si le prélèvement à analyser provient d'une région corporelle habituellement stérile, ou si le prélèvement peut contenir une flore de colonisation. (Kayser et al .,2008).

### ✚ Procédés diagnostiques

Une infection peut être diagnostiqué directement par l'isolement de la bactéries ou de l'un de ses constituants ou d'une de ses productions, mais aussi indirectement par la mise en évidence d'une réaction immunologique spécifique contre cet agent infectieux.(Kayser et al .,2008).

Une identification positive du pathogène dans un prélèvement du patient est couplée avec un test de sensibilité aux antibiotiques « antibiogrammes » ou de E test pour définir le traitement convenable.

## 2. Traitement

### 2-1-La résistance aux antibiotiques

Pour chaque antibiotique est défini un spectre d'activité c'est-à-dire l'éventail des espèces bactériennes "sensibles", susceptibles d'être inhibées par des concentrations de cet antibiotique (surtout *in vivo* après utilisation d'une posologie standard)par contre Une espèce

## Synthèse bibliographique

---

non sensible, qui n'entre pas dans le spectre d'activité d'un antibiotique, est dite résistante. Cette résistance est liée à un ou plusieurs mécanismes biochimiques, qui impliquent l'étude des interactions entre l'antibiotique et les voies métaboliques de la bactérie (Duval et al., 1990).

### 2-2-Définition de la résistance

Une souche est dite "résistante" lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique, notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Faure, 2009).

Un micro-organisme est considéré « résistant » lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Carle, 2009).

### 2-3-Résistance des bactéries à gram négatif aux antibiotiques :

#### 2-3-1-La nature de la résistance aux ATB :

##### 2-3-1-1-Résistance non génétique ;

Elle n'est pas transmissible que ce soit verticalement ou horizontalement .elle est souvent une conséquence du milieu ou d'un changement brusque dans le métabolisme d'une bactérie. (Tremblay 2007).

##### ❖ L'évasion ;

Se produit lorsque la bactérie infectante est placée hors d'atteinte de l'ATB soit à cause d'une mauvaise distribution de ce dernier dans l'organisme ou d'une forme de fruits de la bactérie. (Tremblay 2007).

##### ❖ Arrêt de production de la majeure partie de paroi bactérienne ;

Cela rend la bactérie insensible aux agents antimicrobiens qui agissent sur le système de la paroi (Tremblay 2007).

##### ❖ Surproduction ou absence de la cible (Tremblay 2007).

#### 2- 3-1-2-Résistance génétique :

##### ❖ La résistance naturelle ou résistance intrinsèque

C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne (Yala et al., 2001) et délimite le spectre d'activité de l'antibiotique. Elle est liée aux caractéristiques physiologiques de l'espèce ou à la présence constitutive d'un gène de structure (Croizé, 2012).

La résistance naturelle se traduit par des CMI supérieures à la valeur critique basse de concentration (c) de l'antibiotique concerné (Euzéby, 2006) dont elle peut être due à la présence d'un gène chromosomique commun à toutes les bactéries de l'espèce (Faure, 2009).

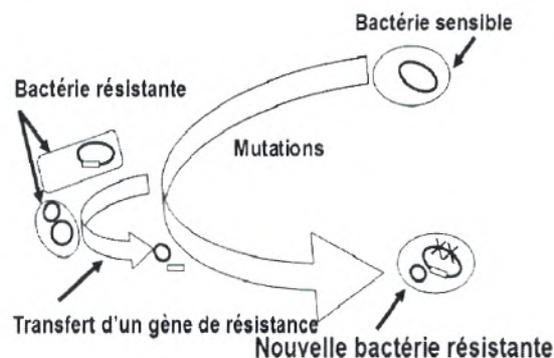
## Synthèse bibliographique

### ❖ La résistance acquise

La résistance bactérienne acquise n'apparaît que chez quelques souches d'une espèce donnée normalement sensible. Elle résulte de l'emploi thérapeutique des antibiotiques et elle est due soit à une mutation chromosomique, soit à l'acquisition d'un (ou de plusieurs) gène(s) qui rend (ent) la bactérie insensible à l'antibiotique (Duval et Soussy ., 1990) ; se fait soit par ;

➤ Les résistances mutationnelles sont chromosomiques, spontanées, rares (fréquence de  $10^{-6}$  à  $10^{-9}$ ), stables et transmissibles uniquement de façon verticale. L'antibiotique n'est pas l'agent mutagène, il sélectionne seulement les mutants devenus résistants. Elles n'intéressent qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotique à la fois (Faure, 2009). (Figure 1)

➤ Les résistances par acquisition d'ADN sont la conséquence d'un transfert horizontal compris entre espèces éloignées phylogénétiquement. Les gènes de résistance aux antibiotiques, pour la plupart chromosomiques, proviennent généralement de microorganismes producteurs d'antibiotiques pour lesquels ils sont immunisés. Le transfert de ces gènes sera rendu plus efficace après leur intégration sur des éléments mobiles tels que les plasmides, les transposons, les intégrons ou encore sur des phages (Guerout et al ., 2001). Ces mécanismes de résistance peuvent alors diffuser très rapidement dans une population (Christensen et al ., 1999).



**Figure 1 : Emergence d'une résistance acquise aux antimicrobiens (Carle, 2010).**

2- 4-Les principaux mécanismes de la résistance (tableau 3), (figure 2)

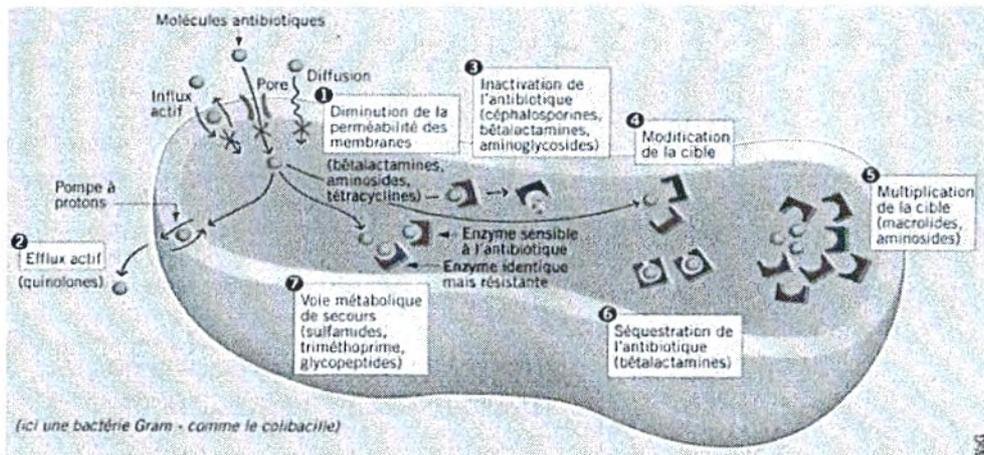
Il existe quatre mécanismes principaux par lesquels les micro-organismes développent de la résistance :

- \*L'inactivation enzymatique.
- \*La modification du site d'action
- \*La diminution de la perméabilité membranaire des bactéries à gram négatif.
- \*L'augmentation de l'efflux (Label et Soussy ., 2007).

**Tableau 03 : Les différents mécanismes de la résistance (Carle, 2010).**

## Synthèse bibliographique

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



**Figure2 : représentation des mécanismes de résistance aux antibiotiques (Denis et Marina ., 1998).**

Ces mécanismes peuvent être classés en mécanisme enzymatique et mécanisme non enzymatique

### 2-4-1-Mécanisme de la résistance enzymatique

La bactérie produit une enzyme qui inactive ou détruit l'antibiotique c'est le mécanisme le plus répandu (Carle ,2009). Il existe une variété d'enzyme B-lactamase capables d'hydrolyser le cycle B-lactamase des B-lactamines , classées selon leur séquences d'acides aminées en 4 groupes(A,B et C,D) c'est classification d'Ambler.(Mérens et al .,2011).

## Synthèse bibliographique

---

Ainsi les enzymes des classes A, C et D possèdent une sérine au niveau de leur site actif tandis que les enzymes appartenant à la classe B requièrent un cation divalent, en général le zinc comme cofacteur, d'où leur nom de métallo-enzyme. (Mérens et al., 2011).

### 2-4-2- Mécanisme de la résistance non enzymatique

#### ❖ Mécanisme de la résistance par imperméabilité :

Ce mécanisme est utilisé par les bactéries pour empêcher l'ATB de pénétrer dans la cellule. (Tremblay 2007).

Chez *Pseudomonas aeruginosa*, la diminution de l'expression de la porine OprD ou D2 ou son altération est responsable de la résistance à l'imipénème (Aubert et Carricajo, 2005).

Ainsi, la membrane externe en limitant la vitesse de pénétration intracellulaire des ATB favorise l'action d'enzymes hydrolytiques ou modificatrices ou de systèmes d'efflux (Mérens et al., 2011).

Cette bactérie résiste aux carbapénèmes en présence de zinc, cadmium ou de cobalt : elle enclenche un interrupteur qui permet d'activer l'expression d'un système d'efflux expulsant les métaux hors de la bactérie et ferme en même temps la porine OprD. (Perron et al., 2009).

#### ❖ Mécanisme de résistance par système d'efflux :

La bactérie peut utiliser une pompe spécifique pour sortir l'ATB de la cellule.

*Pseudomonas aeruginosa* est capable de produire pas moins de douze systèmes d'efflux actif différents appartenant à la famille RND (resistance nodulation cell division) mais seulement 2 systèmes appelés Mex (multiple efflux) contribuent à la résistance naturelle aux ATB (Mérens et al., 2011).

Ainsi, la pompe dénommée MexAB-OprM est responsable en grande partie de la résistance naturelle de cette bactérie aux aminosides, fluoroquinolones et tétracyclines. (Mérens et al., 2011). Il est important de mentionner que ces systèmes d'efflux fonctionnent grâce à l'énergie de la membrane cytoplasmique. (Mérens et al., 2011).

#### ❖ Mécanisme de résistance par modification de cible :

Ce type se produit lorsqu'une bactérie contourne le mode d'action de l'antibiotique. Elle peut alors posséder une version modifiée de la cible d'un antibiotique, ou acquérir une voie métabolique complète pour contourner l'effet de l'antibiotique. (Tremblay, 2007).

### 2-4-3-Phénotype de résistance

C'est un groupe d'antibiotiques permettant au mieux, avec le plus de précision possible de préjuger les mécanismes de résistance dont dispose une bactérie donnée et notamment, mais pas exclusivement de son équipement enzymatique.

## Synthèse bibliographique

---

	Acide clavulanique	Acquise	B-lactamase	7
--	-----------------------	---------	-------------	---

1 ;verhaegen ,2004

2 ;Glupczynski et al .,2010

3 ;Nauciel ,2000

4 ; Mérens et al. , 2011

5 ; Nordmann , 2010

6; Avril, Fauchère, 2002

7 ; Nordmann et Poirel , 2006.

EROUDEM

DE

REDEM

## Matériel et Méthode

---

### 1-Type d'étude :

C'est une étude transversale visant d'identifier certaines bactéries responsables de colonisation des nouveau-nés ainsi que de déterminer leur niveau actuel de résistance.

### 2- Lieu d'étude :

Unité de néonatalogie à l'établissement hospitalisé E.H.S. mère et enfant de Tlemcen.

### 3- Période d'étude :

Le 2<sup>ième</sup> trimestre de l'année 2013 à partir de 21 avril 2013 jusqu'à 26 mai 2013.

### 4- Population étudiée :

Les nouveau-nés âgés de 1 à 30 jours y compris les prématurés et les nouveau-nés à terme admis à l'unité de néonatalogie à l'établissement hospitalier spécialisé E.H.S. mère et enfant de Tlemcen.

A chaque sujet seront associées les informations suivantes : la date de naissance, le sexe, le poids, l'âge gestationnel, la date d'admission, le diagnostic présumptif et l'antibiothérapie.

### 5- Démarche suivie : (figure 3)

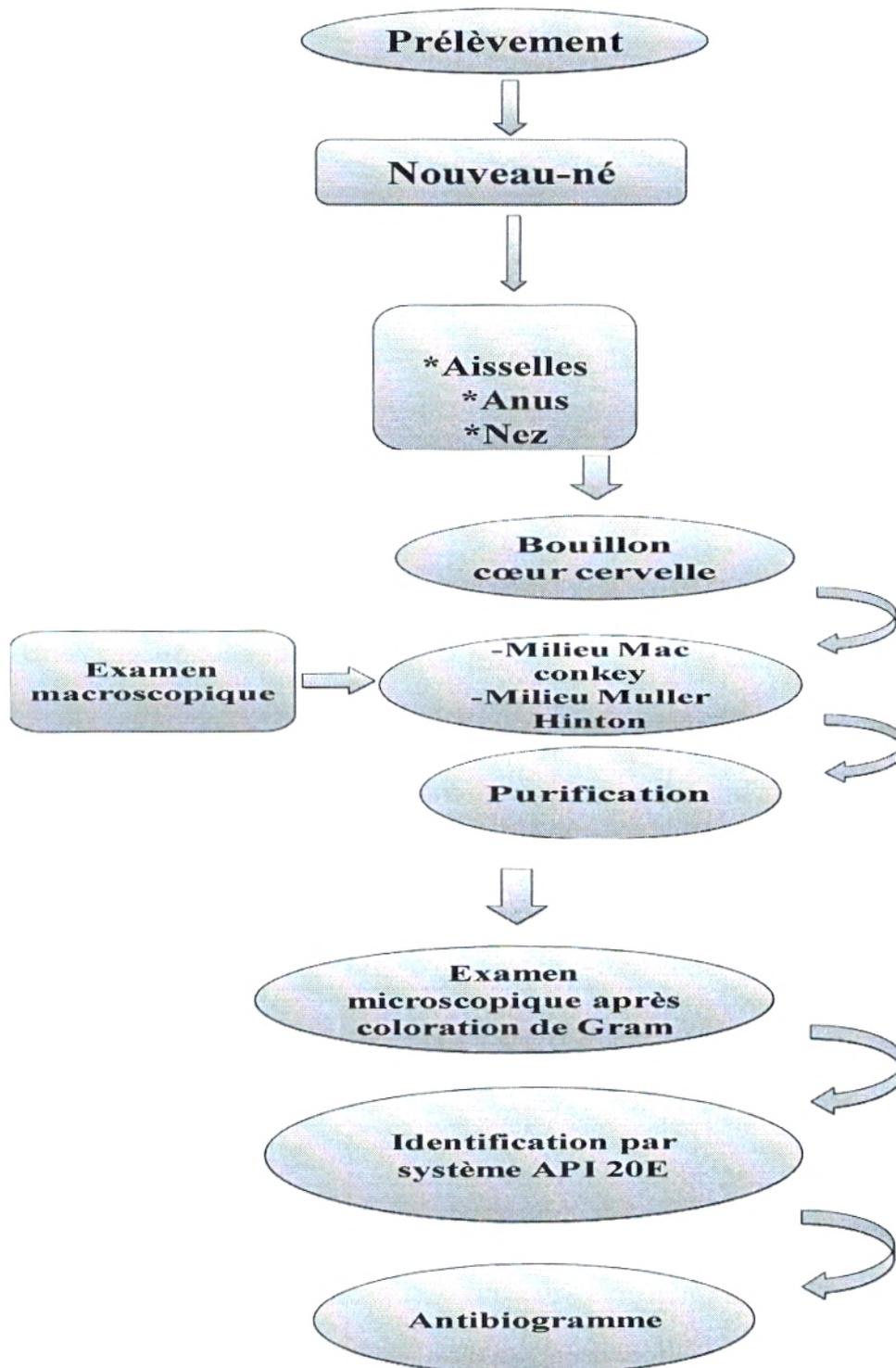


Figure 3 : Schéma de la démarche suivie.

Cette technique permet de déterminer la morphologie des bactéries présentes dans un frottis (cocci ou bacilles). Les bactéries colorées en roses sont des bactéries à Gram négatif et celles colorées en violet sont des bactéries à Gram positif.

### 6-5-Test de catalase

La catalase est une enzyme catalysant la dismutation de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène). Cette enzyme est utilisée en bactériologie systématique pour l'identification des bactéries. Le test de catalase est important pour la première orientation dans l'identification d'une souche pure bactérienne.

#### ❖ Technique

Sur une lame de verre propre, déposer une goutte de  $H_2O_2$ , puis la mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette pasteur boutonnée ou une anse plastique à usage unique. Il ne faut pas utiliser une anse en métal car elle serait alors oxydante :

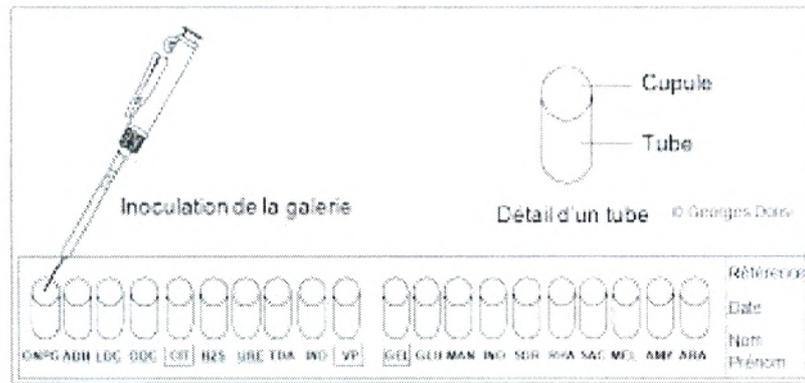
- formation de bulles, la bactérie possède la catalase.
- rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme.

### 6-6-Identification

Le système API 20 E est une version miniaturisée et standardisée des techniques conventionnelles pour l'identification des bactéries.

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratés (figure 6). Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. (Arnaud, 2008).



**Figure 4 : la présentation d'une galerie API 20 E.**

❖ Préparation de l'inoculum ;

-Remplir les tubes à essai avec 5 ml de l'eau physiologique stérile.

-Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu Mac conkey à l'aide de pipette pasteur. Utiliser des cultures jeunes (18-24 h).

-Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être inoculée ex-temporairement.

❖ Préparation de la galerie :

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

-Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

-Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

❖ Inoculation de la galerie :

-Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.

-Remplir uniquement les tubes des autres tests.

-Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H2S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

-Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18 à 24 heures.

❖ Lecture de la galerie :

Après incubation, lire les réactions conformément au tableau de lecture présenté dans l'annexe 1 en ajoutant une goutte de chacun des réactifs suivants :

## Matériel et Méthode

---

-test IND ; Kovacs

-test VP ; VP1 et VP 2.

-test NIT; NIT 1 et NIT 2.

❖ Identification :

Elle est réalisée à l'aide du logiciel d'identification.

6-7-Antibiogramme :

L'antibiogramme a été effectué selon la méthode de diffusion de l'antibiotique sur gélose selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2011 présentés dans l'annexe 2.

❖ Principe :

Est basé sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient d'antibiotique qui diffuse à partir de disque dans le milieu gélosé.

Le diamètre de la zone d'inhibition varie selon la sensibilité de la souche.

❖ Technique :

-La gélose Muller Hinton doit être coulée en boîtes sur une épaisseur de 4 mm et séchées avant l'emploi.

-A partir d'une culture jeune de 18 à 24 h, préparer une suspension d'une colonie dans 10 ml de l'eau physiologique sous agitation à l'aide d'un vortex.

-Prélever 1 ml du mélange précédent et mettre dans 9 ml de l'eau physiologique puis verser sur la boîte de pétri et laisser pendant 10 min.

-Jeter l'excès et laisser reposer 5 min puis déposer les disques d'antibiotiques à la surface de la gélose en les appliquant délicatement à la pince stérile.

-Etuver 18 à 24 h à 37 C°.

-Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés et comparés aux valeurs critiques figurant dans le table de lecture, puis la bactérie est classée dans l'une des catégories ; sensible, intermédiaire ou résistante. (Annexe 2).

## Matériel et Méthode

---

6-8-conservation des souches ;

Les souches bactériennes isolées et purifiées ont étéensemencées dans la gélose nutritive inclinées et incubées à 37 C° pendant 24 h ensuite elles ont été conservées dans le réfrigérateur à 4 C°.

Résultat

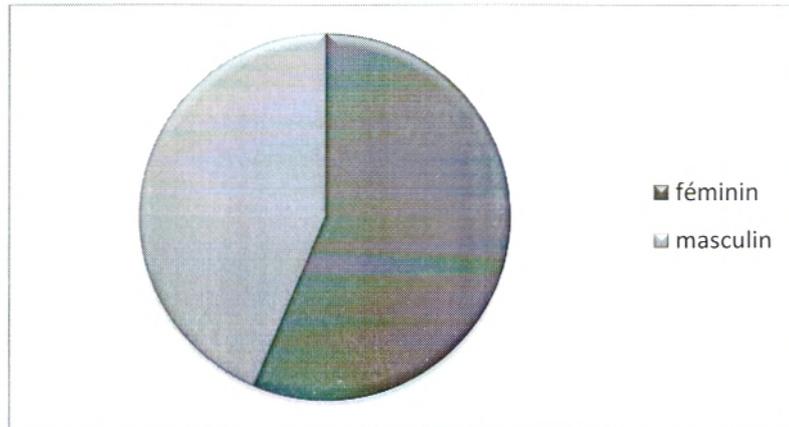
et

discussion

### Résultats :

Au cours de la période d'étude s'étalant de 21/04/2013 au 26/05/2013, 40 prélèvements ont été réalisés à partir des nouveau-nés hospitalisés au niveau de l'unité de néonatalogie de l'EHS de Tlemcen.

Ces nouveau-nés sont composés de (43,75%) garçons et (56,25%) filles (Figure 5).

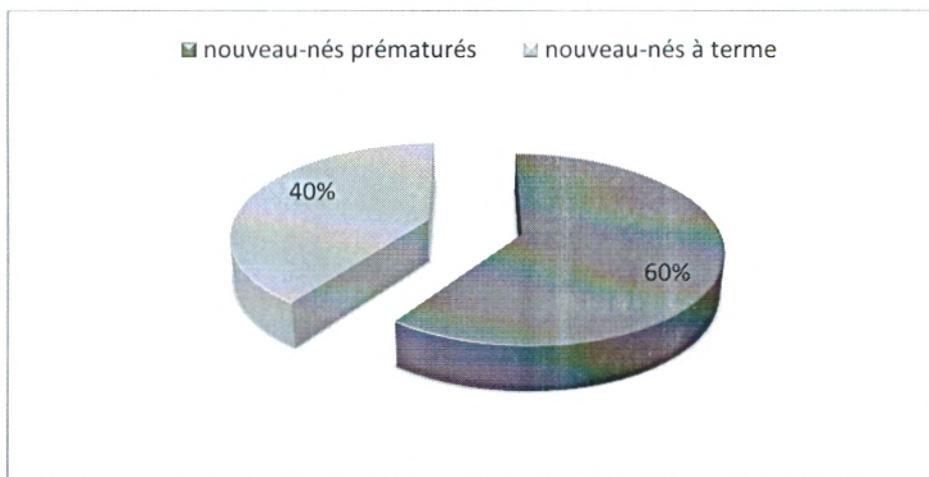


**Figure 5 : La répartition de la population étudiée en fonction du sexe**

Parmi les nouveau-nés à terme, un d'une mère diabétique, un nouveau-né atteint de syndrome de détresse respiratoire.

Parmi les prématurés un a eu insuffisance rénale et un prématuré a été mort.

Dans cette population, il ya 8 nouveau-nés à terme et 12 nouveau-nés prématurés (figure 6) ; la prématurité est un facteur d'infection nosocomiale (Srivastava et Shetty, 2007).



**Figure 6 : la répartition des nouveau-nés selon leurs âges gestationnels.**

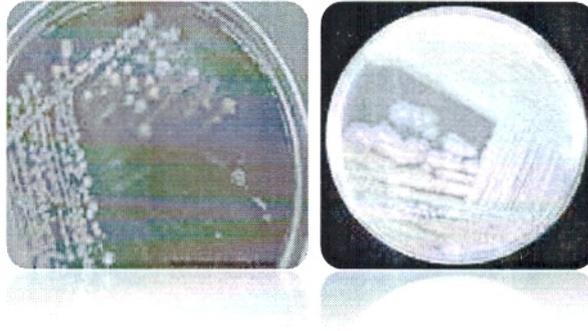


Figure 7 : Aspect des colonies dans les boîtes de pétri après incubation

### 1-Coloration de Gram :

Pour les prélèvements effectués sur les nouveau-nés, les bacilles à Gram négatifs ont été les plus réponsus (62%), mais il existe des cocci à Gram négatif (30%) et quelques cocci à Gram positifs (8%)

- Cocci à Gram négatif regroupés en amas.
- Bacilles à Gram négatif.
- Cocci à Gram positif.
- Bacilles à Gram négatif regroupés en chainettes.

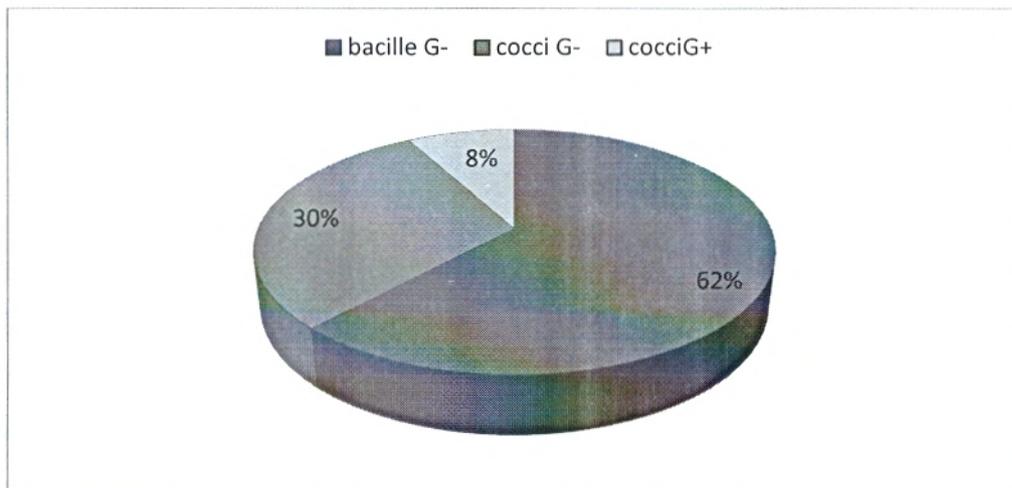


Figure 8 : la répartition des bactéries dans les prélèvements des nouveau-nés.

### 2-Catalase :

Pour les prélèvements effectués sur les nouveau-nés, 77.5 % possèdent catalase positif et 22.5% possèdent catalase négatif.

## Résultats et discussion

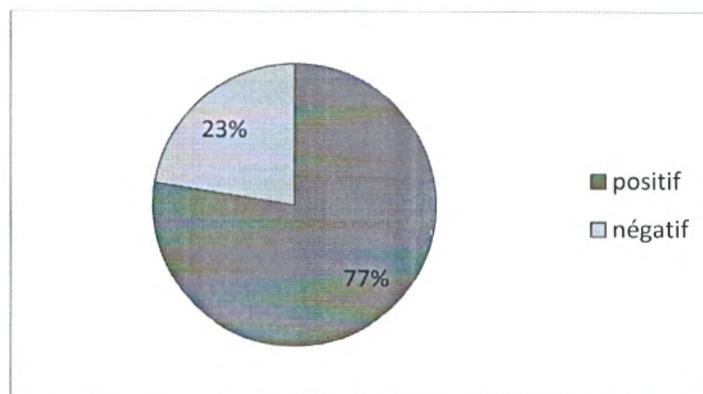


Figure 9 : la répartition des prélèvements selon la présence et l'absence des bulles.

### 3-Identification :

Sur 80 souches isolées et purifiées 40 souches ont été identifiées avec la galerie API20 E. (Figure 10).

#### *E. coli 1*



#### *Klebsiella oxytoca*



Figure 10 : Exemples des résultats d'identification des bactéries selon API20E.

Les résultats de l'identification selon l'origine des souches identifiées sont présentés dans le tableau 5.

## Résultats et discussion

**Tableau 5 : Résultats d'identification pour les prélèvements des nouveau-nés.**

Patients	Cas de patient	Sites de prélèvement	Les souches
1	T	-Anus -Aisselle -Nez	- Salmonella spp - Entérobacter aerogenes -Serratia fonticola
2	Pré	-Anus -Aisselle	- Enterobacter cloaceae - Raoultella ornithinolytica
3	Pré	-Nez -Anus	- Raoultella ornithinolytica - Entérobacter aerogenes
4	Pré	- Aisselle - Nez - Anus	-Klebsiella oxytoca - Salmonella spp - Entérobacter aerogenes
5	Pré	-Anus -Aisselle -Nez	- Entérobacter aerogenes -Eikenella corrodens -Serratia marcescens
6	T	-Nez -Anus	- Entérobacter cloacae - Entérobacter aerogenes
7	Pré	-Anus -Aisselle -Nez	- Entérobacter cloacae -Moraxella spp - Entérobacter aerogenes
8	Pré	-Nez -Anus	- Moraxella spp - Serratia marcescens
9	T	- Aisselle - Nez - Anus	- Entérobacter aerogenes -E.coli 1 - Raoultella ornithinolytica
10	T	-Nez -Anus	- Raoultella ornithinolytica - Raoultella ornithinolytica
11	Pré	- Aisselle - Nez - Anus	- Raoultella ornithinolytica - Klebsiella oxytoca - Klebsiella oxytoca
12	Pré	- Aisselle - Nez	- Raoultella ornithinolytica - Raoultella ornithinolytica
13	Pré	-Nez -Anus - Aisselle	- Raoultella ornithinolytica - Entérobacter aerogenes - Photobactérium dansela
14	T	- Nez - Anus	- Raoultella ornithinolytica - Raoultella ornithinolytica
15	Pré	-Anus -Aisselle	- Entérobacter aerogenes - Raoultella ornithinolytica
16	T	- Aisselle - Nez - Anus	- Entérobacter aerogenes - Raoultella ornithinolytica -Pseudomonas aeruginosa

T : nouveau-né à terme

Pré : nouveau-né prématuré

## Résultats et discussion

Les résultats montrent une forte présence de *Raoultella ornithinolytica* (13 souches) et aussi *Entérobacter aerogenes* (10 souches) dans les différents sites de prélèvement suivie par :

- *Klebsiella oxytoca*, *Entérobacter cloacae* (3 souches)

- *Moraxella spp*, *Salmonella spp* (2 souches).

-une faible présence pour *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli 1*, *Eikenella corrodens*, *Serratia marcescens* (une seule souche de chacune).

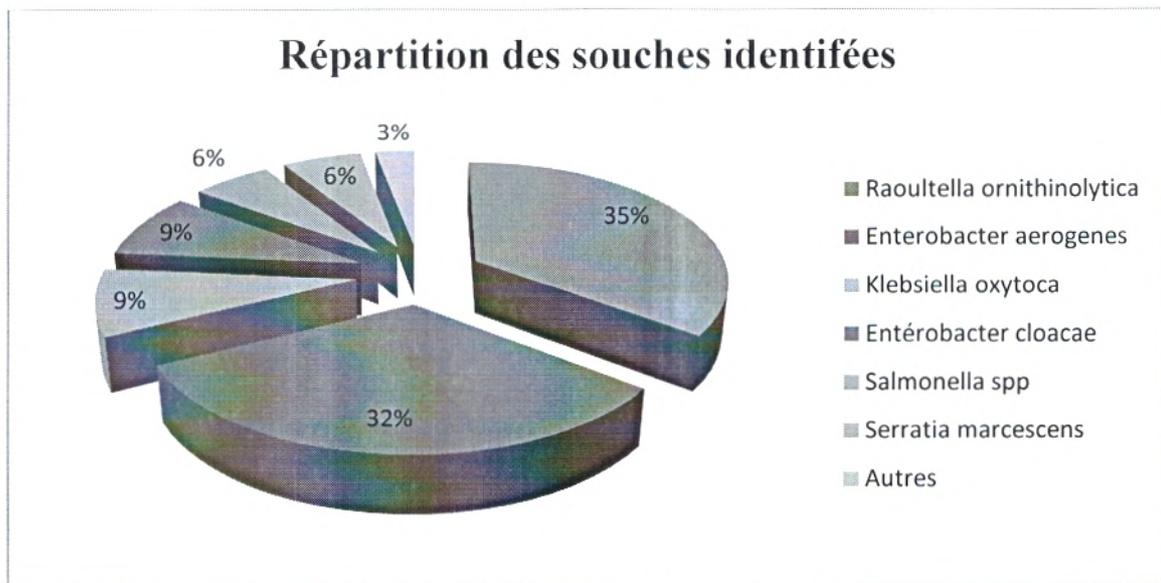


Figure 11: Répartition des souches identifiées.

### 5-La résistance aux antibiotiques :

Sur 40 souches identifiées 20 souches ont été réalisés par l'antibiogramme.

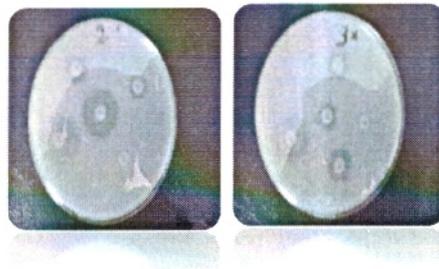


Figure 12 : Exemples des résultats d'antibiogramme des bactéries.

Les résultats sont dans le tableau suivant :

## Résultats et discussion

**Tableau 6: Résultats d'antibiogramme pour les souches provenant des nouveau-nés**

souches	Cefrazidine	Ofloxacine	Amoxicillin	Ticarcilin	Gentamycin	Cefuraxin	Tobramycin
<i>Salmonella spp</i>	R	R	S	R	I	R	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	R	S	R	R
<i>Klebseilla oxytoca</i>	R	S	R	R	I	R	R
<i>Salmonella spp</i>	R	R	S	R	R	R	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	S	R	R	R	R	I
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	S	R	R	R	I	R
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	R	S	R	S	R	R	R
<i>Serratia fonticola</i>	R	S	R	R	R	I	I
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	S	R	R	I	R	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	S	R	R	R	R	I
<i>E. coli 1</i>	R	S	R	R	I	R	S
<i>Moraxella spp</i>	R	S	S	R	S	S	S
<i>Serratia marcescens</i>	R	I	R	S	S	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	S	R	S	S	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	S	S	R	S	I	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	S	R	R	R	R	S
<i>Serratia marcescens</i>	R	I	R	R	R	S	S
<i>Moraxella spp</i>	R	S	R	R	R	R	I
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	S	R	R	R	R	I
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	S	I	R	R	R	R

I : intermédiaire      R : résiste      S : sensible

**Tableau 7 : L'antibiotype des souches.**

Les souches	Antibiotype
<i>Salmonella spp</i>	CAZ-OFX-TCC-CXM
<i>Enterobacter cloacae</i>	CAZ-OFX-AMC-CXM-TCC-TOB
<i>Klebseilla oxytoca</i>	CAZ-AMC-TCC-CXM-TOB
<i>Enterobacter aerogenes</i>	CAZ-AMC-TCC-GN-CXM
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	CAZ-AMC-GN-CXM-TOB
<i>Serratia fonticola</i>	CAZ-AMC-TCC-GN
<i>E. coli 1</i>	CAZ-AMC-TCC-CXM
<i>Moraxella spp</i>	CAZ-TCC-AMC-GN-CXM
<i>Serratia marcescens</i>	CAZ-AMC-TOB

## Résultats et discussion

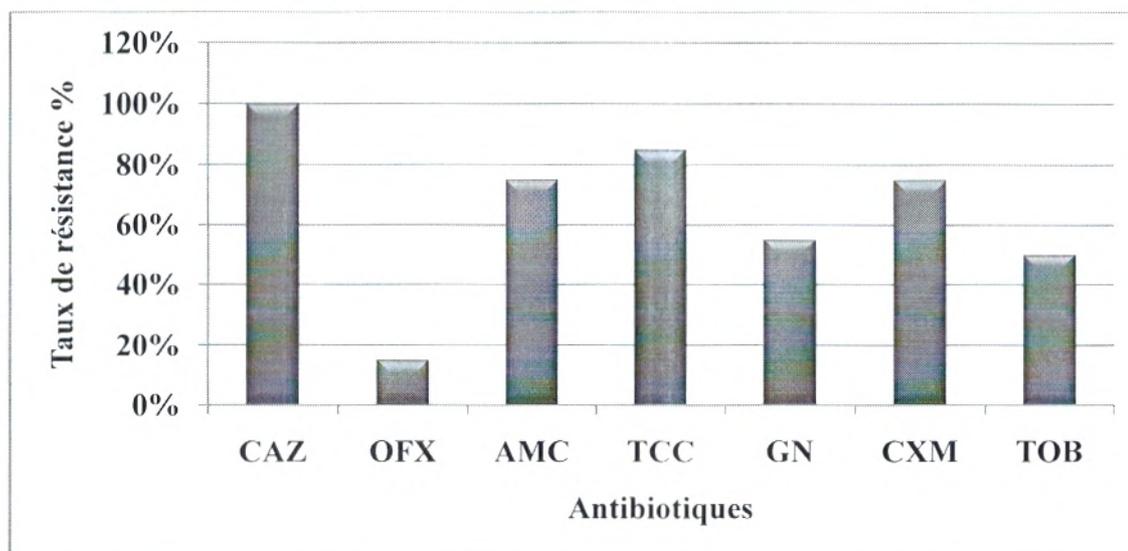


Figure 13 : profil de résistance de souches testées

- Les souches isolées des nouveau-nés ont exprimé une forte résistance de 100% à Cefrazidine suivi par 85% de Ticarcillin.
- Ses souches donnent même taux de résistance 75% à l'Amoxicilline et Cefuraxine.
- Ainsi, ses souches ont exprimé un niveau moyen de 55% à l'Gentamycin et 50% à Tobramycin suivi par un seuil faible de l'Ofloxacine.

### Discussion :

#### \*Identification

-les aisselles des nouveau-nés prématurés sont colonisé fréquemment par *Raoultella ornithinolytica* suivie par *Klebseilla oxytoca* et *Moraxella spp.*

- Alors, les aisselles des nouveau-nés à terme sont colonisé fréquemment par *Enterobacter aerogenes*.

-l'anus des nouveau-nés prématurés sont colonisés fréquemment par *Enterobacter aerogenes* suivie par *Enterobacter cloacae* et *Serratia marcescens*.

- l'anus des nouveau-nés à terme sont colonisé fréquemment par *Raoultella ornithinolytica* suivie par *Enterobacter aerogenes* et *Salmonella spp.*

-l'anus de nouveau-né atteint syndrome détresse respiratoire est colonisé par *Enterobacter aerogenes*.

Donc *Raoultella ornithinolytica* est l'espèce la plus fréquente qui colonise les aisselles des nouveau-nés prématuré et *Enterobacter aerogenes* est l'espèce bactérienne la plus fréquente qui colonise les aisselles des nouveau-nés à terme.

## Résultats et discussion

---

A l'hôpital, le prématuré est rapidement colonisé par des bactéries qui sont éventuellement multi-résistantes (SFHH, 2007). C'est le cas de *Raoultella ornithinolytica* dans les aisselles des prématurés.

Alors l'origine de cette bactérie peut être la flore hospitalière.

L'origine de l'espèce *Enterobacter aerogenes* peut être la flore fécale des nouveau-nés.

Les bactéries de la flore résidente longtemps considéré comme peu dangereuses peuvent devenir pathogène opportuniste lors d'effraction du revêtement cutané et provoque des infections sévères (Baumgartner et al., 1998).

Les mains portent souvent une flore transitoire abondante.

L'origine de *Serratia fonticola* peut être les mains du personnel soignant.

Dans une étude similaire en 2010 les chercheurs ont trouvé 14 *E.coli* et 13 de *klebsiella oxytoca* et 2 *Enterobacter cloacae* comme résultat et d'autres bactéries non trouvées dans notre étude tel que *klebsiella ozaenae* (Andrianri velo et al., 2010)

Dans une autre étude les bactéries Gram négatif qui sont responsables de la septicémie sont *enterobacter cloacae* (8%), *klebsiella oxytoca* (8%), *E.coli* (23%) et de *klebsiella pneumoniae*, *burchholderia pichetti* (45%) (Jellimann, 2002) dont les deux espèces dernières s'ont pas trouvées dans notre recherche.

Autre étude effectuée par Jelleman en 2002 a trouvé deux septicémies nosocomiales à de *klebsiella* et une à *enterobacter cloacae*.

*klebsiella oxytoca* est responsable des IN endogènes (CCLIN, 2004) et *pseudomonas* est responsable 9% des IN endogènes néonatales (Vasseneix et al., 2010).

La septicémie nosocomiale d'origine endogène est causée par *enterobacter cloacae* et par les souches suivantes ; *camprylobacter jejuni*, *E.coli*, *clostridium difficile*, *salmonella enteritidis* (Jeziorski et al., 2010).

Selon Villers 2009, les germes responsables des IN sont *Pseudomonas aerogenosa*, *Klebsiella*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia*, *Acinetobacter*.

### \*La résistance aux antibiotiques

Le taux de résistance à la gentamicine (55%) dans notre étude est supérieur à celui retrouvé dans l'étude de Nadmi et al (2009) qui était de 8,7%.

La molécule Cefazidime a été plus active chez toutes les souches testées dans notre étude par contre selon l'enquête trans-réseaux de l'ONERBA en 2007 confirment 6.5% ses souches résistants à CAZ.

Les entérobactéries peuvent également s'avérer très résistantes : *klebsiella*, *serratia*, *proteus* dont cette dernière pas trouvée dans notre recherche.

## Résultats et discussion

---

Selon OMS La résistance d'*E.coli* aux principaux antibiotiques augmente dans presque tous les pays d'Europe. *E.coli* est l'une des bactéries les plus courantes ; elle provoque des infections respiratoires et des affections plus sérieuses sachant que dans notre étude on trouve un niveau faible de résistance pour cette espèce.

Pour la résistance à l'amoxicilline ; en France 0.03% d'*E.coli* (en 2010) et plus élevé dans les pays tels que la Grèce 44% ou Chypre 17% (institut national de la sante et de la recherche médicale).

L'ofloxacine a été la molécule plus active pour la sensibilité des souches testées dont 3% des souches ont été acquies une résistance à cette antibiotique selon Ershova et al en 2012.

Selon Pylori H(1995), ses souches ont été présentés 70% une résistance naturelle à l'AMC en revanche la résistance à l'OFX est faible (6%).

Selon les travaux dans faculté de médecine (Pierre et Marie curie) en 2002, *E. cloacae* et *E. aerogenes* sont naturellement résistants à l'amoxicilline par production d'une beta-lactamase chromosomique de classe C inductible AmpC et restent sensibles à la ticarcilline.

conclusion

## Conclusion

---

Au terme de notre étude, 40 souches isolées des aisselles, l'anus et des nez des nouveau-nés ; à terme, prématuré et qui ont présenté des résistances vis-à-vis les différents antibiotiques testés. Toutes ces souches étaient résistantes à la céfrazidine et à autre antibiotique ce qui les rend multi-résistantes.

Les bactéries qui ont été probablement causés dans ce service de néonatalogie ; *Raoultella ornithinolytica*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*.

Pour avoir une bonne maîtrise de la dissémination de ces germes on doit passer par la sensibilisation du personnel soignant en matière d'hygiène et le respect des procédures de lavage des mains. Ainsi qu'un bon nettoyage du nouveau-né et de son environnement ; un suivi médicale réglementaire de la mère avant et après l'accouchement (diagnostique d'infection éventuelle), et même des nouveau-nés et d'essayer de diminuer la durée d'hospitalisation. Aussi de diminuer la concentration des microorganismes sur la peau du nouveau-né par l'application des antiseptiques et bien l'élimination de l'utilisation abusive des antibiotiques.

Donc la formation en hygiène hospitalière est un élément essentiel de la prévention des infections nosocomiales et de la qualité des soins alors elle reste la mesure de base pour réduire l'incidence de ces infections dont son importance est capitale dans un service de néonatalogie.

En perspective de ce travail, il serait intéressant de déterminer la concentration minimale inhibitrice et d'explorer les mécanismes génétiques et l'origine de cette résistance.

Références

Bibliographiques

## Articles :

**Aujard (2011).** Incidence d'infection liée à *Escherichia coli* producteur de bêta lactames à spectre élargi au centre hospitalier départemental de Zou et Collines au Bénin. *Médecine et maladies infectieuses* ; 37 :746-752.

**Berthelot P, Grattard F, Mallaval F.O, Pozzetto B (2005).** Epidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie biologique* 53 :341-348.

**Blond M H , gold F, pierre F , QUENTIN R,Aujard Y ,** INFECTION bactérienne néonatale par contamination materno –fœtale :pour un accouchement de paradigme ?1<sup>re</sup> partie : Dépistage de l'infection à *Streptococcus agalactiae* : modalités et bilan des effets. Elsevier masson 2001.

**Bordero k, Beraud M, Hida M (1996).** Contrôle qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne. Thèse Pharm, N°8.

**Bowen D et Braden P (2006).** Comment distinguer les infections nosocomiales et les infections maternofœtales en néonatalogie ?XVII<sup>o</sup> congrès de la société française d'hygiène hospitalière.

**Brossard KA , compagnari AA .** The acinetobacter Baumannii Biofilm Associated Porotein (BAP ) plays a role in Adherence to human Epithelial Cells.pub Med 2011.

**Campeotto F ,garnier F, Kalach N ,Soulaines P ,Dupont C ,Raymond J,** Acquisition nosocomiale de bactéries multirésistantes dans un service de néonatalogie : etude prospective et analyse des facteurs de risque .elsevier sas 2004.

**Carle S. (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. Le parrainage des antimicrobiens : vision 2010 ;42 :6-21.

**Cattoir V. (2005).** Les bacilles à gram négatif, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Cours de DCEM1.Faculté de médecine de Créteil.

**Christensen B, Licht T, , Krogfelt A, Molin S.( 1999).** Plasmid transfer in the animal intestine and other dynamic bacterial populations: the role of community structure and environment. *Microbiol* 145 ( Pt 9):2615-22.

**Cordero L , Sananes M,ayers L W.** Boodstream infectios In a Neonatal intensive –Care Unit :12years Experience With AN Antibiotic Control Program Pediatrics 2000.

**Croizé J(2012).** La résistance aux antibiotiques des bactéries à gram négatif.UFR médecine-CHU Grenoble.

**Delarras C. (2007).**Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Ed : TEC et DOC.

**Duval & C. J, Soussy J. (1990).** *Antibiothérapie*, 4<sup>e</sup> éd., Masson, Paris.

**Euzéby J-P. (2006).** Résistance bactérienne aux antibiotiques Abrégé de bactériologie générale et médicale.

**Fauchère J L. (2002).** Bactériologie médicale et générale. Edition, Ellipses.

**Faure E. (2002).** Les infections nosocomiales . disponible sur :  
<http://www.caducee.net/dossierspecialises/infection/nosocomiales.asp>.

**Faure S. (2009).** Transfert d'un gène de résistance aux  $\beta$ -lactamines *bla*CTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiotique, équipe d'accueil : unité pharmacocinétique, Afssa . Ecole Doctorale : Vie-Agro-Santé.

**Fok T F et al .**Risk factors for Enterobacter Septicemia in a Neonatal Unit : case-control study .Clinical infectious Diseases 1998.

**Foliga A , Siad N, Harkat F 2007.** Les infections urinaires .résistance aux antibiotiques des 239 souches isolés entre 2006 et 2007.

**Garner R, Atmani S , Aouragh R , Bouharrou A (1996).** L'infection des voies urinaires du nouveau né : à propos de 23 cas. Journal de pédiatrie et de puériculture ;20 :70-73.

**Guerout A. M, Rowe-Magnus, Ploncard P, Dychinco B, Davies J. (2001).** The evolutionary history of chromosomal super-integrans provides an ancestry for multiresistant integrans. Proc Natl Acad Sci U SA 98:652-7.

**Gueye O. (2007).** Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif. Thèse de pharm ; n° 36.

**Guibert M, Boithias C (1999).** Infections nosocomiales néonatales. Médecine thérapeutique/pédiatrie : maladie mitochondriale –I ; 2 :95-103.

**Habzi A, Benomar S (2001).** Les infections nosocomiales néonatales. Journal de pédiatries et de puériculture ; 7 :419-424.

**Husson MO , Kacet N , Lapeyre F , Chevreuil F (2000).** Infections nosocomiales en néonatalogie in 31<sup>e</sup> journées société française de médecine périnatale Lille.Paris p 271-9.

**Jans B, Glupezynski Y , Suetens C , Cleemput E.(2004).** Enquête épidémiologique relative à *Acinetobacter baumannii* ,press mes.

**Jarvis WR , Martone WJ(1992).**Predominant pathogens in hospital infections ; 29 :19-24.

**Jacobsen SS M,stickler D J,Mobley H L T.**Complicated Catheter –Associated Urinary Tract Infections Due to Escherichia coli and proteus mirabilis .clinical microbiology Reviews 2008.

**Joly Y et Reynauld k. (2003).** Acinetobacter baumannii : étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc.

**Josette Z ,Bouvet PJM, Joly-Guillou ML(2000).** *Acinetobacter*. In: Freny J, Renaud F, HansenW, Bollet C, editors. Précis de Bactériologie Clinique. Paris : Eska ; p. 1239–58.

**Kaufman D ,Fairchild K D .**Clinical Microbiology of Bacterial and fungal SEPSIS in Very – Low-Birth-Weight Infants .CLINICAL Microbiology Reviews2004;

**Label B, Soussy C.J. (2007).** Résistance bactérienne aux antibiotiques, Ed : Springer.

**Lachassine E. Letamendia – Richard E. Gudelus J. (2004).** Epidémiologie des infections nosocomiales en néonatalogie. Archives de pédiatrie ; 11 :229-233.

**Levent T , Lambiotte F, Ourtou J(2011).** Prévention des risques infectieux en réanimation.ILIS.équipe opérationnelle en hygiène . CHSA.

**Lister G , Mobley H, Kartali D 2009.**Ampc b-lactamases.clinical microbiology.

**Luyt P (2010).** Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à gram négatif. Médecine et science ; 26 :950 :959.

**Malavaud S, BOU-Segonds E , berrebi A, castagno R ,Assouline C , Connan L .** Les infections nosocomiales chez la mère et l'enfant : à propos d'une enquête d'incidence portant sur 804 accouchements .elsevier Masson 2003.

**Marina Julienne et Denis Sergent (1998).** Résistance aux antibiotiques: l'état d'urgence, Eurêka n°31, pages 18 à 23.

**Merchaoui S N et al.** Intérêt de la C-réactive portéune (CRP) sériée dans la prise en charge des nouveau-nés suspects d'infection bactérienne materno-fœtale : étude prospective de 775 cas .Elsevier 2009 ;

**Mérens A, Delacour H , Plésiat P, Cavallo J-D, Jeannot K .(2011).** *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques . FL- Revue francophone des laboratoires ; 435 :49-62.

**Meyer A , Deiana J, Bernard A. (2004).** Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés 2<sup>ème</sup> édition. France Biosciences et techniques, Edition DOIN : 304.

**Morice V. (2005).** Bactériologie, DCEM1. Faculté de médecine Pitié-Salpêtrière.P.

**Mussi Pinhata M M , De Nascimento S D .** neonatal nosocomial infection. journal de Pediatria 2001.

**Nauciel C (2000).** Bactériologie médicale, Paris : Masson ; 47, 128, 152, 148.

**Newby J .** nosocomial infection in neonates inevitable or preventable ? continuing education. Clinical microbiology Reviews 2008.

**Perron A, Marie C, Ruimy R , Andremont A (2009).** Bctériologie – niveau DCEM1. Faculté de médecine.

**Pittet D , Ruef C.** bactériemies nosocomiales (partie 1). Swiss –NOSO 1998.

**Pierre A, Marie C. (2003).** Bctériologie – niveau DCEM1. Faculté de médecine.

**Podschum J , Ulmam W. Freney J. (1998).** Précis de biologie clinique Editions ESKA 200. apport de la biologie moléculaire au diagnostic bactériologique, Rev. Fr. Lab. 335 ; 37-41.

**Posfay B K , Muhlemann K , Pittet D.** une infection nosocomiale néonatale : l'entérocolite nécrasante . Swiss-NOSO 2001.

**Poujol I, Thiolet J-M, Bernet C, Carbonne A, Dumartin C.( 2010).** signalements externes des infections nosocomiales en France , 2007-2009.Bull Epidemiol Hebd ;38-39 :393-397.

**Pozzetto B. (2009).** Microorganismes responsables d'infections nosocomiales, Saint Etienne, P : 567.

**Rouzić N, Faisant M, J.L.Scheydeker J.-L, M.Collet B.Lejeun.(2008).**infections nosocomiales en maternité au centre hospitalier universitaire de Brest du 01/01/2000 au 31/12/2005.

**Ruimy R , Andremont A.(2004).** Quorum sensing chez *Pseudomonas aeruginosa* ; mécanisme moléculaire, impact clinique et inhibition. Réanimation ; 13 :176-184.

**Sarlangue J , Boralevi F , Barba G.** infections bactériennes de la peau et des tissus mous chez le nouveau-né .Elsevier SAS.2001

**Seck R (2005).** Résistance des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* isolée d'infection urinaire.

**Sougakoff W, Trystam D (2003).** Résistance aux B-Lactamines , Faculté de Medecine . Université Paris –VI.

**Tanner F , Chappuis C .(2005).** *Pseudomonas* et infection hospitalières .Médecine et Maladies infectieuses ; 13 : 390-392.

**Verhaegen 2004 .**Bactéroïde ; the good , the bad , and the nitty –gritty .clinical Microbiology Review.

**Waligora-Dupriet , Jeannot K ,Melzer M (2007).**Mortality following bacterial infection caused by extended spectrum beta-lactamase producing *E.coli* compared to non-ESBL producing *E.coli*. Journal of infection; 55:254\_259.

**Yala D, Merad AS , Mohamedi D , Ouar korich MN. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb .9.

## **Ouvrages ;**

**Avril J-L ; Dabernat H ; Denis F ; Monteil H. (1992).** Bactériologie Clinique, Ellipses, 2ème édition, Paris.

**Guy B , Chantelot D , Salle B.( 2003)** Néonatalogie , 4 ème édition , Paris : Anette :1.

**Ducel G, Fabry J, Nicolle L. (2008).** Prévention des infections nosocomiales : guide pratique. Organisation mondiale de la santé : 5-7.

## **Mémoire :**

Simon Tremblay. Etude moléculaire du recrutement des gènes de résistance aux antibiotiques.  
Mémoire Biochimie. Paris : Université de Laval , 2007. (103p)

### **Critères CDC des infections nosocomiales**

CDC .Definition of HAI and Criteria For Specific Types of Infections 2012.

### **Guide des bonnes pratiques de l'antisepsie chez l'enfant:**

SFHH. Guide des bonnes pratiques de l'antisepsie chez l'enfant .2007

### **Recommandations de CDC pour l'hygiène des mains :**

CDC.recommendations of the Healthcare infection control practices advisory committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force 2002.

## **Annexe 1** : Matériel et produit

-Anse de platine

-Ecouvillon

-Tubes à essai

-Boite de pétri

-Pipettes pasteur

-Pipette graduées

- Seringues

-Lame

-Tube à hémolyse

-Vortex

- Tubes à Eppendorf

\*produits :

1-Milieus de culture

\*Milieux liquides

-Bouillon cœur-cerveille ou bouillon BHIB

-Bouillon nutritive

\*Milieux solides

-Mac Conkey

-Muller Hinton

-Gélose nutritive

2-Autres produits ;

# Annexes

---

-Eau distillée

-Eau physiologique

-Violet de gentiane

-Lugol

-Fuchsine

\*Réactifs

-Kovacs

-Voges Proskauer 1

- Voges Proskauer 2

-Nitrate réductase 1

- Nitrate réductase 2

\*Les antibiotiques

**Tableau 1:** liste des antibiotiques en disque utilisés pour l'antibiogramme

Antibiotiques	Signes	Charge du disque (mcg)
Gentamimicin	GN	10
Amoxicilline	AMC	20
Ticarcillin	TCC	75
Ofloxacin	OFX	5
Cefuraxine	CXM	30
Tobramycin	TOB	10
Cefrazidine	CAZ	30

# Annexes

**Annexe 2** : Tableau de lecture de la galerie API20E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactosidase	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale/ jaune	Bleu-vert /vert
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / Immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND / 2min, maxi	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	VP1 + VP2 / 10min	
			incolore	Rosé /rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatine	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
MAN	Manitol	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune

**Annexe 3** : Valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour les bactéries de notre recherche (CLSI 2011).

Antibiotiques testés	Diamètres critiques (mm)		
	S	I	R
Gentamicin	$\geq 15$	13-14	$\leq 12$
Amoxicillin	$\geq 21$	15-20	$\leq 14$
Ticarcillin	$\geq 22$	19-21	$\leq 18$
Ofloxacin	$\geq 22$	17-21	$\leq 16$
Cefuraxine	$\geq 22$	16-21	$\leq 15$
Tobramycin	$\geq 16$	15-15	$\leq 14$
Ceftazidine	$\geq 21$	16-20	$\leq 15$

## **Annexe 4 :**

### **Les recommandations pour limiter l'émergence des bactéries résistantes**

L'HAS (Haute Autorité de Santé) a établie des règles d'utilisation d'antibiotiques permettent de limiter l'émergence des bactéries résistantes.

#### 1-Recommandations concernant l'antibiothérapie curative :

- \* Limiter l'antibiothérapie aux infections dont l'origine bactérienne est documentée ou probable.
- \* Eviter le sous dosage qui est une des cause d'échec et le surdosage à l'origine de pathologie iatrogènes.
- \* Dans les infections sévères, débiter le traitement le plus rapidement possible après l'hypothèse diagnostique et les prélèvements microbiologiques.
- \* Respecter la durée de l'antibiothérapie car l'antibiothérapie prolongée résulte des résistances bactériennes augmentés et une toxicité accrue.

#### 2- Recommandations relatives aux associations d'antibiotiques :

Les prescriptions d'associations doivent être strictement limités à des situations qui nécessitent l'élargissement de spectre d'activité car ils peuvent contribuer à augmenter la pression de sélection sur la flore commensale.

## **Annexe 5 :**

### **Description du service :**

Le service de néonatalogie de l'EHS Tlemcen est une salle carrée contenant 12 couveuses, 32 berceaux et 5 photothérapies.

On trouve aussi une table pour la toilette des bébés ; et deux autres pour les prélèvements.

### **Quelques remarques au niveau de service :**

\*Les fenêtres sont ouvertes

\*Les bébés sont parfois pesés directement sur la matière de la balance.

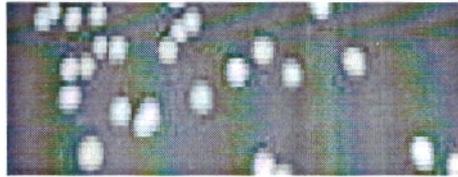
\*Au moment de la toilette la même table et la même couette sont utilisés pour de nombreux nouveau-nés.

\*Parfois certain membre du personnel médical oublie les couveuses ouvertes et même toucher les prématurés sans changer des léguants entre eux.

\*Quelque fois on remarque un chevauchement des dossiers entre les bébés.

## Annexe 6 :

*Raoultella ornithinolytica* (anciennement *Klebsiella ornithinolytica*) est un bacille à Gram négatif aérobie dans la famille des Enterobacteriaceae. Cette espèce a également été isolé de la dentine des canaux radiculaires infectés. Cependant, les infections humaines causées par des bactéries du genre *Raoultella* sont peu fréquentes, et survenant spontanément des cas de bactériémie n'ont pas été signalés. ( Nakajo et al .,2004).



## Résumé

La présence des différentes bactéries est probablement voire de l'infection nosocomiale néonatale.

L'objectif de notre travail est d'isoler et identifier une collection de souches bactériennes chez nouveau-né dans l'établissement hospitalier spécialisé (EHS) mère et enfant à l'unité de néonatalogie Tlemcen et de déterminer le niveau de la résistance de ces bactéries aux antibiotiques.

Un total de 40 souches des bactéries ont été collectées à partir des aisselles, l'anus et des nez des nouveau-nés à l'unité néonatalogie.

L'identification des souches a été réalisée par le système API20E. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé selon les normes du CLSI.

Les souches les plus rencontrés étaient: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Raoultella ornithinolytica*. le taux de résistance aux antibiotiques testés ont été: (75%) AMC, (15%) OFX, (100%) CAZ, (85%) TCC, (55%) GN, (75%) CXM, (50%) TOB.

**Mot clés :** néonatalogie, résistance, bactéries

## Abstract

The presence of the various bacteria is probably even of nosocomial infection in neonates

The aim of this study was to identify a collection of bacterial stocks in neonates at the neonatal unit of the hospitable specialized establishment of Tlemcen.

40 strains of bacteria were collected from axilla, anus and noses of neonates at the service of neonatology strains identification: was realized by API20E system.

Susceptibility test was measured by the agar diffusion method according to CLSI standards.

The most identified stains were *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Raoultella ornithinolytica*. The percentage of antibiotics resistance were: (75%) AMC, (15%) OFX, (100%) CAZ, (85%) TCC, (55%) GN, (75%) CXM, (50%) TOB.

**Key words:** bacteria, neonatology, resistance.

## ملخص

وجود مختلف البكتيريا قد يكون مسؤولا عن العدوى عند حديثي الولادة. الهدف من هذه الدراسة هو التعرف على تنوع البكتيريا في المستشفيات لحديثي الولادة الموجودين على مستوى خدمة حديثي الولادة الأمومة و الطفولة بتلمسان وتحديد مستوى مقاومتها للمضادات الحيوية.

مجموع 40 سلالة من البكتيريا تم عزلها من ابط و فتحة الشرج و انف حديثي الولادة الموجودين على مستوى خدمة حديثي الولادة و الأمومة و الطفولة بتلمسان. اختبار حساسية سلالات البكتيرية للمضادات الحيوية ثم وفقا لطريقة التحليل في وسط صلب API 20. التعرف على السلالات تم عن طريق ووفقا للمعايير المقترحة من قبل CLSI.

اكثر السلالات المتعرف عليها كانت نسب مقاومة البكتيريا للمضادات: جونتامين 55%-تتبعمسين 50%-سفو غكسين 75%-تكغسلين 85%-اموكسيسيلين 75%-افلوكزسين 15%-سيفوغزدين 100%.

الكلمات المفتاحية: مقاومة- بكتيريا- حديثو الولادة