

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent



Faculté des Sciences
Département de Science de la nature et de la vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Microbiologie appliquée

Présenté par :

Imane KORIDAK et Rabie Lahcene BEKKOUCHE

L'effet antibactérien de la vitamine C sur des souches originaire de l'hôpital Benzedjeb

Encadrant :

Mme. Meriem Lachachi

Maitre de conférences "A" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu en juin 2019

Devant le jury composé de :

Président : Mr. Miloud BELAHCEN (Professeur) C.U.B.B.A.T.

Examineurs : Mme. Imene MHAMEDI (M.C.B) C.U.B.B.A.T.

Encadrant : Mme. Meriem LACHACHI (M.C.B) C.U.B.B.A.T.

Remerciements

On remercie en premier lieu Dieu tout puissant de nous avoir accordé la puissance et la volonté pour achever ce travail.

On tient à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de notre stage et qui nous ont aidées lors de la rédaction de ce mémoire.

On voudrait dans un premier temps remercier, notre directeur de mémoire Mme LACHACHI, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

On tient à remercier avec plus grande gratitude Monsieur Miloud BELAHCEN, Professeur au centre universitaire d'Ain Temouchent pour l'honneur qu'il nous fait d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

On adresse nos sincères remerciements à Madame Imene MHAMEDI, Docteur au centre universitaire d'Ain Temouchent pour avoir accepté d'être examinateur et membre de ce jury.

Oon la remercie également pour son aide précieuse et son dévouement durant ces trois dernières années.

On remercie également toute l'équipe pédagogique du centre universitaire CUBBAT et les intervenants professionnels responsables de notre formation, pour avoir assuré la partie théorique de celle-ci.

On tient à témoigner toute notre reconnaissance aux personnes suivantes, pour leur aide dans la réalisation de ce mémoire :

Hassiba BENAMARA ainsi que sa sœur Rajaa BENAMARA qui m'a beaucoup appris sur les défis à relever dans le monde des affaires. Elle a partagé ses connaissances et expériences dans ce milieu, tout en accordant sa confiance et une large indépendance dans l'exécution de missions valorisantes.

*Nos parents, pour leur soutien constant et leurs encouragements. (Merci de nous supporter).
Amis et famille pour leurs soutiens.*

Abréviations et acronymes

Api : Appareillage et Procédés d'Identification 20 E (E=Entérobactéries)

ATB : *antibiotiques*

BLSE : béta-lactamase à spectre étendu

BMR : bactéries multi résistantes

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie

CCLIN : Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales

DO : Densité optique

DTA : Tryptophane désaminase

EH : *Etablissement hospitalier*

ERV : Enterococci résistants à la vancomycine

G- : Gram négatif

G+ : Gram positif

HAS : Haute Autorité de Santé

IND : Indol

ISO : infection du site opératoire

IUN : infections urinaires nosocomiales

L'AA : L'acide ascorbique

SARM : Staphylococcus *aureus* résistants à la méticilline

SCN: Staphylocoque à coagulase négatif

SPNP : *Streptococcus pneumoniae* non-sensibles à la pénicilline

SVCT : sodium-vitamine C co-transporter

Listes des figures

Figure 1 : L'acide ascorbique.....	3
Figure 2 : Physiopathologie d'une pneumopathie nosocomiale.....	11
Figure 3 : Organigramme de l'Etablissement Hospitalier Dr Benzerdjeb.....	19
Figure 4 : Prélèvements en suspension de BHIB.....	21
Figure 5 : Coloration de Gram.....	22
Figure 6 : Test de coagulase.....	23
Figure 7 : Remplissage de la galerie API 20 ^E	24
Figure 8 : Conservation des souches sur gélose inclinée.....	25
Figure 9 : Calcul de la Densité optique (DO).....	26
Figure 10 : Formation des puits sur gélose Mueller Hinton.....	28
Figure 11 : Culture des prélèvements après incubation.....	30
Figure 12 : Aspect macroscopique des souches d'entérobactéries sur milieu Mac Concky.....	31
Figures 13 : Observation microscopique de bacilles à Gram-.....	32
Figure 14 : Résultats d'identification des souches sur galerie API 20.....	33
Figure 15 : Aspect macroscopique des souches de staphylocoques à coagulase (-).....	34
Figure 16 : Aspect macroscopique des souches de staphylocoques à coagulase (+).....	35
Figure 17 : Observation microscopique de Cocci Gram+	35
Figure 18 : résultats du test de coagulase.....	36
Figure 19 : resultat du test de catalase.....	37
Figure 20 : Fréquence de prélèvement positif sur milieu Chapman.....	38
Figure 21 : Fréquence de prélèvement positif sur milieu Makonkey.....	38
Figure 22 : résultats de test d'antibiogramme.....	41
Figure 23 : Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques.....	42
Figure 24 : Sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques.....	44
Figure 25 : résultats de l'effet antibactérien de la vitamine C avec méthode des puits.....	47
Figure 26 : Taux d'activité antimicrobienne des différentes concentrations de vitamine C.....	50

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les sources végétales de vitamine C.....	4
Tableau 2 : Apports conseillés pour la population française.....	7
Tableau 3 : Liste des prélèvements issus de l'hôpital EH Benzerdjeb.....	20
Tableau 4 : Liste des antibiotiques utilisés pour les souches.....	27
Tableau 5 : Répartition des souches bactériennes selon les prélèvements.....	30
Tableau 6 : Effet de la vitamine C sur la croissance des Enterobacteries.....	48
Tableau 7 : Effet de la vitamine C sur la croissance des Staphylocoques.....	48

Table des matières

Remerciements

Abréviations et acronymes

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....1

Synthèse bibliographique

I. Vitamine C : Acide ascorbique	3
I.1. Historique.....	3
I.2. Généralités.....	3
I.3. Structure moléculaire	3
I.4. Source de vitamine C	4
I.5. Biosynthèse de l'acide ascorbique.....	4
I.6. Métabolisme.....	4
I.6.1. Absorption.....	5
I.6.2. Transport.....	5
I.6.3. Stockage.....	5
I.6.4. Elimination.....	5
I.7. Fonction métabolique.....	5
I.8. Propriétés physico-chimiques.....	6
I.8.1. Dosage de la vitamine C.....	6
I.9. Propriétés biologiques.....	6
I.9.1. Effet antioxydant	6
I.9.2. Effet pro-oxydant	7
I.10. Besoin en vitamine c.....	7
I.11. Rôle biologique de la vitamine C.....	8
I.11.1. Stimulation de l'immunité.....	8
I.11.2. Action sur les toxiques	9
I.11.3. Vieillesse cellulaire	9
II. Infections d'origine hospitalière	9
II.1. Infection nosocomiale.....	9
II.2. Fréquences d'infections nosocomiales.....	10
II.2.1. Infection urinaire nosocomiale.....	10
II.2.2. Pneumonie nosocomiale	10
II.2.3. Infection des plaies opératoires.....	11
II.2.4. Infection sur cathéter.....	12
II.3. Principaux germes d'origines hospitaliers	12
II.3.1. Les bactéries multi résistantes (BMR).....	12
II.3.2. <i>Escherichia col</i>	12
II.3.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13

II.3.4. <i>Acinetobacter baumannii</i>	13
II.3.5. Autres Entérobactéries	14
II.3.5.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	14
II.3.5.2. <i>Serratia marcescens</i>	14
III. Utilisation thérapeutique de la vitamine C.....	14
III.1. Antibiotiques et mode d'action.....	14
III.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	15
III.3. Effet antibactérien de la vitamine C.....	16
III.3.1. Vitamine C et infections.....	16
III.3.2. Vitamine C et cicatrisation : Intérêt en chirurgie.....	16
III.4. Physiopathologie de la vitamine C dans les infections.....	17
III.5. Vitamine C autant que traitement et prévention des infections	17

Partie expérimentale

I. Matériels et méthodes.....	19
I.1. Lieu d'étude.....	19
I.2. Prélèvements.....	19
I.3. Préparation du prélèvement	20
I.4. Ecouvillonnage	20
I.5. Préparation des suspensions	21
I.6. Ensemencement et isolement	21
I.7. Identification	22
I.7.1. Aspect macroscopique	22
I.7.2. Aspect microscopique	22
I.7.2.1. Examen à l'état frais.....	22
I.7.2.2. Coloration de Gram.....	22
I.7.3. Identification biochimique	22
I.7.3.1. Coagulase.....	23
I.7.3.2. Recherche de l'enzyme respiratoire : catalase.....	23
I.7.3.3. Identification biochimique par le système API.....	24
I.7.3.3.1. Préparation de l'inoculum.....	24
I.7.3.3.2. Remplissage de la galerie.....	24
I.8. Conservation des souches.....	25
I.9. Etude de comportement des souches isolées vis-à-vis des antibiotiques.....	25
I.9.1. Préparation des solutions	25
I.9.2. Dosage spectrophotométrique	26
I.9.3. Antibiogramme.....	26
I.9.4. Application des antibiotiques.....	27
I.10. Etude de l'activité antibactérienne de la vitamine C.....	27
I.10.1. Dosage de la vitamine C.....	28
I.10.2. Méthode des puits.....	28
I.10.3. Test des spots	29
II. Résultats et discussions.....	30
II.1.1. Cultures des prélèvements	30
II.1.2. Taux d'isolement des souches à partir des cultures positives	30
II.2. Identification des entérobactéries.....	31
II.2.1. Aspect macroscopique	31

II.2.2. Aspect microscopique	32
II.2.2.1. Examen à l'état frais.....	32
II.2.2.2. Coloration de Gram.....	32
II.2.3. Résultats d'identification sur galerie API 20 E	32
II.3. Identification des staphylocoques.....	34
II.3.1. Aspect macroscopique.....	34
II.3.2. Aspect microscopique.....	35
II.3.2.1. Examen à l'état frais	35
II.3.2.2. Coloration de Gram.....	35
II.3.3. Test de Coagulase.....	36
II.3.4. Recherche de l'enzyme respiratoire : catalase.....	37
II.4. Taux d'identification des souches bactériennes.....	37
II.5. Profil de sensibilité des souches aux antibiotiques.....	40
II.6. Etude de l'activité antibactérienne de la vitamine C.....	47
II.6.1. Méthode des puits.....	47
II.6.2. Fréquence de résistance	48
II.6.3. Test des spots.....	51
Conclusion	53
Références bibliographiques	
Liste des annexes	
Résumé	

Introduction générale

Introduction

Dans le monde actuel, la résistance bactérienne aux antibiotiques est devenue une source de préoccupation majeure. L'augmentation de la résistance aux antimicrobiennes menace de faire dérailler une grande partie des progrès réalisés dans le domaine de la médecine au cours du siècle dernier. Selon une étude réalisée par **O'Neill, 2014**, 300 millions de personnes mourront des suites de la pharmacorésistance au cours des trois prochaines décennies.

De nouvelles souches bactériennes multirésistantes apparaissent fréquemment, et des infections autrefois considérées comme insignifiantes évoluent maintenant en septicémie mortelle et incurable (**Wagenlehner et al, 2008**).

Les infections nosocomiales sont de plus en plus courantes observées dans le monde. Ils sont également une complication fréquente chez les patients cathétérisés. (**Hooton et al, 2009**). En outre, elles sont devenues une cause importante de morbidité avec l'incidence croissante de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries causales courantes telles qu'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

En absence de progrès significatifs dans la recherche de nouveaux antibiotiques efficaces, les chercheurs craignent maintenant un retour à l'ère de la préantibiotique. Alors que les gouvernements s'empressent d'élaborer des politiques et des protocoles pour réglementer la vente et l'utilisation d'antibiotiques, en particulier dans les pays en développement, Il est également nécessaire d'examiner d'autres méthodes thérapeutiques susceptibles de contribuer à la maîtrise de la pandémie de résistance aux antimicrobiens.

La vitamine C (acide ascorbique) constitue cette alternative. Il est bon marché, facilement disponible et a peu ou pas d'effets néfastes. Souvent prescrit comme complément nutritionnel, il a des effets antioxydants établis et a même été utilisé comme adjuvant dans la chimiothérapie anticancéreuse.

Depuis que Szent-Gyorgi a reconnu la vitamine C dans les agrumes comme remède contre le scorbut en 1932, de nombreuses études ont été menées pour en élucider les différentes propriétés biologiques (**Svirbely, 1932**). Actuellement, l'acide ascorbique est le supplément de vitamines le plus utilisé dans le monde. (**Naidu, 2003**).

En effet l'augmentation du taux de vitamine C réduit le risque d'arthrite, d'asthme, de cataracte, de maladie parodontale et d'accident vasculaire cérébral (Ge et *al*, 2008).

Malgré les preuves à l'appui, la vitamine C n'est toujours pas considérée dans la pratique clinique de routine pour son action antibactérienne, faute de données plus étayées. C'est dans cette objectif, que nous avons démontré l'effet de l'augmentation des concentrations de vitamine C sur les bactéries couramment isolées à partir d'échantillons de pue de patients présentant une suspicion d'infections d'origine hospitaliers.

Synthèse bibliographique

I. Vitamine C : Acide ascorbique

I.1. Historique

Une suite chronologique a conduit à la découverte de l'acide ascorbique appelé vitamine C, ce dernier fut autrefois utilisé contre la maladie du scorbut, Principal élément déclencheur et résultant d'une carence en vitamine C.

En 1912, Casimir Funk travaillant au Lister Institute dans le Royaume-Uni a reconnu le scorbut en tant que maladies de carences alimentaires (**Schlueter et Johnston, 2011**).

Isolée en 1928 à partir de jus de plantes et de tissus animaux, le biochimiste hongrois Albert Szent-Györgyi fait la découverte d'un agent réducteur et lui donna le nom d'acide hexuronique (**Science Learning Hub, 2019**).

Il a été le premier à étudier les mécanismes d'oxydation biologique au cours de l'année 1920. Entre 1930 et 1936, alors qu'il été professeur à l'université de Szeged, il a prouvé que l'acide hexuronique, qu'il avait précédemment isolé, est identique à la vitamine C (**RABER. et MORRISSEY, 2002**).

En 1932, le chimiste britannique Walter Haworth détermine la structure moléculaire de l'acide hexuronique et le renomme acide ascorbique. Il dirige ensuite une équipe pour de fabriquer synthétiquement de l'acide ascorbique (**Magiorkinis et al, 2011**)

Le comité Nobel de 1937 a honoré les découvertes sur les vitamines. Le prix Nobel de physiologie ou la médecine a été attribuée à Szent-Györgyi "pour ses découvertes liées au processus de combustion, avec une référence particulière à la vitamine C (**Buettner et al, 2006**).

I.2. Généralités

La vitamine C qui porte le nom chimique d'acide ascorbique, est une poudre blanche cristalline inodore et hydrosoluble. Elle existe sous forme pure avec un pH acide d'environ 2,5 mais également sous forme de sels (**Laïbi et S. Laïbi, 2014**).

Connu pour être un composé nutritif indispensable au corps humain, la vitamine C est une substance qui joue un rôle important dans le fonctionnement métabolique. Bien que celle-ci ne soit pas synthétisée par l'homme son apport par voie exogène est impératif.

I.3. Structure moléculaire

De formule brute $C_6H_8O_6$, sa forme oxydée est l'acide, déhydroascorbique obtenu par hydrolyse de la fonction énédiol (**Bernard, 2010 ; Henri et Jean, 1992**).

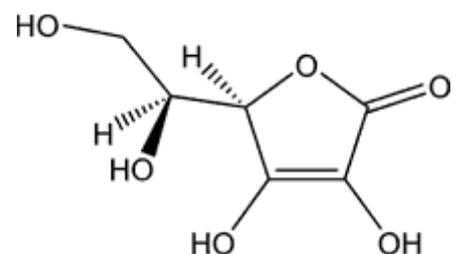


Figure 1 : L'acide ascorbique (**Martini et Seiller, 2006**).

L'AA possède deux formes optiques : lévogyre et dextrogyre, mais seule la forme lévogyre, forme naturelle (acide L-ascorbique) est biologiquement active (Martini et Seiller, 2006).

I.4. Source de vitamine C

Les principales sources de la vitamine C sont les fruits frais et légumes verts crus, rajoutons à ça que le lait de femme en contient plus que le lait de vache (Rossant, 1977).

La majeure partie des apports (70 %) provient des fruits (agrumes essentiellement) et des légumes (Tableau 1). Les pommes de terre, le pain et les céréales en apportent de 12 à 22 % (Koolman et Rohm, 2006).

Tableau 1: Les sources végétales de vitamine C (Desaulniers et Dubost, 2003).

Aliments	(mg)
Goyave	199
Poivron rouge, cru ou cuit	101-166
Poivron vert, cru ou cuit	54-132
Papaye	94
Kiwi	71
Orange	70
Jus d'orange	43-66
Mangue	57

Certains aliments d'origine animale contiennent également de la vitamine C en faible quantité tels que la viande de bœuf et de porc, poisson frais, foie, rognons, lait de vache et fromage cru.

I.5. Biosynthèse de l'acide ascorbique

Chez l'homme, le singe et le cobaye entre autres la voie glucuronique s'interrompt, en raison d'un déficit génétique en une enzyme appelée la L-gulonolactone oxydase (Wheeler et al 1998).

I.6. Métabolisme

La vitamine C est apportée par l'alimentation. Trois mécanismes d'absorption de la vitamine C sont connus : diffusion simple, transport facilité et transport actif (Lindblad et al, 2013).

I.6.1. Absorption

Suite à son ingestion, la vitamine C va être absorbée au niveau de la muqueuse buccale par diffusion simple, au niveau du pharynx via un mécanisme de transport actif, au niveau de la muqueuse stomacale (**Science Progress, 2013**)

Une fois que la Vitamine C a diffusé au sein de l'ensemble tissulaire, elle ne peut être stockée. C'est pourquoi il est nécessaire d'en consommer régulièrement car au bout de 2 à 3 semaines les réserves chutent (**Bernard, 2010**).

I.6.2. Transport

Une fois absorbé, l'acide ascorbique se verra transporté vers les tissus et organes selon leur affinités et besoin en vitamine C, mais avant celui-ci passe par le plasma avant d'aller vers les cellules circulantes.

Le transport est possible grâce aux transporteurs SVCT1 (sodium-vitamine C co-transporter) qui transporte la vitamine C vers tous les organes et SVCT 2 qui a une plus grande affinité pour l'acide ascorbique le transportant vers les organes hautement consommateurs de vitamine C (**Takanaga et al, 2004**).

I.6.3. Stockage

Les reins, le cerveau, la rate et le foie stockent la majorité de l'acide ascorbique, de l'ordre de 30 à 50 µg par gramme de tissus (**Levine et al, 1999**).

Cela dit, il n'existe pas de système de stockage de la vitamine C. La concentration plasmatique en vitamine C est donc le reflet des apports récents. Un apport exogène quotidien minimal par l'alimentation est donc nécessaire.

I.6.4. Elimination

L'excès d'acide ascorbique est éliminé par les selles, ce qui évite des variations du pH sanguin. Il est alors essentiellement métabolisé en CO₂ et en acides organiques par la flore intestinale (**Duconge et al, 2008**).

I.7. Fonction métabolique

Les nombreuses caractéristiques et propriétés de l'acide ascorbique lui confèrent diverses fonctions liées à son métabolisme.

L'acide ascorbique agit comme un cofacteur sur les systèmes enzymatiques entraînant la synthèse du collagène, la Proline et la lysine hydroxylase sont des systèmes dont le blocage

empêchera la formation de la protéine à partir de son précurseur, le pro collagène (ENGLARD et SEIFTER, 1986 ; LAMDEN, 1971).

Il intervient aussi sur le métabolisme de l'histamine, favorisant son élimination et inhibant sa synthèse (DOUARRE, 1987).

I.8. Propriétés physico-chimiques

La vitamine C est thermosensible, sensible aux ultraviolets et à l'oxygène, mais en revanche tout à fait stable à l'abri de la lumière, de l'humidité (LE GRUSSE et WATIER, 1985 ; LE MüEL *et al*, 1998).

La Vitamine C est très hydrosoluble, peu soluble dans l'alcool et les polyols et insoluble dans l'éther et le chloroforme (Munnich *et al*, 1987).

La cuisson des aliments et leur transformation industrielle accroissent la concentration de la forme oxydée dans l'aliment (Spanyár *et al*, 1963).

I.8.1. Dosage de la vitamine C

Le dosage est effectué dans le sang et les urines. Le taux plasmatique semble un peu moins sensible aux apports récents que le taux urinaire cela dit, Compte tenu de la sensibilité individuelle à la vitamine C, le dosage le plus fiable reste le taux leucocytaire d'acide ascorbique (DHARIWAL *et al*, 1991).

De nombreuses méthodes de dosage de l'acide ascorbique sont mises en avant pour la détermination de la quantité d'acide ascorbique dont les plus courantes sont les méthodes volumétriques, titrimétriques, spectrométriques voir enzymatiques ainsi que bien d'autres tel que la fluorométrie, la chimio-luminescence à base de cinétique, et la chromatographie (Hossu *et al*, 2006).

I.9. Propriétés biologiques

I.9.1. Effet antioxydant

En tant que donneur d'électrons la vitamine C est un puissant antioxydant hydrosoluble protégeant la peau du stress oxydatif en faisant des dons séquentiels d'électrons pour neutraliser les radicaux libres (Padayatty *et al*, 2003).

Il a la capacité d'éliminer directement plusieurs espèces d'oxygène réactives différentes, de maintenir l' α -tocophérol à l'état réduit et d'agir en tant que substrat pour la Peroxydase (Conklin *et al*, 1999).

Le passage de la forme oxydée à la forme réduite, et inversement, va dépendre majoritairement du pH. Cette interaction avec les radicaux libres est responsable de son potentiel antioxydant (Washko *et al*, 1993).

C'est un excellent réducteur, C'est pour cette raison qu'on lui accorde des propriétés antioxydants qui présentent d'innombrables bienfaits sur l'ensemble de l'organisme. Par conséquent elle bloque la production de radicaux libres (**Carr et Frei, 1999**).

L'action antioxydant de la vitamine C permettrait d'expliquer son rôle dans la prévention de certaines maladies, voire de certains cancers (**LE MüEl et al, 1998**).

I.9.2. Effet pro-oxydant

L'acide ascorbique, à de faibles concentrations, entraîne in vitro la production de radicaux libres, et donc une action pro oxydante (**CHEPDA et al, 1999**).

Ainsi, les niveaux d'apports de vitamine C, pour lesquels des effets pro-oxydants sont observés, ne peuvent pas être atteints par une alimentation courante mais plutôt avec la consommation de compléments alimentaires ou d'aliments enrichis (**Podmore et al, 1998**).

Cela a été étudié in vitro sur des cellules cancéreuses. Certaines équipes d'oncologie utilisent la vitamine C en IV à fortes doses comme traitement adjuvant de chimiothérapies (**Mayland et al, 2005**).

I.10. Besoin en vitamine c

Comme vu précédemment, il n'existe pas de synthèse ni de réelle capacité de stockage de la vitamine C au sein de l'organisme humain. Un apport quotidien minimal par l'alimentation est donc nécessaire. Il est essentiellement assuré par les légumes et fruits frais (**Levine et al, 1999**).

Le besoin minimal en vitamine C pour prévenir le scorbut est de 10 mg/jour, permettant le maintien d'un pool total dans l'organisme de 350 mg (**Fain, 2004**).

Dans les décennies qui suivent, la quantité recommandée est revue à la hausse, et peut atteindre jusqu'à 500 mg/jour (**Dunn et al, 1984**).

Les apports nécessaires conseillés varient en fonction de l'âge et sont résumés dans le tableau ci-dessous (**Bernard, 2010**).

Tableau 2 : Apports conseillés pour la population française (2008)

Age	Apports conseillés (mg/jour)
Nourrissons	50
Enfants 10-12 ans	100
Adultes 20-60 ans	110
Personnes âgées	120
Femmes enceintes	130

Les apports recommandés quotidiennement sont identiques chez l'homme et chez la femme, soit 93 mg/j. Seuls l'âge et quelques exceptions sont des paramètres susceptibles d'accroître les besoins journaliers. C'est le cas, par exemple, pour les enfants âgés de 3 à 17 ans dont les apports doivent atteindre 77 mg/j.

Cet apport, toujours selon l'ANSES doit être augmenté chez les fumeurs et les consommateurs excessifs d'alcool.

Une étude parue en juin 2012 dans la revue *Critical Review in Food Science and Nutrition* révèle cependant que l'apport journalier idéal serait de 200 mg. Ce ne serait qu'à partir de ce seuil que l'on pourrait pleinement profiter de ses bienfaits antioxydants et revitalisants (**Frei et al, 2012**).

Plusieurs causes de carence en vitamine C ont été identifiées dans cette population : perte d'appétit, problèmes dentaires, altération des fonctions cognitives, perte de revenus versus coût élevé des fruits et légumes frais (**Mosdol et al, 2008**).

Le scorbut résulte d'un déficit en vitamine C caractérisé par une valeur strictement inférieure à 1 à 2 $\mu\text{mol/L}$ (**Thompson, 1998**). Et des signes cliniques, incluant une fragilité capillaire, un syndrome hémorragique, une asthénie, une anorexie ou des arthralgies, et un signe biologique a type d'anémie (**Hirschmann et al, 1999**).

I.11. Rôle biologique de la vitamine C

La vitamine C est essentielle au développement et au maintien des tissus conjonctifs. Il joue un rôle important dans la formation des os, la cicatrisation des plaies et le maintien de gencives saines. (**Chambial et al, 2013**).

Elle intervient dans la conversion du cholestérol en acides biliaires. Il faut savoir que cette conversion est la principale voie utilisée par l'organisme pour se débarrasser du cholestérol en excès (**Jacques et al, 1995**).

Il préserve également l'activité d'un certain nombre d'enzymes différentes en maintenant les ions métalliques du groupe prosthétique à l'état réduit (**Smirnoff, et al, 1996**).

I.11.1. Stimulation de l'immunité

Grâce à son activité anti-oxydante, la vitamine C joue un rôle dans la défense de l'organisme face à un agent infectieux. Plusieurs études expérimentales sur modèles animaliers ont identifié les mécanismes d'action de la vitamine C dans la réponse anti-infectieuse, une augmentation de l'activité des phagocytes et une diminution de la réplication virale (**Goya et al, 2006 ; Anses, 2013 ; Sanchez et al, 2003**).

En cas de carence (lors d'un stress prolongé), la production des corticostéroïdes diminue, d'où une moindre résistance aux infections, une perte d'appétit, un ralentissement de la croissance, une fatigue musculaire et une faiblesse générale (CIER *et al*, 1992).

I.11.2. Action sur les toxiques

L'acide ascorbique participe, de façon là encore mal connue mais probablement toujours liée à sa fonction antioxydant, à la dégradation de certains toxiques et médicaments (SCHEER, 1993).

L'acide ascorbique a une action épurative vis à vis du tabac et en particulier de la nicotine : il diminue les taux de nicotine, mesurés par les valeurs d'excrétion urinaire en métabolites (DAWSON, 1999).

Il agit comme un puissant chélateur des ions métalliques en particulier le cuivre, le plomb et le mercure, pouvant avoir ainsi une utilité dans le saturnisme (DOUARRE, 1987).

L'acide ascorbique a également un effet inhibiteur puissant de la réaction de transformation des amines libres en nitrosamines reconnu pour être cancérigène (LE GRUSSE, 1985).

I.11.3. Vieillesse cellulaire

La molécule d'acide ascorbique semble jouer un rôle dans des mécanismes aussi diversifiés qu'importants au niveau de la santé humaine : oxydation cellulaire, cancer, hypertension, risques cardiovasculaires et cataracte (Naidu, 2003).

Cet effet a en particulier pu être démontré au niveau oculaire. Les sujets non carencés ont une incidence de cataracte moindre que les carencés (ADETONA *et al*, 1994).

La vitamine C neutralise les radicaux libres dans l'oeil sous l'effet de la lumière du soleil et empêche ainsi la dégradation des protéines sensibles du cristallin (Marchitti *et al*, 2011).

II. Infections d'origine hospitalière

Les infections nosocomiales sont un problème réel, qui va de pair avec l'évolution de la médecine et des techniques de soins. Le vieillissement de la population, la sévérité, le nombre de pathologies parmi les patients hospitalisés et les gestes invasifs sont autant de facteurs de risque pour l'acquisition d'une infection nosocomiale (Hugonnet *et Pittet*, 2000).

II.1. Infection nosocomiale

Une infection nosocomiale apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation, celle-ci étant absente (ni symptomatique ni en incubation) à l'admission (SCHAFFNER, 2005).

L'infection nosocomiale peut être causée par les germes du patient, du personnel soignant ou de l'environnement hospitalier. Ces infections augmentent la morbidité, la mortalité, et le coût des soins à l'hôpital (**Haley, 1981**).

Pour les infections du site opératoire on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les 30 jours suivant l'intervention, ou celles survenues dans les 90 jours en cas d'infection virale (**BERCHE et al, 1991**).

II.2. Fréquences d'infections nosocomiales

Parmi ces infections, les plus fréquentes sont les respiratoires, suivies des infections urinaires. De plus, 7 à 30% des patients transférés à l'hôpital le sont pour des causes infectieuses (**NICOLLE et al, 1984**).

II.2.1. Infection urinaire nosocomiale

Les infections urinaires nosocomiales (IUN) sont dominées par les infections survenant après sondage ou plus rarement après d'autres manœuvres instrumentales, elles se développent secondairement sur les sondes laissées à demeure, par voie ascendante, soit endoluminale, soit extraluminaire péri-urétrale (**Caron, 2003**).

II.2.2. Pneumonie nosocomiale

La pneumonie nosocomiale est la deuxième des infections les plus courantes associées aux soins, avec une incidence allant jusqu'à 10 cas pour 1000 patients. C'est aussi la cause la plus commune de décès, avec un taux allant jusqu'à 50% et une mortalité (**Kollef, 2004; Richards et al, 1999**).

Elle correspond à toute pneumonie associée aux soins, survenant chez un malade dont la respiration est assistée par une machine, soit de manière invasive par l'intermédiaire d'un tube endotrachéal ou d'une trachéotomie, soit de manière non invasive par l'intermédiaire d'un masque facial ou d'un autre procédé, (**CTINILS, 2007**).

Le diagnostic repose sur l'association d'un diagnostic radiologique et soit l'identification d'un germe isolé de la ponction trachéale, d'un lavage broncho alvéolaire (avec 5% au moins des cellules contenant des bactéries à l'examen direct), ou d'un prélèvement trachéal distal par cathéter (**BERTHELOT et LUCHT, 1998**).

Une fois l'inoculum parvenu au niveau du poumon profond, la survenue d'une infection dépend de plusieurs facteurs : (**Figure 2**) (**Coalson, 1995**).

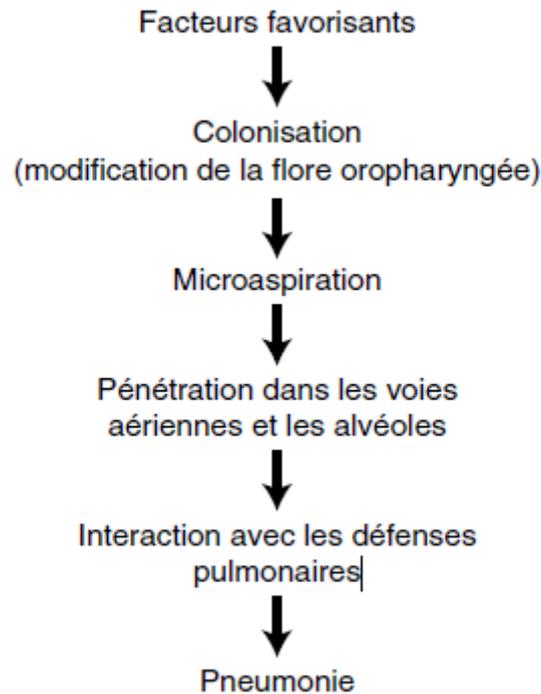


Figure 2: Physiopathologie d'une pneumopathie nosocomiale (Coalson, 1995).

II.2.3. Infection des plaies opératoires

Une infection du site opératoire (ISO) est considérée comme nosocomiale quand elle n'est pas présente en incubation à l'entrée du patient et si elle survient dans les 30 jours qui suivent l'intervention, cette période est étendue à un an en cas de mise en place de matériel prothétique artificiel (C.CLIN PARIS NORD, 1995).

L'ISO se définit par la présence de pus provenant d'une des localisations suivantes :

- **Infection superficielle**

C'est une infection survenant dans les trente (30) jours suivant l'intervention, et affectant les tissus sous-cutanés ou situés au-dessus de l'aponévrose. Elle est diagnostiquée par un écoulement purulent de l'incision ou du drain ou par l'isolement d'un germe à la culture (BEUCAIRE, 1997).

- **Infection profonde**

C'est une infection qui survient dans les trente (30) jours suivant l'intervention, ou dans l'année, s'il y a eu mise en place d'un matériel étranger, intéressant les tissus ou espaces situés au niveau ou au dessous de l'aponévrose. Elle se traduit par un écoulement purulent provenant d'un drain sous aponévrotique ou par la déhiscence spontanée de la plaie (POPI, 1999).

II.2.4. Infection sur cathéter

La pathogénèse des infections de dispositifs intravasculaires est une interaction à multiples facettes. Les facteurs bactériens, tels que la prédilection de *S. aureus* à se lier aux ligands du tissu hôte, et les facteurs de périphérie, tels que les propriétés de surface du matériau du périphérique (Darouiche, 2001).

La physiopathologie de ces infections est liée initialement à la constitution d'un biofilm sur ces corps étrangers ainsi qu'à la durée de mise en place du cathéter (Passerini et al, 1992).

II.3. Principaux germes d'origines hospitaliers

Les bactéries représentent la majorité des pathogènes responsables d'IN. Parmi les bactéries à Gram négatif, la famille des *Enterobacteriaceae* est la plus représentée, dont les genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter* qui ont un impact.

II.3.1. Les bactéries multi résistantes (BMR)

Les BMR sont un véritable problème de santé publique. Elles peuvent émerger par voie endogène de la flore d'un patient qui a reçu plusieurs antibiothérapies (GHIASSI, 2005).

Chez les bactéries à Gram positif, on retrouve les *Enterococci* résistants à la vancomycine (ERV) ou encore les *Streptococcus pneumoniae* non-sensibles à la pénicilline (SPNP) (NICOLLE et al, 1996).

On retrouve également *S. aureus* résistants à la *méticilline* (SARM) qui résiste non seulement à la méthicilline et aux autres agents antibactériens des β -lactames, mais également à d'autres agents antibactériens (Finch, 1998).

Du côté des bactéries à Gram négatif, en plus du fort taux de résistances par la production de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), le nombre de souches d'*E. Coli* résistantes aux fluoroquinolones est important et en augmentation, ce qui complique la prise en charge des infections, causées majoritairement par ce pathogène (BARBUTet al, 2007).

II.3.2. *Escherichia coli*

Les souches d'*E. Coli* causent rarement des maladies, sauf chez hôtes immunodéprimés ou chez des patients gastro-intestinaux normaux ou les barrières sont franchies comme dans la péritonite, par exemple (Kaper et al, 2004).

L'acquisition et la combinaison de facteurs de virulence chez les souches *E. coli* peuvent entraîner des modifications de leur comportement pouvant occasionner diverses infections telles des infections intestinales (Levine et Edelman, 1984) ou extra-intestinales (Pohl et al, 1989).

II.3.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un Bacille à Gram négatif d'environnement courant qui agit comme un opportuniste agent pathogène dans plusieurs circonstances (**Green et al, 1974**).

L'omniprésente apparition de *P. aeruginosa* dans l'environnement est due à plusieurs facteurs, y compris sa capacité à coloniser multiples niches environnementales et à utiliser de nombreux des composés comme sources d'énergie (**Williams et Worsey, 1976**).

En milieu hospitalier, la principale source de contamination est le réseau de distribution d'eau et la nourriture, notamment les crudités et les fruits frais, comme tous les mammifères, l'homme peut l'héberger de façon plus ou moins transitoire (**Remington et Schimpff, 1981**).

Presque tous les cas cliniques d'infection à *P. aeruginosa* peuvent être associés au compromis de la défense de l'hôte. Tandis que de nombreux cas d'infection à *P. aeruginosa* peuvent être attribués à immunosuppression générale, comme chez les patients atteints du SIDA et chez les patients neutropéniques sous chimiothérapie (**Kielhofner et al, 1992**) ; **Bendig et al, 1987**).

Concernant la multirésistante les souches sont mises en évidence dans le rapport de Hsueh et al. Ayant suivi la propagation d'une seule souche de *P. aeruginosa* multirésistante sur plusieurs années, et a conclu que la souche était portée par certains patients asymptomatiquement par plusieurs séries d'antibiotiques (**Hsueh et al, 1998**).

II.3.4. *Acinetobacter baumannii*

La bactérie *A. baumannii*, une prévalence relativement faible dans les IN, est l'une des bactéries les plus résistantes aux antibiotiques (**PELEG et al, 2008**).

Certaines d'entre elles font partie de la flore résidente normale de la peau saine. Cela dis les années 1980, la responsabilité d'une espèce, *Acinetobacter baumannii*, dans les infections nosocomiales est devenue une réalité (**Bergogne-Berezin et al, 1996**).

Une étude complète a été publiée montrant des épidémies d'infection à l'hôpital causées par *Acinetobacter*. Leur analyse fournit des exemples d'endroits de l'environnement hospitalier où des espèces d'*Acinetobacter* ont été découvertes, notamment des cathéters à succion (**Villegas et Hartstein, 2003**)

II.3.5. Autre entérobactéries

En comparaison avec le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, pour lesquels la résistance à un seul antibiotique indiquant le phénotype d'intérêt de la résistance aux antibiotiques, la multirésistance aux bacilles à Gram négatif est difficile à définir (Arancibia et al, 2002).

II.3.5.1. *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae est une entérobactérie commensale du tube digestif de l'homme et a été la première bactérie chez laquelle a été isolée une pénicillinase, à la fin des années 1980 (Sirot et al, 1987).

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes sont de plus en plus fréquentes, et environ 1/5 des souches sont résistantes à au moins 3 classes d'antibiotiques.

II.3.5.2. *Serratia marcescens*

Serratia marcescens, entérobactérie très répandue, est un pathogène nosocomial notoire impliqué dans de nombreuses pneumopathies (Byrne et al, 2000; Van derVorm et Woldring-Zwaan, 2000) et épidémies nosocomiales (Pagani et al, 1994; O'Connell et Humphreys, 2000).

Ce germe est responsable d'infections opportunistes touchant l'endocarde, les yeux, les plaies, et le système nerveux central (Hejazi et al, 2000; Ehrenkranz et al, 1980). Il peut être à l'origine d'infections graves ou fatales (Edgar et al, 1997; Smith et al, 1984).

Sa transmission se fait par contact direct avec la muqueuse, par la main souillée, les dispositifs médicaux ou les liquides intraveineux (Shields et al, 2000).

III. Utilisation thérapeutique de la vitamine C

III.1. Antibiotiques et mode d'action

Les antibiotiques se définissent comme des molécules capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries, sans affecter l'hôte (Levy SB et Marshall B, 2004).

La classification des modes d'action la plus utilisée se base à la fois sur les structures chimiques et sur les mécanismes d'action qui y sont liés (Bryskier, 2006; Descroix V, 2010).

Sont retrouvés :

- Les molécules qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne en perturbant la perméabilité et qui conduisent à la fuite des composants intracellulaires.
- Les molécules qui se lient aux sous-unités 30S et 50S du ribosome bactérien et qui sont responsables d'une inhibition réversible de la synthèse protéique.

- Les antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques, comme les rifamycines ou les quinolones.
- Les inhibiteurs de la synthèse des folates, comme les sulfamides et le triméthoprime.

III.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

L'efficacité d'un antibiotique réside dans sa capacité à pénétrer dans la bactérie et à se fixer sur sa cible afin d'en perturber le fonctionnement physiologique. Si l'antibiotique perd une de ses facultés, il devient alors inefficace et le terme « résistance » prend tout son sens, la bactérie détenant le pouvoir de croître en présence de l'antibiotique (**World Health Organization, 2014**).

Toutes les résistances naturelles sont répertoriées dans Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**CA-SFM**) est due le plus souvent à un défaut d'affinité ou à une inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique.

La production de β -lactamases est également observée de manière naturelle chez certaines Entérobactéries comme pour *Klebsiella pneumoniae* (pénicillinase) (**Demoré B et al 2012**).

Quant à la résistance acquise qui résulte de l'évolution où mutations chromosomiques et échanges de matériel génétique, Elle apparaît après emploi de l'antibiotique (**Wright G.D, 2005**).

Pour agir, un antibiotique devra arriver à sa cible (via un transporteur ou par diffusion passive) puis se fixer à sa cible pour produire son effet : bactéricide ou bactériostatique (**Hervé Jacquier, 2011**).

Chacune de ces étapes est un point faible pour l'ATB, les mécanismes de résistance sont au nombre de 4 et agissent au niveau de ces étapes :

- Diminution de la pénétration de l'ATB
- Inactivation ou excrétion de l'ATB par les systèmes enzymatiques bactériens
- Défaut d'affinité cible – ATB via une modification de la cible
- Protection de la cible par une protéine.

Jusque là, il y avait une lutte entre l'apparition de nouveaux antibiotiques efficaces et l'apparition des résistances, gagné par le rythme soutenu d'apparition de nouvelles molécules. Aujourd'hui où la tendance est inversée, il y a moins d'antibiotiques ont été découverts ces quarante dernières années, laissant le champ ouvert au développement des résistances. Il s'agit donc d'un sujet inquiétant menant à trouver d'autres alternatives par le biais de substances naturelles (**Jere Boyer, 2013**).

III.3. Effet antibactérien de la vitamine C

Le recours à la vitamine C comme médicament pour prévenir les malades, et non simplement pour compenser à minima des carences, mais c'est justement l'une des plus grandes découvertes médicales du XXe siècle. Si on la considère par le prisme des vies, souffrances et budgets sociaux économisés et économisables, son importance dépasse celle des médicaments miracles comme les antibiotiques (Rueff, D, 2000).

Ces médicaments chimique de synthèse ont soulagé d'innombrables malades, certe, mais sans que l'on puisse vraiment parler de guérison puisque le terrain n'a pas été modifié, et qu'ils ont été administrés aux prix de trop nombreux effets secondaires, quelquefois même en créant une nouvelle infection pas toujours moins gênante que la première (Corson, 2014).

III.3.1. Vitamine C et infections

L'implication de la vitamine C est encore largement controversée à l'heure actuelle. La plupart des enquêtes effectuées n'ont pas montré d'influence d'une supplémentation vitaminique sur les infections virales courantes. Cependant, il semblerait qu'une étude portant sur des personnes hospitalisées pour bronchite et pneumopathie ait montré une influence bénéfique sur la durée de la maladie (HEMILA et DOUGLAS, 1999).

L'acide ascorbique n'est pas préférable d'être utilisé comme mode de traitement isolé, mais il peut être co-appliqué en tant qu'adjuvant pour réguler l'immunité, l'expression génique et d'autres processus physiologiques importants (Sorice et al 2014).

III.3.2. Vitamine C et cicatrisation : Intérêt en chirurgie

L'acide ascorbique peut favoriser la guérison des plaies et prévenir l'hyperpigmentation post-inflammatoire. La vitamine C accélère la cicatrisation des plaies, effet déjà connu et décrit par les premiers observateurs du scorbut. Elle limiterait également l'incidence des pathologies dentaires. Les personnes opérés présentent un effondrement du taux d'acide ascorbique tissulaire, probablement dû à l'action conjuguée des différentes drogues utilisées pendant l'anesthésie ainsi que du stress, de la douleur des médicaments postopératoire et des perturbations du transit digestif.

Comme la vitamine C intervient dans le métabolisme du collagène et par conséquent dans le processus de la cicatrisation, il est vraiment conseillé de supplémenter les malades chirurgicaux en pré, per et postopératoire, à raison de 3 à 5 g par jour. Cette recommandation

est valable également pour tous les traumatismes, plaies, contusions et fractures, qu'il y ait ou non intervention chirurgicale (**Corson, 2014**).

III.4. Physiopathologie de la vitamine C dans les infections

Notre système immunitaire a besoin d'une forte dose de vitamine C. En effet, toutes les maladies fulgurante ou chronique du stress exogène ou endogène montre l'effondrement du taux de la vitamine C dans le sang. Malheureusement, les doses quotidiennes recommandées par les autorités médicales de 0,1 grammes par jour permettent seulement d'éviter le scorbut.

Pour les maladies bactériennes infectieuses là encore la thérapie naturelle de la vitamine C guérit. La tuberculose et la première cause infectieuse de maladie et de décès dans le monde il a été constaté par Osborn et Gear en 1940, que les mammifère n'ayant pas la capacité de fabriquer eux même la vitamine C dont l'humain, étaient les plus susceptible de contacter des infections bactériennes (**Osborn et al, 1940**).

La vitamine C et aussi efficace tout en étant naturel elle doit être prise par le patient tout ça vie et à de plus forte dose pendant au moins la première année du traitement.

La fièvre rhumatismal et provoquée par une infection streptococciques mal soigné elle frappe surtout des jeunes entre 5 et 15 ans, de chercheur estime que la plupart des cas de la fièvre rhumatismale sont provoqués par une déficience grave en vitamine C chez les sujets atteints d'une infection au streptocoque. Il a été constaté que les infections bactériennes streptococciques sont sensibles mêmes à un apport minimal de vitamine C. Le traitement aux antibiotiques peut-être utilisé mais il est probablement inutile dans la plupart des cas. Cela démontre qu'un apport quotidien de la vitamine C, à des doses optimales éviterait des infections streptococciques telles que la pharyngite, l'amygdalite, la fièvre rhumatismal (**Stone, 1972 ; Hickey et al, 2014 ; Levy, 2002**).

III.5. Vitamine C autant que traitement et prévention des infections

Naturellement, une insuffisance en vitamine C entraîne des lésions graves de plusieurs organes, en particulier du cœur et du cerveau, deux organes extrêmement aérobies produisant davantage de radicaux oxygénés (**Linster et Van Schaftingen, 2007**).

L'acide L-ascorbique (vitamine C) est un des agents antiviral bien connus, en particulier du virus de la grippe. En d'autres termes, il est possible de prévenir efficacement les dommages résultant de la répllication des virus de la grippe lorsque la concentration de vitamine C est suffisamment élevée au stade initial de l'infection virale (**Kim et al, 2013**).

La vitamine C à fortes doses est efficace pour prévenir l'infection de tous genres et améliorer la récupération (**Furuya et al, 2008**).

La vitamine C est considérée comme l'un des composants antioxydants les plus répandus dans les fruits et légumes. Elle pourrait exercer des effets chimiopréventifs sans toxicité apparente à des doses supérieures à l'apport nutritionnel recommandé actuellement de 60 mg / j (**World Cancer Resarch Fund, 1997**).

La vitamine C a également été utilisée comme complément alimentaire destiné à prévenir les maladies chroniques induites par le stress oxydatif, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires (**Khaw et al, 2001**), l'hypertension (**Duffy et al, 1999**), les accidents vasculaires cérébraux (**Kurl et al, 2002**) et les troubles neurodégénératifs (**Engelhart et al, 2002**).

Des études épidémiologiques et en laboratoire indiquent qu'une consommation élevée de fruits et de légumes riches en antioxydants peut réduire le risque de cancer (**Poupée, 1981**).

En effet, l'apport élevé habituel en acide ascorbique joue un rôle dans le cancer en augmentant la résistance naturelle du patient; la résistance des tissus sains à la métastase par une tumeur maligne (**Cameron et Pauling, 1979**).

D'autres études ont montrées récemment que les cellules souches du cancer, qui favorisent la croissance de tumeurs mortelles, peuvent être neutralisées par une combinaison d'antibiotiques et de vitamine C dans une nouvelle stratégie expérimentale. (**Ernestina, 2015**).

Il serait donc souhaitable que, suivant une bonne logique gestionnaire de la santé individuelle et publique, on réserve une place plus grande à ces derniers. Les antibiotiques guérissent l'infection en cours mais altèrent les défenses immunitaires au point de rendre l'individu plus fragile et plus sensible aux agents infectieux, y compris des opportunistes, c'est-à-dire des germes habituellement non pathogènes et simplement saprophytes. Ceux-ci profitent de cette situation de "journée portes ouvertes" pour entrer, visiter et s'installer dans nos organismes, qu'il s'agisse de bactéries, de virus, de levures ou de champignon (**Corson, 1995**).

Il va de soi que, lorsqu'il est question de prophylaxie ou de thérapie par le biais d'un nutriment, il est nécessaire d'avoir recours à des doses bien supérieures à celles correspondant aux besoins moyens. On préconise le plus souvent un gramme de vitamine C à titre préventif, plusieurs grammes quotidiens lors d'infection déclarée (**Ducret-Costa, 2019**).

Bien entendu, les sujets à risque, ou ceux dont le statut vitaminique est insuffisant, feront l'objet d'une posologie de supplémentation préopératoire plus élevée et de plus longue durée si leur état permet de différer suffisamment l'intervention pour permettre une remontée caractéristique de l'ascorbémie, et surtout des taux leucocytaires.

Les individus malnutris, principalement les personnes âgées et les marginaux, bénéficieront en outre d'une poly-vitaminothérapie (**Corson, 2014**).

Partie expérimentale

I. Matériels et méthodes

I.1. Lieu d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive menée à l'hôpital EH dr Benzerdjeb sur une période de trois mois, du 05 février 2019 au 30 avril 2019. EH Benzerdjeb est une structure sanitaire publique de référence située dans la région d'Ain Temouchent, et comptant 210 lits. Cet hôpital regroupe les services de médecine générale, Traumatologie, pédiatrie, chirurgie générale, ORL et réanimation (**Figure 3**), ainsi qu'un service d'analyses biologiques.

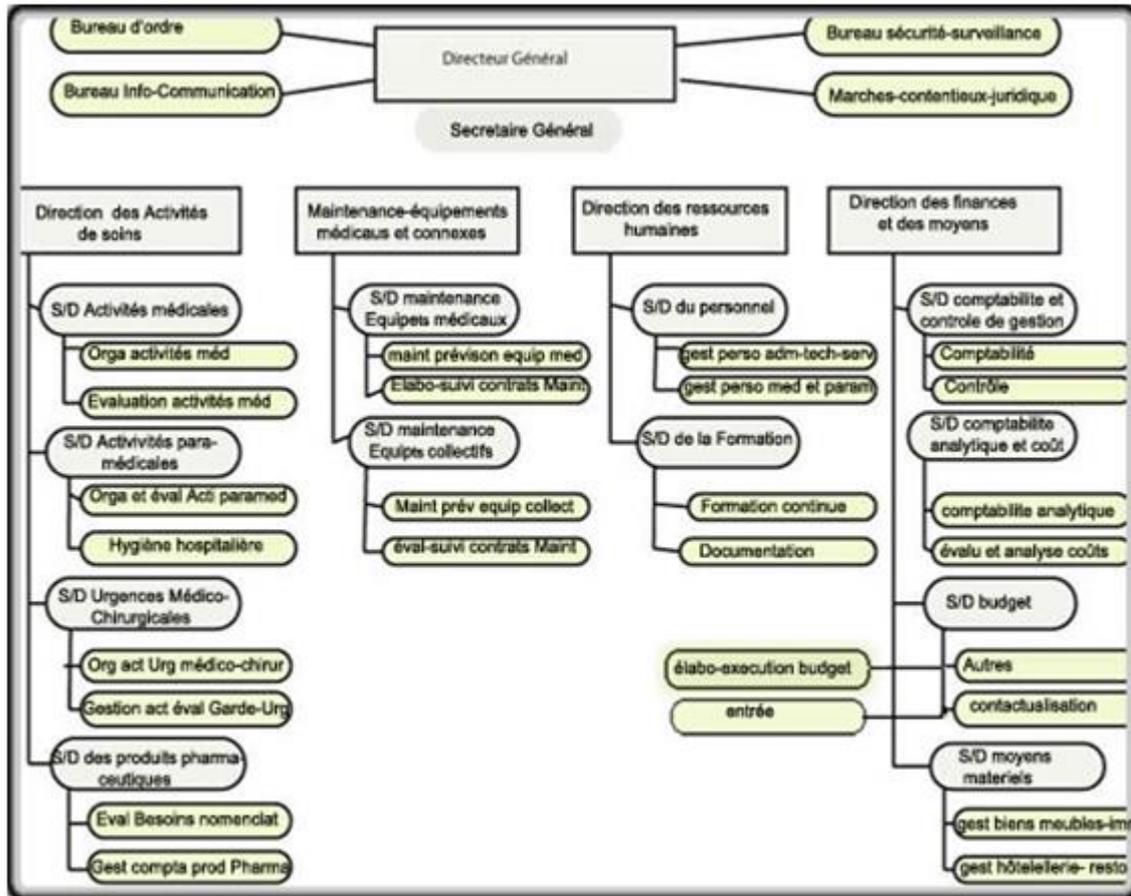


Figure 3 : Organigramme de l'Etablissement Hospitalier Dr Benzerdjeb

I.2. Prélèvements

Durant la période s'étalant du 20 février au 30 avril 2019, 11 prélèvements ont été analysés, provenant de sujets hospitalisés dans différents services du Centre Hospitalier Dr Bendzergeb d'Ain Temouchent et de sujets non hospitalisés venus en consultation externe (**Tableau 3**).

Le prélèvement de plaie permet d'isoler les micro-organismes responsables de l'infection, de les identifier, de déterminer leur sensibilité aux anti-infectieux et d'adapter le traitement.

Un prélèvement de qualité doit être aseptique pour éviter sa contamination.

Les diverses données complémentaires (âge, sexe, soins, hospitalisations antérieures, etc.) sont collectées sur une " Fiche de recueil de données ".

P	Pathologie	Sexe	Age	Date/Heure	Service	Notion de prise antérieure d'antibiotiques	Site du prélèvement
1	Pied diabétique	H	74	25/02/2019 11h38	Médecine interne	Oui	Plaie
2	AVC	H	60	26/02/2019 9h02	Cardiologie	Non	Site d'insertion du cathéter
3	Maladie de Fournier	H	55	27/02/2019 8h30	Chirurgie générale	Oui	Abcès génitale
4	Pied diabétique	H	48	27/02/2019 10h30	Médecine interne	Oui	Plaie
5	Otite récidivante	F	40	27/02/2019 11h10	Orl	Oui	Oreille en profondeur
6	Ulcération génitale	F	33	27/02/2019 12h44	U.R.O	Oui	vulve
7	Scoliose – patient trachéotomisé	F	12	03/03/2019 10h01	Réanimation	Oui	Trachée
8	Péritonite	H	68	03/03/2019 10h09	Chirurgie générale	Oui	Plaie
9	Scoliose	F	13	04/03/2019 9h00	C.C.I	Oui	Plaie dorsal
10	Fracture du fémur	H	40	04/03/2019 11h08	Traumatologie	Oui	Plaie
11	Ulcération buccale	F	52	05/03/2019 10h30	Dentaire	Oui	Gencive

Tableau 3 : Liste des prélèvements issus de l'hôpital EH Benzerdjeb.

I.3. Préparation du prélèvement

Avant tout prélèvement, il faut préparer la plaie avec :

- Un débridement mécanique au moyen d'une curette ou d'un scalpel stériles.
- Un nettoyage doit être réalisé avec du gaz imbibé de sérum physiologique stérile afin d'éliminer la flore commensale (**MEP Ltd, 2008**).

I.4. Ecouvillonnage

Un tube et un écouvillon stériles ont été utilisés pour effectuer une détersion après nettoyage de la plaie au sérum physiologique, le prélèvement est fait en frottant l'écouvillon soit sur l'ensemble de la plaie ou du fond de l'ulcère, soit sur les zones semblant les plus suspectes. Il doit porter exclusivement sur le pus et éviter toute contamination. Ce produit pathologique étant souvent polymicrobien est lui-même un excellent milieu de culture (**Med Mal Infect. 2007**).

Le tube contenant un milieu liquide (BHIB) de transport et de conservation a permis de conserver les bactéries pour une durée de 48 heures et a également servi de milieu d'enrichissement pour assurer leur multiplication. Cette méthode est indiquée pour les prélèvements superficiels et les plaies anfractueuses profondes (C.CLIN Sud-est, 2004).

Par ailleurs pour le cathéter un écouvillonnage humide de 2 cm autour du site d'insertion du cathéter est préconisé en cas de suspicion d'infection et en présence d'un exsudat accompagné de signes locaux d'infection : écoulement, rougeur, chaleur, tuméfaction, vésicules ou pus (Mermel et al, 2009).

Le prélèvement a été ensuite rapidement transporté au laboratoire d'analyse. Les résultats de ces prélèvements ont été interprétés avec prudence.

I.5. Préparation des suspensions

Les prélèvements recueillis ont été directement ensemencés dans des tubes stériles contenant 5ml de BHIB (Figure 4), ces derniers sont incubés à 37°C pendant 20h.

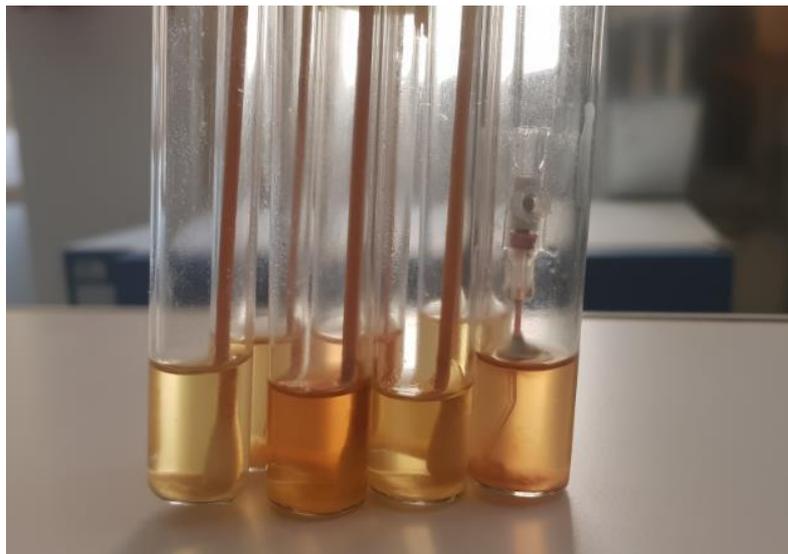


Figure 4 : Prélèvements en suspension de BHIB

La composition et le mode de préparation des milieux qui ont servi à notre étude sont rapportés en détail dans l'Annexe1.

I.6. Ensemencement et isolement

A partir d'une culture fraîche, obtenue sur du BHIB, un ensemencement par stries a été réalisé sur milieu Chapman et Mac Conkey.

Suite à une incubation à 37°C/24 h, quarts colonies de chaque aspect résultant isolées et bien distinctes sont repiquées et reprises à nouveau sur milieu Chapman et MacConkey, puis incubé à 37°C pendant 24h à des fins de purification des souches trouvées.

Il faut noter qu'en plus de ces deux milieux, la gélose nutritive peut servir également à la culture du staphylocoque, utilisée dont le but de la purification.

I.7. Identification

I.7.1. Aspect macroscopique

La première étape du diagnostic bactérien et du bio typage d'une souche est la description macroscopique des colonies isolées ; parfois cette seule étude permet de connaître le germe. L'étude macroscopique des colonies est donc importante.

Les caractères principaux étudiés et les différentes réponses possibles sont la forme de la colonie, taille, relief, aspect, couleur, consistance et contour de celle-ci.

I.7.2. Aspect microscopique

I.7.2.1. Examen à l'état frais

L'état frais est une étape qui permet de mettre en évidence la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité et leur regroupement (Bousseboua, 2002).

I.7.2.2. Coloration de Gram

Un examen direct est effectué après coloration de Gram (recherche de l'affinité tinctoriale et de cytologie bactérienne) (Flandrois et Chomart, 1988).

Un frottis fin est obtenu à partir du produit pathologique, il est fixé par dessiccation en chauffant fortement deux à trois fois une demie seconde le frottis tenu à la pince puis coloré par du violet de gentiane (Figure 5) et du safranine selon le protocole technique décrit dans la référence permettant une meilleure visualisation des bactéries et/ou des éléments cellulaires (Joffin et Leyral, 2005).

Compte tenu des différences structurales de la paroi des bactéries, la coloration de Gram découverte par Hans GRAM en 1884 permet de distinguer les bactéries colorées en violet (G+) de celles en rose (G-) (Bruner, 1933).

Le protocole de la coloration de Gram est retrouvé dans l'annexe 6

I.7.3. Identification biochimique

L'identification du genre et de l'espèce d'une souche bactérienne doit se poursuivre par la recherche de caractères biochimiques du métabolisme ainsi qu'en ensemencant une galerie d'identification.



Figure 5 : Coloration de Gram

I.7.3.1. Coagulase

Le test de la coagulase en tube est un moyen valable d'identifier les *Staphylococcus aureus*, il suffit d'un seul caillot ferme qui ne bouge pas lorsque le tube est incliné (**Figure 6**) pour que celui-ci soit considéré comme étant une réaction positive (**Sperber et Tatini, 1975**).

Les souches de staphylocoques isolées à partir d'échantillons cliniques ont été examinées. Ce test dépend de l'agglutination rapide des *staphylococcus aureus* à coagulase positive lors de leur mise en contact avec le plasma.

Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 1 mL de plasma humain frais + 1 mL d'une culture de 20 h en bouillon nutritif des souches à étudiés, les placer ensuite à 37°C.

Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures.

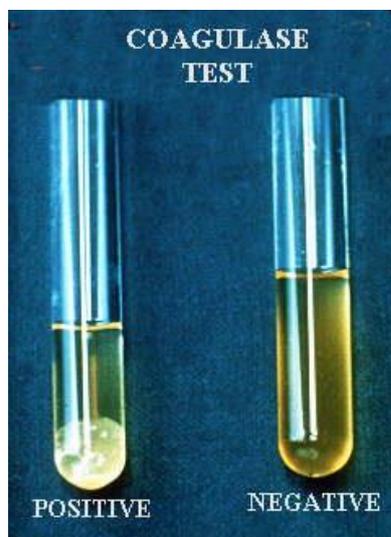


Figure 6 : Test de coagulase (**tankeshwar, 2019**).

L'utilisation de plasma humain frais et de suspensions bactériennes concentrées est importante et seuls les staphylocoques présentant une agglutination rapide devraient être considérés comme positifs pour la coagulase (**Cadness-Graves, 1943**).

I.7.3.2. Recherche de l'enzyme respiratoire : catalase

Les tests basés sur les enzymes jouent un rôle crucial dans l'identification des bactéries. En 1893, une publication de **Gottstein** a attiré l'attention sur la catalase bactérienne, ce qui en fait l'une des premières enzymes bactériennes à avoir été décrites (**Gagnon, 1959**).

Le test est réalisé pour les souches isolées du milieu Chapman. Une des méthodes les plus populaires en bactériologie clinique est la méthode sur lame. Le test de catalase nécessite une

petite quantité de microorganismes déposés sur lame suivi d'une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂).

Ce protocole est principalement utilisé pour la différenciation des staphylocoques dotés d'un catalase positive et entérobactéries d'un catalase négatif.

Les réactions positives se manifestent par une effervescence immédiate formation.

I.7.3.3. Identification biochimique par le système API

C'est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données (Butler, 1975).

La galerie API (Appareillage et Procédés d'Identification) 20 E (E=Entérobactéries). La galerie API 20 E (Figure 7) comporte 20 microcupules contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline 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

I.7.3.3.1. Préparation de l'inoculum

Deux ou trois colonies ont été prises à partir de la gélose Mac conkey pour 5 souches d'aspect différent. Puis, elles sont mises dans 10 ml d'eau stérile et mélangées à l'aide de la pipette pasteur menée d'une poire. L'inoculum servira au remplissage des micros cupules de la galerie API 20 E

I.7.3.3.2. Remplissage de la galerie

Le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation sont réunis, ensuite environ 5 ml d'eau distillée stérile sont répartis dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

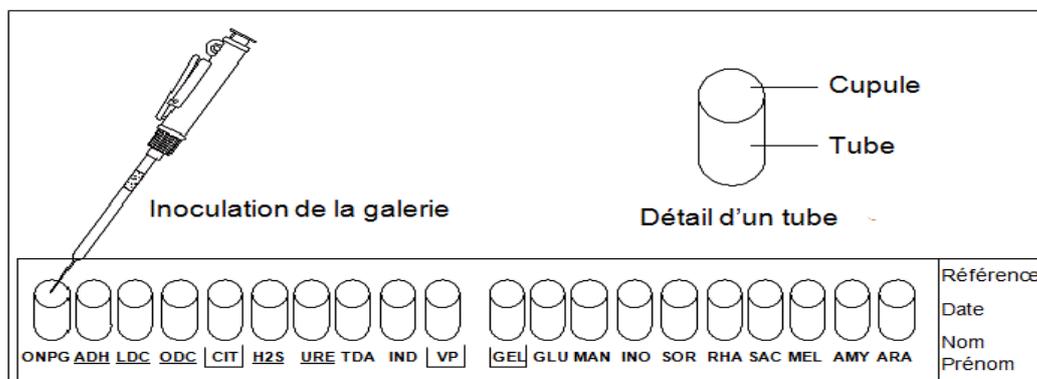


Figure 7 : Remplissage de la galerie API 20^E (DOLISI, 2001).

Les alvéoles du support de la galerie ont été remplis par l'inoculum pour former une chambre humide, dans laquelle la galerie est déposée, suivant des règles précises.

Suite à ça la galerie est incubée à une température de 37°C pendant 24 heures, des réactifs sont ajoutés par la suite tel que le Kovaks et le DTA respectivement à l'indol (IND) et Le tryptophane désaminase (DTA).

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (**Bio Merieux, 2002**).

I.8. Conservation des souches

La conservation des isolats purifiés est réalisée par ensemencement sur gélose inclinée (**Figure 8**).

Après incubation à 30°C pendant 18 heures, les tubes sont conservés à + 4°C, Le renouvellement des cultures se fait tous les trois semaines (**Saidi et al., 2002**).



Figure 8 : Conservation des souches sur gélose inclinée.

I.9. Etude de comportement des souches isolées vis-à-vis des antibiotiques

Dans le but de rechercher une éventuelle résistance aux ATB de la souche d'entérobactéries et des staphylocoques, des antibiogrammes standards sur gélose Mueller Hinton pour ont été réalisés selon les recommandations du **CA-SFM (2018)**.

I.9.1. Préparation des solutions

La standardisation a pour but d'avoir le même nombre de cellules bactériennes dans 1 ml de culture durant toute l'expérimentation. L'activité des agents antimicrobien est dépendante de la densité de la suspension cellulaire de la souche cible utilisée.

Des colonies parfaitement identiques ont été raclées et isolées dans du BN pour un enrichissement, puis incubé durant 20h à 37°C.

Au terme de la période d'incubation, des dilutions sont réalisées dans de l'eau distillée stérile pour le calcul de la densité optique (DO).

I.9.2. Dosage spectrophotométrique

Chaque souche microbienne est préparée dans le bouillon nutritif est dilué dans de l'eau distillé, homogénéisées et ajusté à une densité bactérienne de 0,08 à 0,1.



Figure 9 : Calcule de la Densité optique (DO).

Le dosage est effectué à l'aide d'un spectrophotomètre ou un colorimètre avec une longueur d'onde de 625 (**Figure 9**). Et l'ajustement se fait en ajoutant, soit de la culture à la suspension bactérienne, soit de l'eau distillé stérile après le calcul de la (DO).

I.9.3. Antibiogramme

La détermination de la sensibilité des bactéries vis-à-vis des antibiotiques est fondée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition. La méthode des disques est utilisée dans cette étude.

Des dilutions décimales à 1/10 pour les staphylocoques et 1/100 pour les entérobactéries ont été réalisées dans des tubes à essai stériles à partir des suspensions dont la DO a été calculée.

Le milieu Mueller-Hinton (MH) (**Annexe 1**), coulé est utilisé, l'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Les boîtes de pétri sont mises en position inclinée pendant 3 à 4 minutes afin d'éliminer tout excès d'inoculum (**ENGONGA, 2009**).

I.9.4. Application des antibiotiques

Pour l'étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques, 16 antibiotiques connus pour être actifs sur les bactéries isolés sont testés. Ils appartiennent à différentes familles représentées dans le **Tableau 4** :

Tableau 4 : Liste des antibiotiques utilisés pour les souches d'entérobactérie et staphylocoque

Famille d'antibiotique	Antibiotiques testés	Charge des disques
Bétalactamines	Pénicilline	10 UI
	Oxacilline	1 µg
	Céfoxitine	30 µg
	Amoxicillin	25 µg
	Ampicillin	10 µg
	Ceftazidime	10 µg
	Imipenem	10 µg
	Piperacillin	30 µg
	Ticarcillin	75 µg
	Cefalexin	30 µg
Aminosides	Gentamicine	10 µg
	Tobramicine	10 µg
	Streptomycin	10 µg
Macrolides	Erythromycine	15 µg
Glycopeptides	Vancomycine	30 µg
Quinolones	Ofloxacine	5 µg
	Ciprofloxacine	5 µg
Polymyxines	Colistin sulfate	10 µg
Lincosamides	Clindamycine	2 µg

Six disques d'antibiotiques sont appliqués par boîte. Les boîtes sont, ensuite, incubées immédiatement pendant 24 heures en atmosphère ordinaire à 37°C. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'une règle.

Les résultats sont comparés aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture selon les normes (**CASFM 2018**), puis la bactérie est classée dans l'une des catégories: sensible, intermédiaire ou résistante.

I.10. Etude de l'activité antibactérienne de la vitamine C

Ce test a pour but de connaître l'activité inhibitrice de la vitamine C sur la croissance des différents germes étudiés. On pourra alors établir la relation concentration-activité de cette substance.

I.10.1. Dosage de la vitamine C

Des solutions aqueuses de quatre concentrations de vitamine C en poudre respectivement 93, 77, 50 et 25 mg sont pesées et mélangé à 1ml d'eau distillé stérile pour chaque souche.

I.10.2. Méthode des puits

Afin de mettre en évidence l'action antibactérienne de la vitamine C à l'égard des souches d'origine hospitalières, la méthode de diffusion sur gélose est réalisée. Le test consiste en la réalisation d'un antibiogramme selon la méthode des puits.

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien, elle est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs.

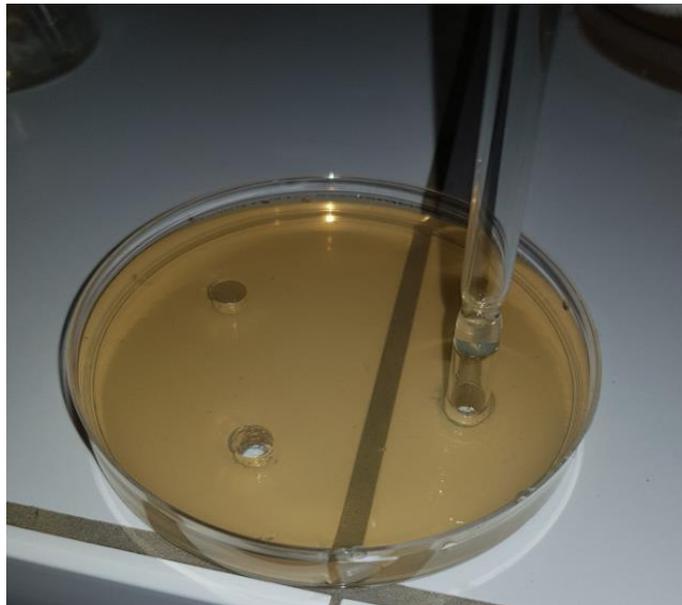


Figure 10 : Formation des puits sur gélose Mueller Hinton

Après le séchage des boîtes, la gélose est perforée au centre à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur (**Figure 10**) formant 4 puits pour la substance à tester aux concentrations 93, 77, 50 et 25 mg/ml. Après 30 min de diffusion à la température du laboratoire, chaque puits reçoit une solution de vitamine C à raison de 50 µl, le puits témoin recevant de l'eau distillée.

Une boîte sans vitamine C est également ensemencé pour servir de témoin. Cela est suivi par une Incubation pendant 24 heures à 37°C (**Bssaibis et al, 2009**).

L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (**ELA et al, 1996**).

I.10.3. Test des spots

L'activité antimicrobienne des souches de bactéries à l'égard de la vitamine C est mise en évidence par un test d'effet antibactérien direct qui est le test des spots de (**Schillinger et Lucke, 1989**).

Après avoir coulé les boîtes de pétri avec 18ml de la gélose Mueller Hinton maintenus en surfusion, 2ml de la solution aqueuse de vitamine C d'une concentration de 93mg/ml est ajouté a chaque boîte. Le mélange est immédiatement agité et laissé à refroidir (solidifiée et séchée).

Les boîtes sont séchées à l'air ambiant pendant 30 min environ puis 100µl de la suspension bactérienne des différentes souches sont déposés en spot suivi d'une incubation à 37°C /24 h. Ainsi la lecture de caractérisé par une présence ou absence de croissance des souches bactériennes.

II. Résultats et discussions

II.1. Culture des prélèvements

Suite à une période étendu de 3 mois depuis février 2019, un nombre de 11 prélèvements ont été réalisés depuis différent services de l'hôpital EH Benzerdjeb.

La culture de ces derniers après incubation 24h à 37°C a montrés la présence d'un trouble pour les 11 tubes de BHIB ensemencés (**Figure 11**).

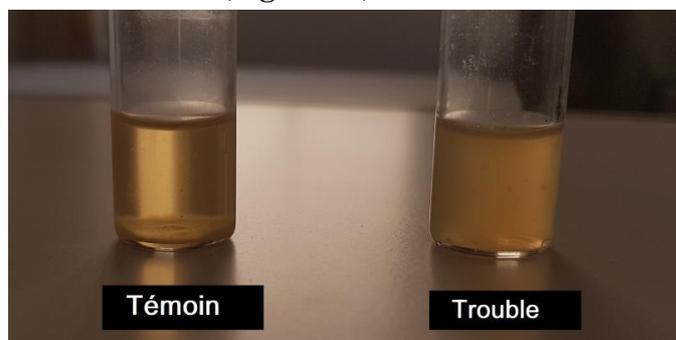


Figure 11 : Culture des prélèvements après incubation.

II.2. Taux d'isolement des souches à partir des cultures positives

Sans surprise, la flore des plaies s'est avérée majoritairement polymicrobienne. Après mise en culture, 21 bactéries différentes ont été retrouvées sur les plaies à partir des cultures des 11 prélèvements, tous d'aspects morphologiques différents. Les souches ont été isolées et purifiées par plusieurs repiquages successifs sur milieu Mac conkey et Chapman.

P	Pathologie	Sexe	Service	Site du prélèvement	Souches	
					Mac conkey	Chapman
1	Pied diabétique	H	Médecine interne	Plaie	1	1
2	AVC	H	Cardiologie	Site d'insertion du cathéter	1	2
3	Maladie de Fournier	H	Chirurgie générale	Abcès génitale	1	1
4	Pied diabétique	H	Médecine interne	Plaie	1	1
5	Otite récidivante	F	Orl	Oreille en profondeur	1	1
6	Ulcération génitale	F	U.R.O	Vulve	1	1
7	Scoliose – patient trachéotomisé	F	Réanimation	Trachée	1	1
8	Péritonite	H	Chirurgie générale	Plaie	2	2
9	Scoliose	F	C.C.I	Plaie dorsal	1	1
10	Fracture du fémur	H	Traumatologie	Plaie	1	1
11	Ulcération buccale	F	Dentaire	Gencive	1	1

Tableau 5 : Répartition des souches bactériennes selon le sexe, les prélèvements et les services.

L'âge moyen était de 45 ans (de 12 à 74 ans), le nombre d'hommes était majoritaire et la localisation principale était l'ulcère de la plaie, avec une présence de dispositifs dans la quelque cas. Les prélèvements positifs par patient s'étaient de 1 prélèvement par patient.

La plupart des malades avant l'hospitalisation avaient suivi un traitement traditionnel avec une fréquence de 90,8%.

Bien que le Haute Autorité de Santé (HAS) juge l'interprétation de ces prélèvements difficiles du fait de la présence normale de plusieurs germes à la surface de tout ulcère.

Le Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales (CCLIN) lui adopte une attitude plus intermédiaire stipulant que les prélèvements à visée diagnostique sont indiqués en présence de signes cliniques associés à l'infection

II.3. Identification des entérobactéries

II.3.1. Aspect macroscopique

La première étape du diagnostic bactérien et du biotypage d'une souche est la description macroscopique des colonies isolées ; parfois cette seule étude permet de connaître le germe grâce à ses colonies typiques. La **figure 12** ci-dessous montre l'aspect macroscopique des entérobactéries :

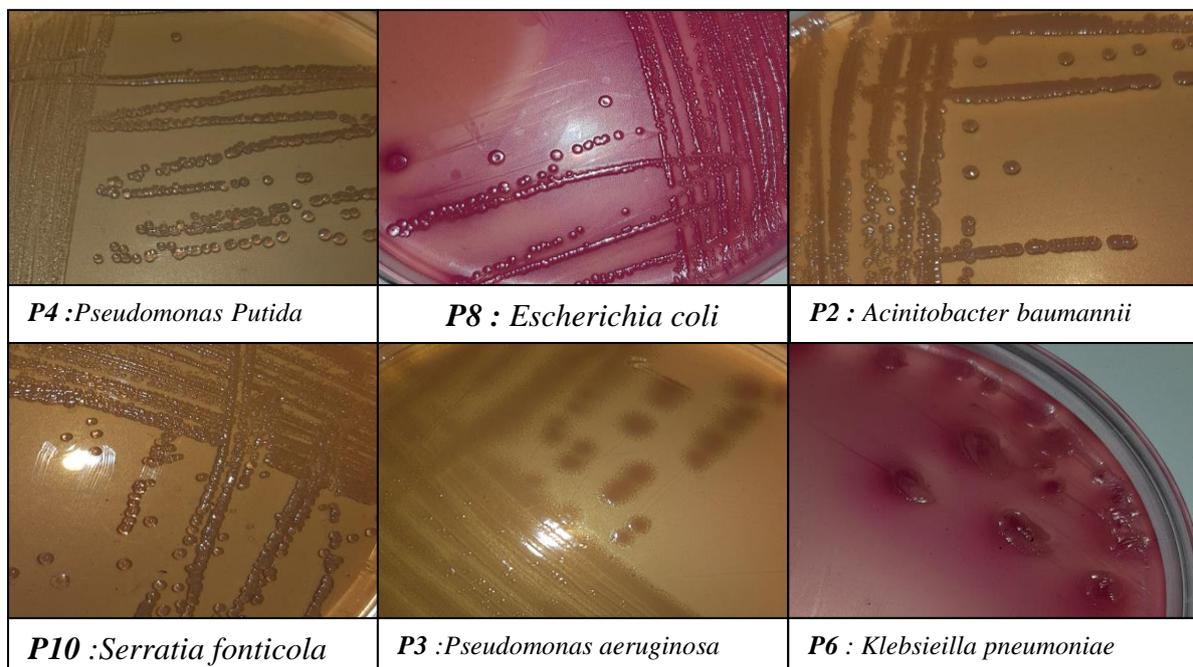


Figure 12 : Aspect macroscopique des souches d'entérobactéries sur milieu Mac Coneky

II.3.2. Aspect microscopique

II.3.2.1. Examen à l'état frais

Parmi les souches isolées de nombreux bacilles sont mobiles suite à l'examen à l'état frais montrant que les souches bactériennes purifiées présentent des formes bacillaires mobiles avec un mouvement rapide.

II.3.2.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram réalisée les souches d'entérobactéries ont donnés les résultats dans la (Figure 13) ci-dessous :



Figures 13 : Observation microscopique de bacilles à Gram- (Grossissement x1000).

L'observation des frottis colorés sous microscope optique nous permet de distinguer les formes cellulaires bactériennes de nos isolats. La coloration de Gram révèle un groupe de bacilles Gram -.

II.3.3. Résultats d'identification sur galerie API 20 E

Avec le système de tests biochimiques API 20 E Enterobacteriaceae, un type bio, codé numériquement, a été déterminé pour chacune des 5 souches parmi les souches d'entérobactérie isolées de patients présentant une infection. Le profil numérique obtenu permet l'identification des souches (Figure 14) comme étant :

- (P2) : *Acinetobacter baumannii*
- (P3): *Pseudomonas aeruginosa*,
- (P6) : *klebsiella pneumoniae*
- (P8): *Escherichia coli*
- (P10) : *Serratia fonticola*

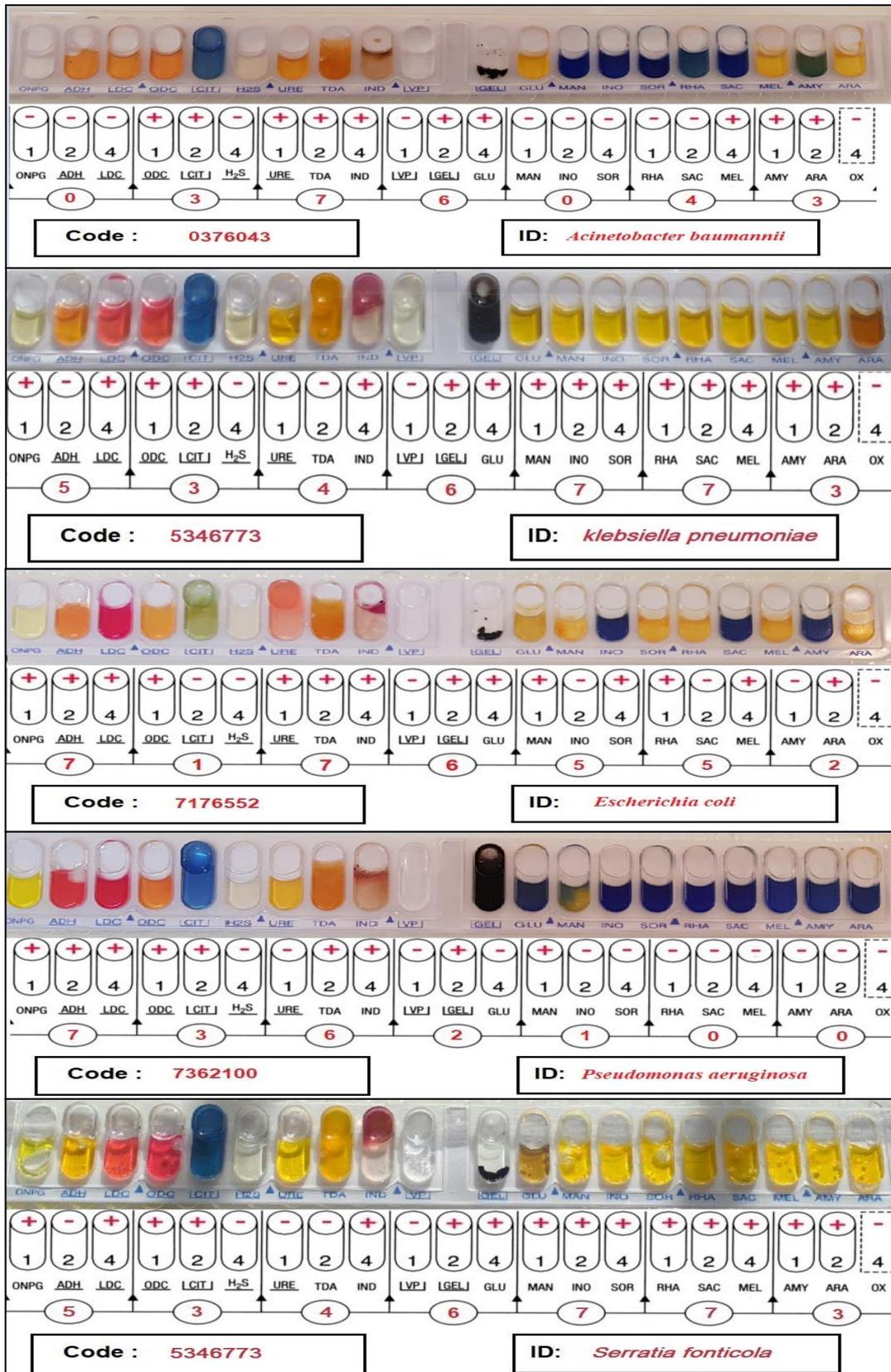


Figure 14 : Résultats d'identification des souches sur galerie API 20

De nombreux tests et milieux de culture servent à l'identification bactérienne. Cependant,

- ✓ L'interprétation d'un test n'est pas toujours très nette et repose en partie sur l'expérience.
- ✓ Les résultats ne sont pas toujours constants à 100%; une identification peut nécessiter de nombreux tests différents (>20) afin de compenser pour certains résultats parfois contradictoires.
- ✓ L'identification repose sur un choix judicieux des tests, selon l'infection et les symptômes observés.

Pseudomonas aeruginosa est aujourd'hui clairement reconnu comme un pathogène nosocomial majeur chez les patients immunodéprimés ou affaiblis, ce qui pose un problème de traitement des patients touchés par ces infections (Mesaros *et al.* 2007).

En Algérie, *Pseudomonas aeruginosa* est le troisième agent le plus incriminé dans les infections associées aux soins (Benslimani et Meieddine, 2012; Amrouni *et al.*, 2014).

Le personnels et matériels sont les plus contaminés constituant ainsi une source de contamination pour les patients de différents services d'où le nombre élevé de *Pseudomonas* par rapport aux autres bactéries puisque les *Pseudomonas* sont des bactéries de l'environnement, elles sont rencontrées dans l'eau, soignants, visiteurs et de l'environnement hospitalier. Cela a été déjà signalé par (Merah, 2011).

Une enquête méditerranéenne de prévalence en 2010, montre qu'*Escherichia coli* occupe la première place juste avant *Staphylococcus aureus* et *pseudomonas aeruginosa* dans les infections nosocomiales (Amazian *et al.*, 2010).

II.4. Identification des staphylocoques

II.4.1. Aspect macroscopique

L'observation de la morphologie coloniale décrit plusieurs types de colonies de staphylocoques. Figures 15 et 16 ci-dessous :



Staphylocoque à coagulase (-)

Figure 15 : Aspect macroscopique des souches de staphylocoques à coagulase (-)

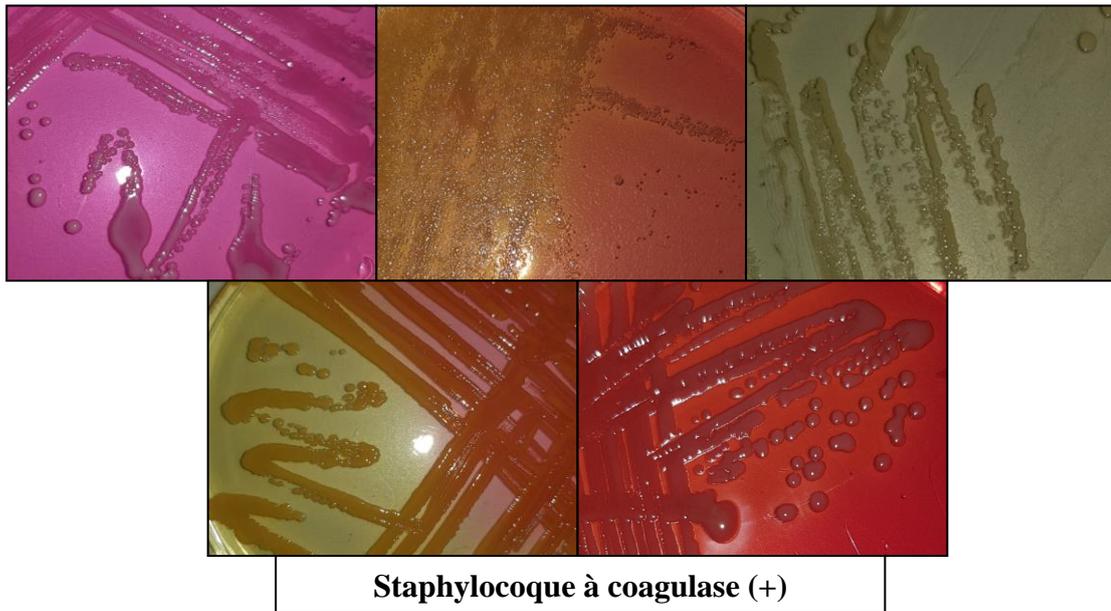


Figure 16 : Aspect macroscopique des souches de staphylocoques à coagulase (+)

II.4.2. Aspect microscopique

II.4.2.1. Examen à l'état frais

L'examen à l'état frais montre une mobilité moyennement lente pour quelques coques seulement.

II.4.2.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram réalisée les souches d'entérobactéries ont donnés les résultats dans la (Figure 17) ci-dessous :

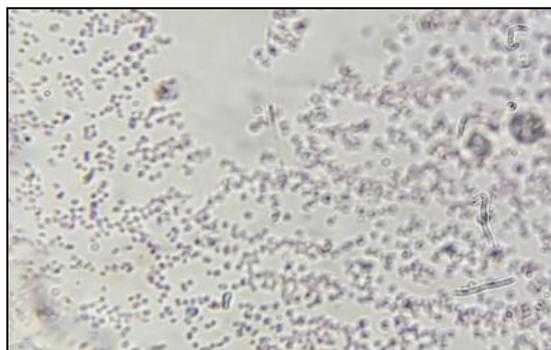


Figure 17 : Observation microscopique de Cocci Gram+ (Grossissement x1000).

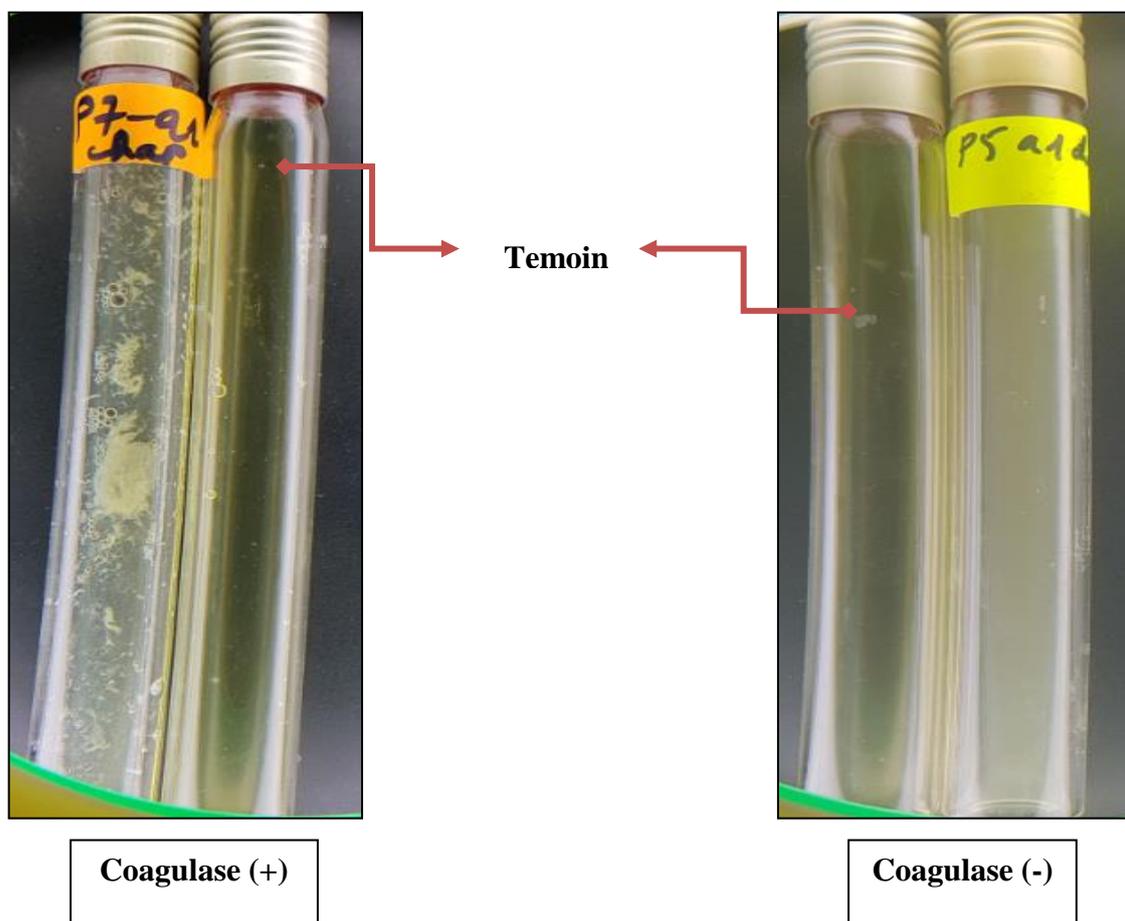
Il est possible de suspecter en tenant de Gram+ que de Gram -. Les morphologies observées permettent d'évoquer un probable diagnostic.

Les souches évoluent selon le mode de prise en charge. Des traitements antibiotiques, des séjours hospitaliers ou la répétition des soins par des soignants multiples peuvent modifier l'écologie bactérienne des plaies (Fauga, 2014)

II.4.3. Test de coagulase

Toutes les souches de *S. aureus* identifiées par des méthodes conventionnelles étaient correctement différenciées par le test de coagulas et aucun résultat faussement positif ne s'est produit avec d'autres staphylocoques. Le réactif est facile à préparer car le plasma est le matériau de revêtement.

Les résultats du test de coagulase sont montrés comme suite (Figure 18) comparés au témoin (plasma seul) :



- Coagulation du plasma \Rightarrow Coagulase + \Rightarrow *Staphylococcus aureus*.
- Pas de coagulation du plasma \Rightarrow Coagulase - \Rightarrow ininterprétable \Rightarrow faire d'autres tests (ADNase thermostable, recherche protéine A, recherche récepteur au fibrinogène).

Parmi les 10 isolats de staphylocoques on compte uniquement 4 coagulations négatives issues du prélèvement (2, 5, 8 et 10).

La présence d'une coagulase est utilisée pour distinguer entre les staphylocoques à coagulase positive principalement *S. aureus*, ainsi que les staphylocoques à coagulase négative (Heilmann, 2003)

Ce qui caractérise mieux l'espèce *S. aureus*, c'est la production d'une staphylocoagulase (Fauchere, 2002). Cependant, certaines souches de *S. aureus* peuvent ne pas produire de coagulase libre en raison d'une mutation. Ainsi, une DNase thermostable permet de déterminer si le germe isolé est un *S. aureus* (Couture, 1990).

II.4.4. Recherche de l'enzyme respiratoire : catalase

Toutes les bactéries isolées sur milieu Chapman, testées pour la production d'une catalase, ont décomposé l'eau oxygénée en eau et en oxygène qui se dégage. Ce qui se traduit par le dégagement des bulles de gaz. Ceci est mis en évidence dans la (Figure 19) ci-dessous :



Figure 19 : Résultats du test de catalase

II.5. Taux d'identification des souches bactériennes

Les graphes suivants montrent la fréquence avec laquelle ont été retrouvées les différentes espèces bactériennes isolées à partir des 11 prélèvements (Figure 20) :

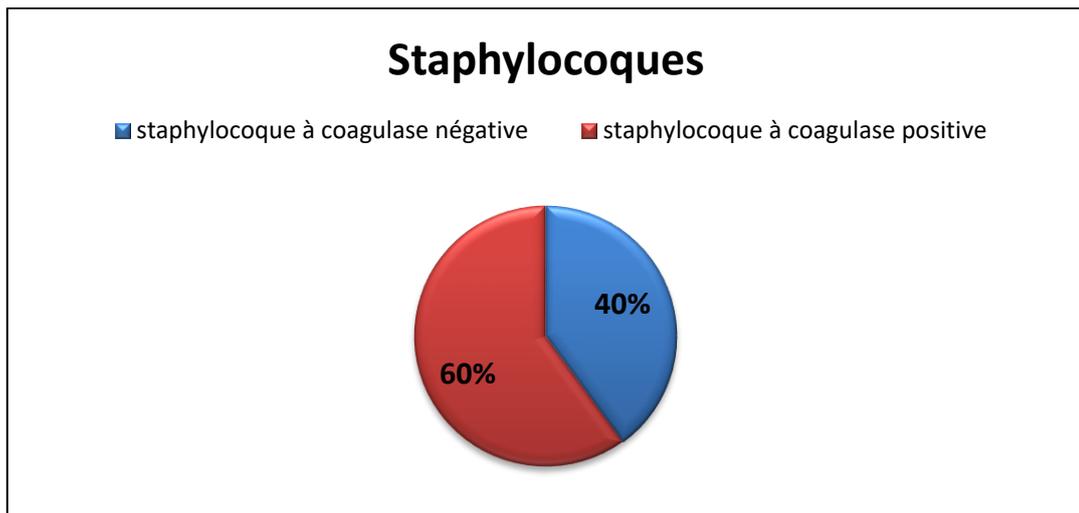


Figure 20: Fréquence de prélèvement positif selon les souches identifiées sur milieu Chapman

Le groupe des SCN (Staphylocoque à coagulase négatif) représente 40% des staphylocoques isolés avec une large domination des staphylocoques dorée qui est le germe le plus fréquent au total, représentant 60% des isolats. Ces résultats confirment donc la place principale de *S. aureus*.

Certains auteurs ont remarqué un fort portage inguinal de staphylocoque, pouvant être à l'origine d'infections post-opératoires (van der Mee-Marquet et al, 2003).

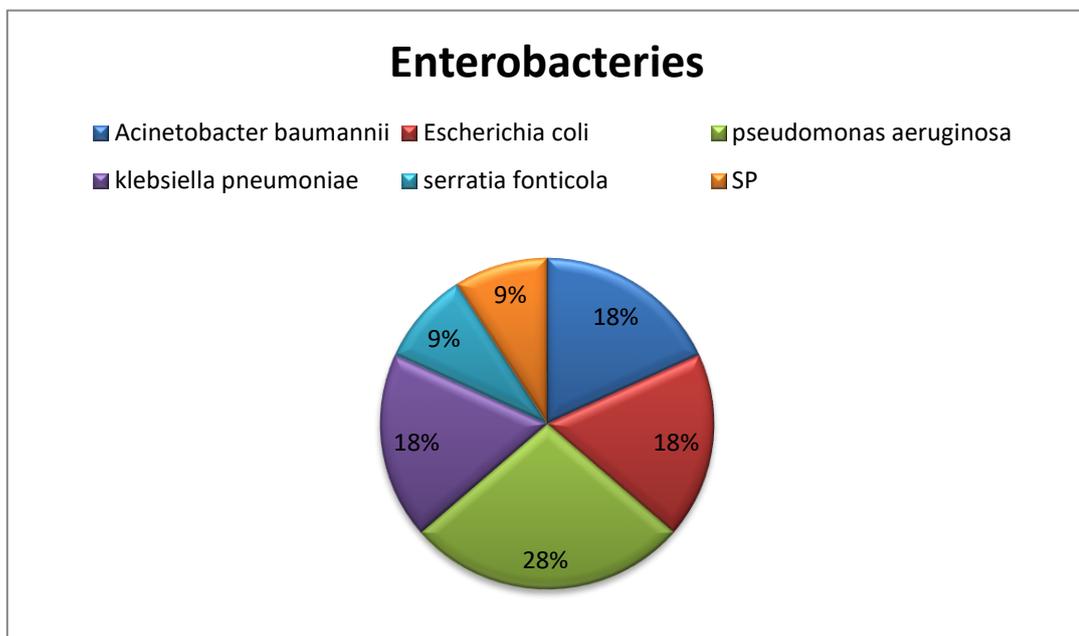


Figure 21 : Fréquence de prélèvement positif selon les souches identifiées sur milieu Makonkey

Selon de précédentes études, les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections communautaires et nosocomiales notamment les infections urinaires et respiratoires (**Gueye, 2007**). Particulièrement dans les pays en voie de développement, *E. coli* et *Klebsiella spp* étant les espèces les plus souvent isolées (**Bao et al ., 2013 ; Rangaiahagari et al., 2013**).

Nous trouvons dans l'ordre décroissant (**Figure 21**), *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Acinetobacter baumannii* chez 2/11 patients, du staphylocoque doré chez 6/11 patients et du staphylocoque coagulase négative chez 4/11 des patients ainsi que des *Pseudomonas aerogenosa* chez 4/11 patients. Les autres types de bactéries n'ont été mis en évidence que chez 1 ou 2 patients, et *Serratia fonticola* n'a été retrouvé que chez un patient. Comme cela était décrit par certains auteurs (**Gieler et Vogt, 1984**), toutes les plaies que nous avons étudiées étaient colonisées par plusieurs espèces bactériennes. Dans notre étude il y avait au moins deux types différents de bactéries dans chaque ulcère avec un maximum de 6 types différents pour une lésion. Ces résultats sont comparables aux publications de **Kontinen et al ; Halbert et al ; Eriksson et al ; Schraibman et al et Ramelet**.

Selon une étude on trouve en moyenne 4 espèces de bactéries sur un ulcère avec un prélèvement classique. *Staphylococcus aureus* et les staphylocoques à coagulase négative sont les germes les plus fréquemment isolés dans les plaies, avec *Enterococcus faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ce qui est le cas pour les résultats des prélèvements de pieds diabétiques isolés (**Fauga, 2014**).

Ainsi, *Pseudomonas aeruginosa* est à l'origine de 16 % des cas de pneumonies hospitalières et de 12 % des infections urinaires nosocomiales. Elle est responsable d'infections nosocomiales Sévères pouvant atteindre 70 % de létalité en cas de pneumopathie nosocomiale (**Berthelot et al ., 2005 ; Adjidé et al ., 2009**).

Selon **Talon (1995)**, suite à des prélèvements, montrant le plus fort pourcentage de contamination par *P.aeruginosa* et *S.aureus* de 44% dont 33% est en provenance des plaies opératoires et site d'insertion de dispositifs médicaux, conduisant ainsi à des infections nosocomiales. Cela du à plusieurs facteurs comme l'activité humaine qui entraîne un apport de micro-organismes par le patient lui même, par les soignants et par les visiteurs.

Suivant une autre étude faite à l'hôpital général de Douala, Les entérobactéries étaient les germes les plus fréquents sur l'ensemble des souches isolées. Une prédominance d'*Escherichia coli* (48,5%) et de *Klebsiella pneumoniae* (32,8%) a été notée. Les entérobactéries représentaient 71% de l'ensemble des germes isolés, soit 15% provenaient du service de médecine, 11% de pédiatrie, 7% de chirurgie et 6% de réanimation (**Ebongue et al, 2015**)

Donlan en 2001 signale que les microorganismes en cause proviennent de la flore cutanée du patient, de la microflore exogène du personnel hospitalier, ou encore de l'environnement contaminé.

Les prélèvements obtenus reflètent en outre la qualité du bionettoyage, l'efficacité ou les défaillances du traitement et des soins des patients.

La contamination dépend de nombreux facteurs liés au microorganisme : sa durée de vie sur (qui varie en fonction de la température, de la dessiccation), de son adhérence, de sa capacité à produire un biofilm et de sa capacité à résister aux conditions défavorables (sporulation). Par exemple, il a été montré que *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter baumannii* sont les espèces parmi les plus résistantes à la dessiccation et peuvent survivre plusieurs semaines sur les surfaces sèches (**Wendt, et al ., 1998**).

S. aureus étant aussi un agent commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. Il présente le potentiel de pathogénicité le plus important de toutes les espèces du genre *Staphylococcus*. Ce germe est responsable d'infections aiguës et chroniques dont la plupart sont dues à sa capacité à adhérer à des dispositifs médicaux et à former un biofilm (**Liesse Iyamba, 2012**).

II.6. Profil de sensibilité des souches aux antibiotiques

Le test de l'efficacité d'antibiotiques des bactéries prélevés à partir des milieux Mac Conkey et Chapman sont représentés dans les tableaux (8) et (9) dans **l'annexe 3** et mis en évidence dans la (**Figure 22**) ci-dessous :

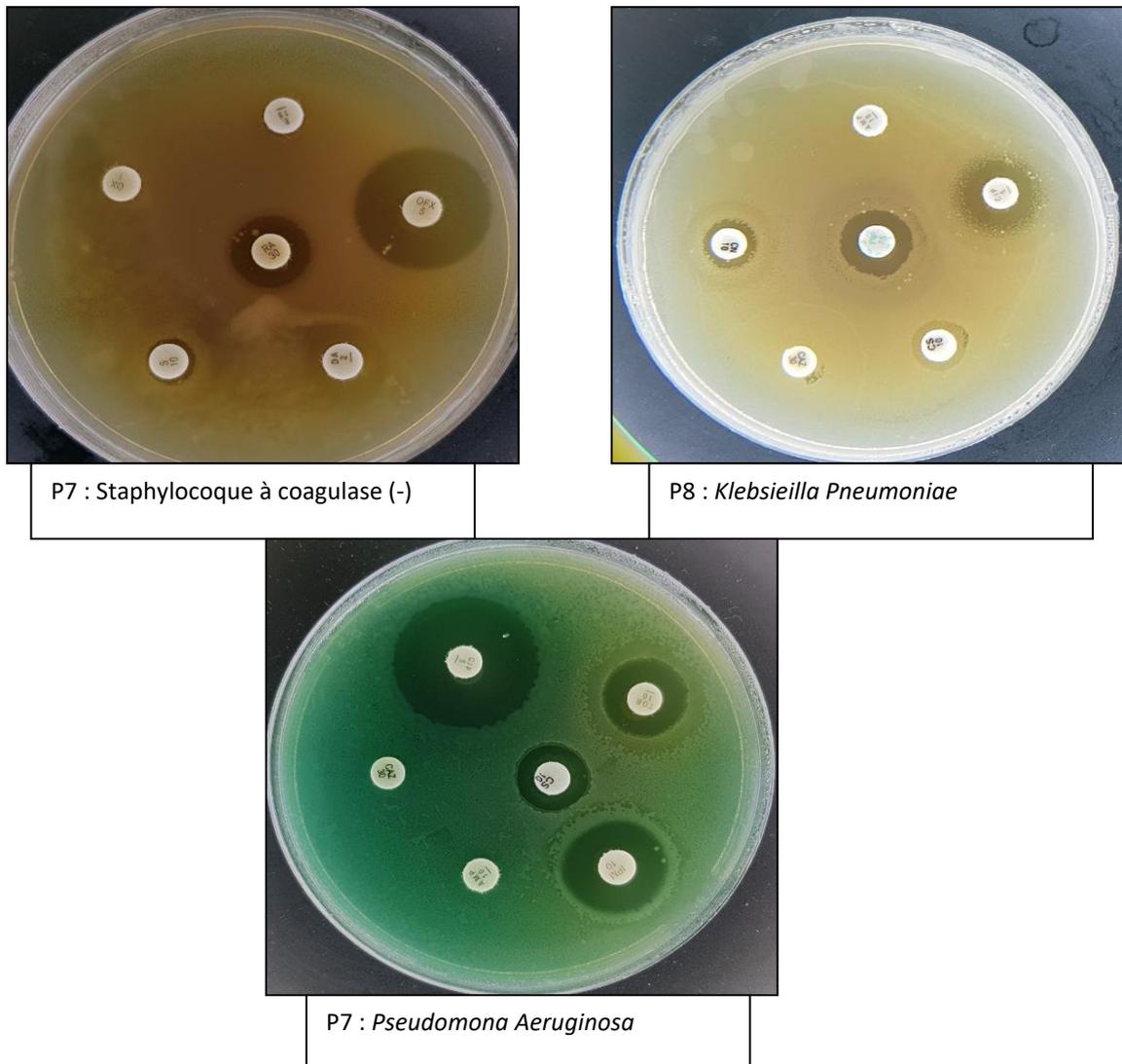


Figure 22 : résultats de test d'antibiogramme

Il ressort de l'analyse de l'antibiogramme que ces germes présentent des réponses différentes vis-à-vis les antibiotiques testés (**Figure 22**). Les isolats ont résistés aux 18 antibiotiques avec des pourcentages différents. Par contre ils sont sensibles aux antibiotiques : Colistin, Ofloxacin et Ciprofloxacine.

En effet, tous comme pour les entérobactéries et le staphylocoque, les résultats d'antibiogramme montrent que les familles d'antibiotique les plus actives sur les 21 souches testées selon l'étude statique sont la famille des Bêta-lactamines, Aminoglycosides et les Quinolones.

Le choix des antibiotiques à été fait selon les recommandations de la société française de microbiologie (CA-SFM 2018).

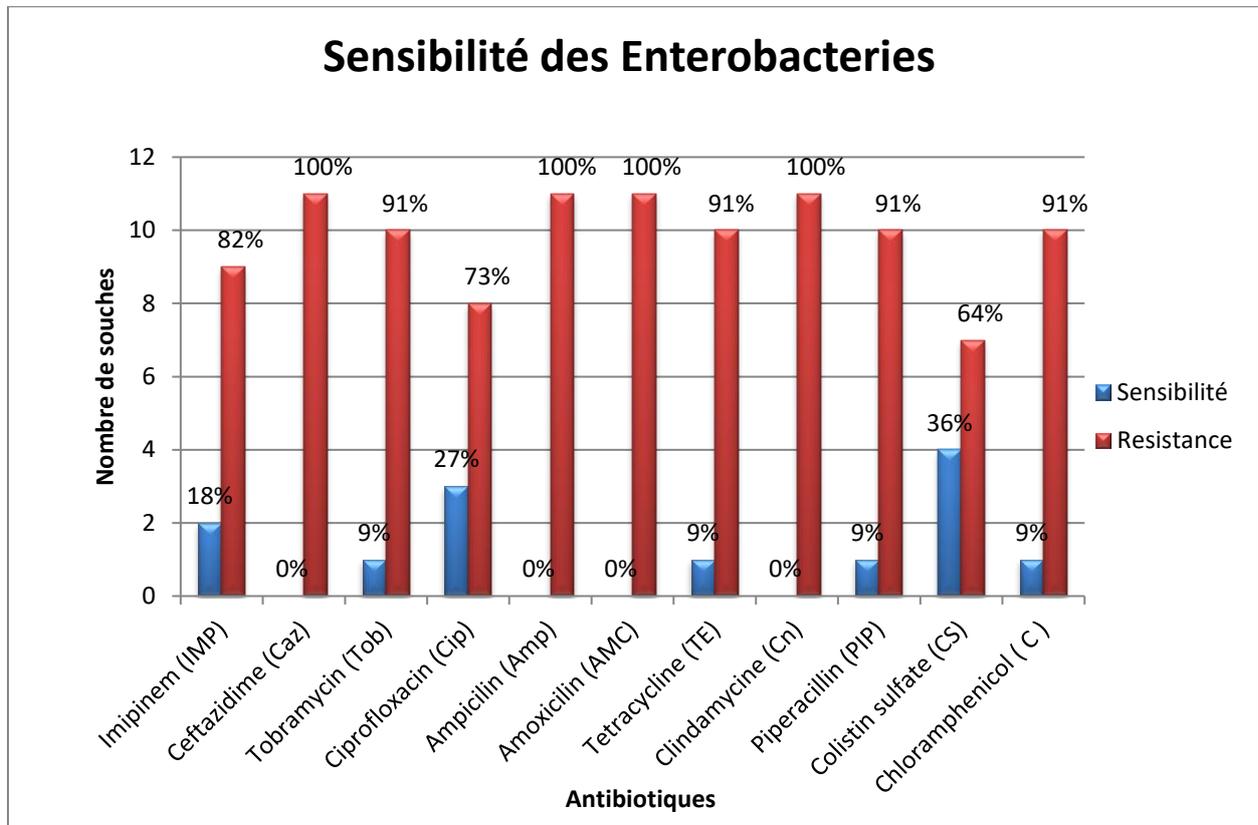


Figure 23 : Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques

Dans cette étude, parmi les 11 souches d'entérobactéries, on compte au moins une sensibilité à l'une des familles d'antibiotiques testé (**Figure 23**).

On distingue une sensibilité moyenne de 36% pour le colistin sulfate (Cs) un total de 4/11 des souches y sont intermédiaires dont uniquement une seule souche *d'Acinitobacter baumannii* et *Klebsiella Pneumoniae* ainsi qu'une sensibilité de 27% pour le ciprofloxacine (Cip) soit un total de 3 souche sur 11 dont *E.coli* et *pseudomonas Aerogenosa*.

Comparé aux autres souches testées, on observe une grande résistance de la part des souches *d'Acinitobacter baumannii*, en effet mise à part celle prélevée du site d'insertion du cathéter, le reste des *Acinitobacter* prélevé à partir des plaies infecté ne sont sensible à aucun antibiotiques testé.

Des études concorde avec ces résultats stipulant que les *Acinitobacter baumannii* sont le plus souvent multirésistants, y compris aux céphalosporines de troisième génération. La résistance à l'imipénème peut également être observée (**Hashemi et al, 2013**).

La résistance accrue de *K. pneumoniae* peut être due au fait que celle-ci porte le plus souvent des gènes de résistance, notamment aux aminosides, aux fluoroquinolones entraînant une multirésistance (Nordmann et al., 2009)

Une étude spécifique l'augmentation entre 2005 et 2012 de la résistance vis-à-vis au Ciprofloxacine passant de 29,2% à 44% des souches d'entérobactéries. Cette étude stipule aussi que d'un point de vue général, les souches isolées des prélèvements des patients hospitalisés étaient plus résistantes aux antibiotiques que celles des malades non hospitalisés. Constat identique rapporté par Hashemi et Piéboji (Hashemi et al, 2013 ; Piéboji et al, 2004).

Une progression du taux de résistance des entérobactéries à la ciprofloxacine a également été rapportée par Guembe en Espagne (Guembe et al, 2008).

18% soit 2/11 des entérobactéries sont intermédiaires à l'imipénème dont *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli*. Tandis que toutes autres souches restent résistantes soit 82%. Ce taux de résistance reste élevé, comparé à une autre étude menée sur des souches uropathogènes d'origine hospitalière isolées en Inde et qui montre un taux de résistance à l'imipénème de 75,86% pour les souches de *K. pneumoniae* (Prakash et al. 2013).

Alors que dans une étude antérieure réalisée au laboratoire Ait Bachir sur des souches d'entérobactéries isolées entre mars et avril 2012 aucune souche résistante à l'IMP n'a été enregistrée (Nait amara et al, 2012).

Un taux de sensibilité de 9% pour les trois antibiotiques : Tétracycline (TE), Chloramphénicol (C), Tobramycine (Tob) et le Piperacilline (PIP) est enregistré pour 4 souches dont 2 souches d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces derniers connaissent une tendance qui est plutôt à une diminution puis à une stabilisation de la résistance ces dernières années avec les tétracyclines (40 %) et le chloramphénicol (20 %) selon Soussy, 2007.

Par ailleurs, aucune sensibilité n'a été observée vis-à-vis des antibiotiques : Cefotaxime (Caz), Clindamycine (Cn), Ampicilline (AMP) et Amoxicilline (AMC). Les résultats montrent que toutes les souches sont 100% résistantes à ces derniers.

Pourtant, une étude réalisée dans 16 pays européens chez 4 734 femmes âgées de 18 à 65 ans et présentant des symptômes d'infections ou on y observe que chez *E. coli*,

44% la résistance est fréquente à l'ampicilline (29,8 %, variant selon les pays de 15,5 % à 53,9 %) (Kahlmeter, 2003).

Des résultats similaires ont été retrouvés au Nigeria et en Espagne (Raji et al, 2013). Plus de 44% de résistance aux céphalosporines de troisième génération (ceftazidime) a été observée, contrairement aux résultats de l'étude de Hashemi qui montraient une sensibilité de près de 75% (Hashemi et al, 2013).

En Espagne et en Turquie, aucune évolution des résistances aux ceftazidim n'a été retrouvée (Guembe et al, 2008 ; Inan et al, 2010). Cette augmentation pourrait être due à la pression de sélection.

Cette résistance élevée dans notre étude trouve sa justification dans le fait que ces molécules sont les plus prescrites dans le traitement des infections. Ceci se confirme par des niveaux de résistance aux quinolones plus élevés que les autres antibiotiques majeurs (céphalosporines et aminosides).

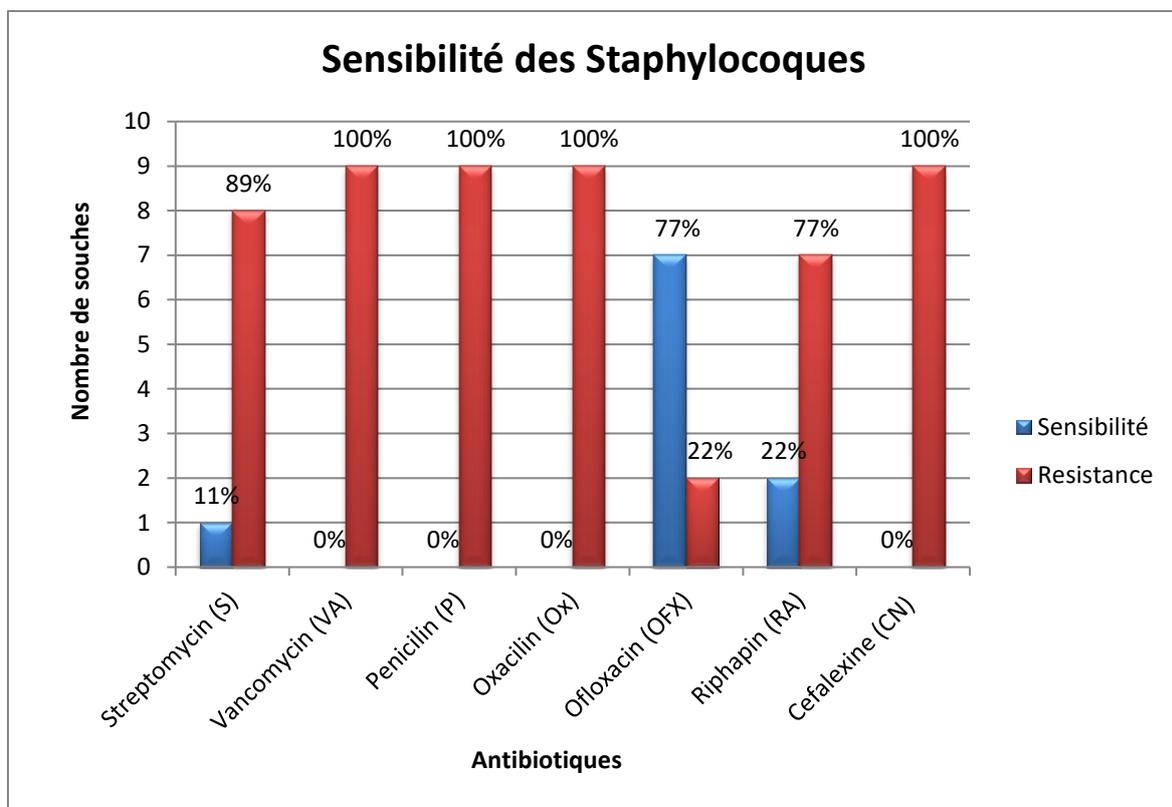


Figure 24 : Sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques

Pour les staphylocoques le taux de résistance aux familles d'antipolittiques est extrêmement élevé (**Figure 24**) avec un taux de 77% de l'ofloxacin (OFX) pour 7/10 des souches testés suivi du Rifampin (RA) avec 22% du taux de sensibilité et 11% pour le streptomycine (S).

De ce fait, de récentes études montrent que la résistance à la rifampicine a dépassé 30 % des souches pour revenir autour de 5 % ces dernières années.

Selon **CA-SFM 2005** la résistance des staphylocoques à coagulase négative est assez comparable, parfois plus élevée chez *S. epidermidis* et *S. haemolyticus* que chez *S. hominis* plus souvent retrouvés à l'origine d'infections nosocomiales.

Les glycopeptides (vancomycine) restent presque constamment actifs sur *Staphylococcus aureus*, à l'exception de rares souches. Une étude vient par ailleurs contredire ces faits et pour ainsi confirmer nos résultats mettant en évidence que les souches de *S. aureus* ne répondant pas au traitement par la vancomycine ont une sensibilité diminuée à cet antibiotique.

Ainsi, selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM), une concentration minimale inhibitrice (CMI) de vancomycine comprise entre 4 et 16 µg/ml définit une souche de sensibilité diminuée ou intermédiaire (**Dumitrescu et al, 2010**).

On y observe une résistance accrue au reste des antibiotiques testé sur les souches de staphylocoques. L'ofloxacin reste donc l'antibiotique de choix avec la sensibilité de toutes les souches de staphylocoques.

Contrairement au staphylocoque à coagulase (-), la plus part des *staphylococcus aureus* isolée sont résistants aux antibiotiques testé.

A titre d'exemple, en France, *S. aureus* présente une résistance de 16% à l'oxacilline, 20% aux fluoroquinolones, 13% à l'érythromycine, 8% à l'acide fusidique, et l'évolution de la sensibilité aux antibiotiques de *S.aureus* entre 2000 et 2009 au sein de ce réseau montre une diminution de 2% en moyenne hors SARM. Selon le réseau CCLIN Paris-Nord, l'évolution de *S.aureus* en SARM est aux alentours de 30%.

Staphylococcus aureus est majoritairement résistant à la pénicilline G par production de pénicillinase. La fréquence des souches résistant aux pénicillines du groupe méticilline-oxacilline a augmenté pour atteindre de 35 à 40 % des souches avant d'amorcer une nette décline ces dernières années.

On a longtemps pensé que la résistance à la colistine était rare et le fruit de mutations chromosomiques, ce phénomène est ainsi peu documenté. En 2015, un mécanisme de résistance plasmidique a été mis en évidence en Chine (**LIU et al. 2016**).

La population bactérienne des plaies est «sans doute hors de portée des antibiotiques administrés par voie locale ou générale.

Les antimicrobiens sont des médicaments de grande importance en médecine humaine et vétérinaire. Le phénomène d'antibiorésistance embrasse de nombreux pays et dépasse allégrement la frontière d'espèce, il représente un danger majeur pour la santé publique. Il convient donc aux professionnels des deux secteurs de santé d'agir dans ce sens.

Face à ces problèmes de santé publique, la médecine traditionnelle pourrait apporter une réponse thérapeutique adaptée. Sur la base des outils diagnostiques précédemment détaillés, les remèdes à base de produits naturels dont l'effet antimicrobien de la vitamine C constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés.

II.7. Etude de l'activité antibactérienne de la vitamine C

II.7.1. Méthode des puits

Le présent travail s'intéresse à l'étude de l'activité antibactérienne de différentes concentrations de vitamine C en solution respectivement (93, 77, 50, 25) mg/ml, vis-à-vis des espèces bactériennes isolées précédemment de à Gram positif et à Gram négatif.

Les résultats de l'effet antibactérien de la vitamine C sont représentés ci-dessous (**Figure25**) :

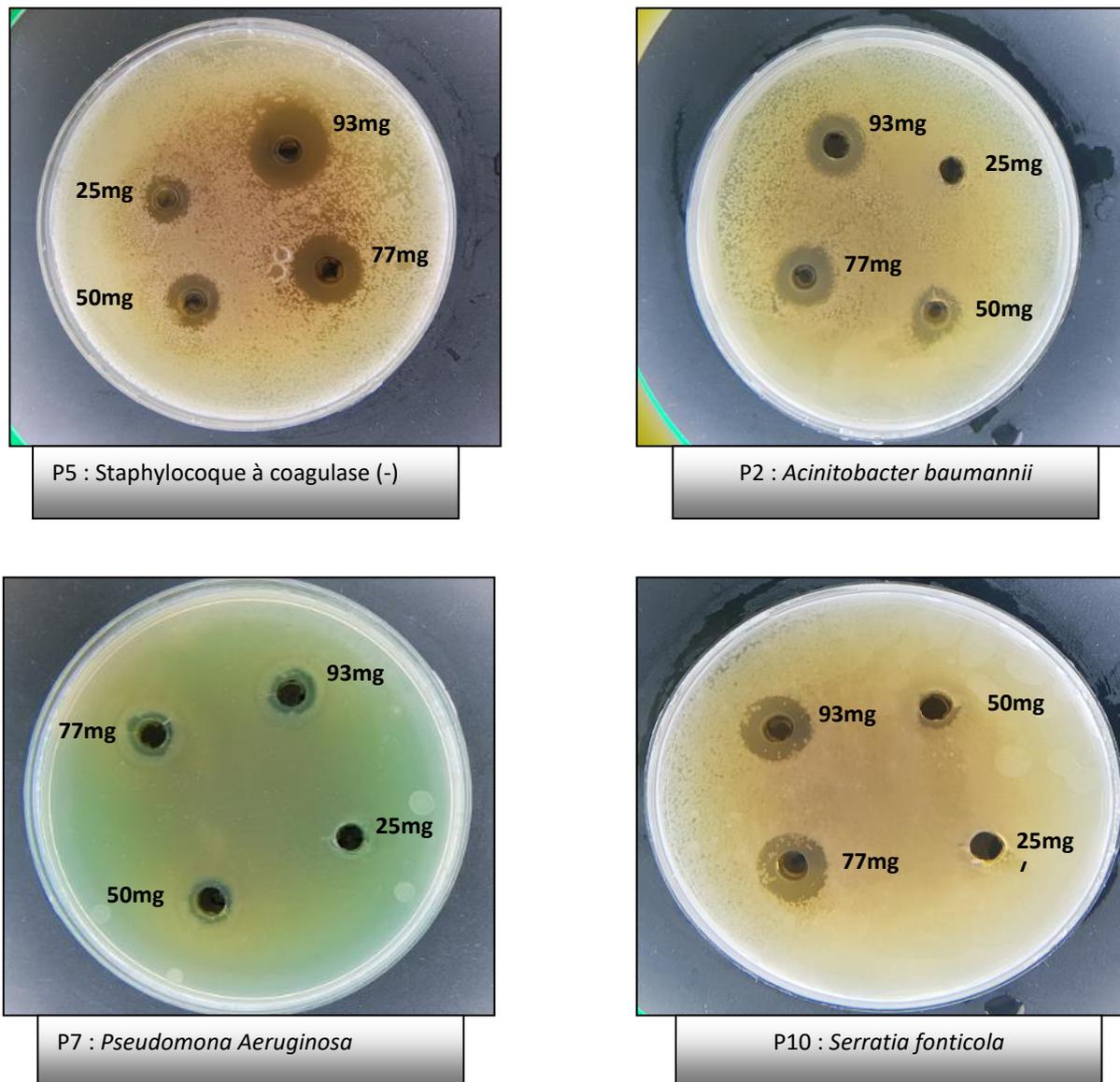


Figure 25 : résultats de l'effet antibactérien de la vitamine C avec méthode des puits

L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (ELA et al, 1996).

Nous remarquons que l'effet antibactérien est proportionnel à la concentration utilisée.

Nous avons sélectionné les souches sur la base de leur résistance à au moins à l'une des familles d'antibiotiques.

Les diamètres pour chaque concentration de vitamine C sont retrouvés dans **Annexe 3**

II.7.2. Fréquence de résistance

Les résultats relatifs à l'activité antibactérienne des différentes concentrations de la vitamine C sur les entérobactéries et staphylocoques sont présentés sur les **tableaux (6) et (7)** :

Tableau 6 : Effet des concentrations croissantes de la vitamine C sur la croissance des Enterobacteries

Bactéries	Concentrations de vitamine C			
	93 mg/ml	77 mg/ml	50 mg/ml	25 mg/ml
<i>Escherichia coli</i>	+ /-	+/-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+++	+++	+	-
<i>Acinitobacter baumannii</i>	+	+	+/-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+++	+++	+	+/-
<i>Serratia fonticola</i>	+++	+++	+	-

Tableau 7 : Effet des concentrations croissantes de la vitamine C sur la croissance des Staphylocoques

Bactéries	Concentrations de vitamine C			
	93 mg/ml	77 mg/ml	50 mg/ml	25 mg/ml
Staphylocoques à coagulase (+)	+	+	-	-
Staphylocoques à coagulase (-)	+++	+++	+	+/-

(+++): Activité élevée

(+): Activité faible

(+/-): Activité très faible

(-): pas d'activité

D'après ces résultats, l'activité antimicrobienne de la vitamine C, testée à quatre concentrations différentes sur les staphylocoques et les entérobactéries isolées, montrent que :

La concentration de 93 mg/ml, présente l'activité antibactérienne la plus importante, vis-à-vis de entérobactéries dont *Acinitobacter baumannii*, *pseudomonas aeruginosa*, *klebsiella pleumoniae* et *Serratia fonticola* avec des diamètres qui varie entre [06 et 25 mm], respectivement.

Pour cette concentration, on compte uniquement une seule souche d'*Escherichia coli* qui soit sensible avec un diamètre de 14mm.

L'inhibition de la croissance des entérobactéries en particuliers *pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* par les différentes concentrations de vitamine C est plus importante par rapport aux staphylocoques testées.

El-Gebaly et al, 2012. Ont montré que la vitamine C avait un effet inhibiteur sur la croissance de *E. coli*, *Klebsiella sp* Et *Pseudomonas sp*. Et que cet effet inhibiteur était cohérent quel que soit le profil de susceptibilité des isolats testés ce qui confirme nos résultats.

Quant aux staphylocoques, on y observe une activité uniquement vis-à-vis des staphylocoques à coagulase (-) ainsi que la sensibilité d'une seule souche de *Staphylococcus aureus*.

Par ailleurs, les résultats ne montrent aucune activité vis-à-vis des *Staphylococcus aureus*, ces derniers ce sont déjà montrés résistant précédemment au test d'antibiogramme et vient donc à supposer qu'une plus forte concentration de vitamine C serait à prévoir. En effet, Ces concentrations restent bien moindre comparées à une étude portant sur 252 personnes âgées de 18 à 32 ans, traitées par 1000 mg de vitamine C toutes les 6 heures pendant 3 jours puis à 3 g/j, a pu montrer une nette relation avec la prévention des symptômes liés aux infections respiratoires comparativement à une population témoin (**GORTON et JARVIS, 1999**).

La concentration de 93 mg/ml est suivie des concentrations 77 et 50 mg/ml avec une activité moins importante mais qui ont tous de même eux un effet sur les souches mentionnée ci-dessous avec des diamètres moins important.

Par contre, une faible activité voir inexistante à été observée pour la concentration de 25 mg/ml vis-à-vis des souches mise à part *Klebsiella pneumoniae* et des staphylocoques à coagulase (-).

Nous avons observé une activité progressive de l'effet de la vitamine C sur l'ensemble des souches à mesure que les concentrations de vitamine C augmentaient progressivement de 25 à 93 mg / ml. Ceci suggère une inhibition de la croissance bactérienne dépendante de la concentration.

Notre observation est similaire à celle **d'Isela en 2013**. Qui a calculé une CMI d'acide ascorbique nécessaire pour inhiber la croissance microbienne à 10 mg / ml. Ils ont également observé une réduction du nombre de cellules bactériennes pouvant atteindre 90% à 20 mg / ml de vitamine C, par rapport aux témoins.

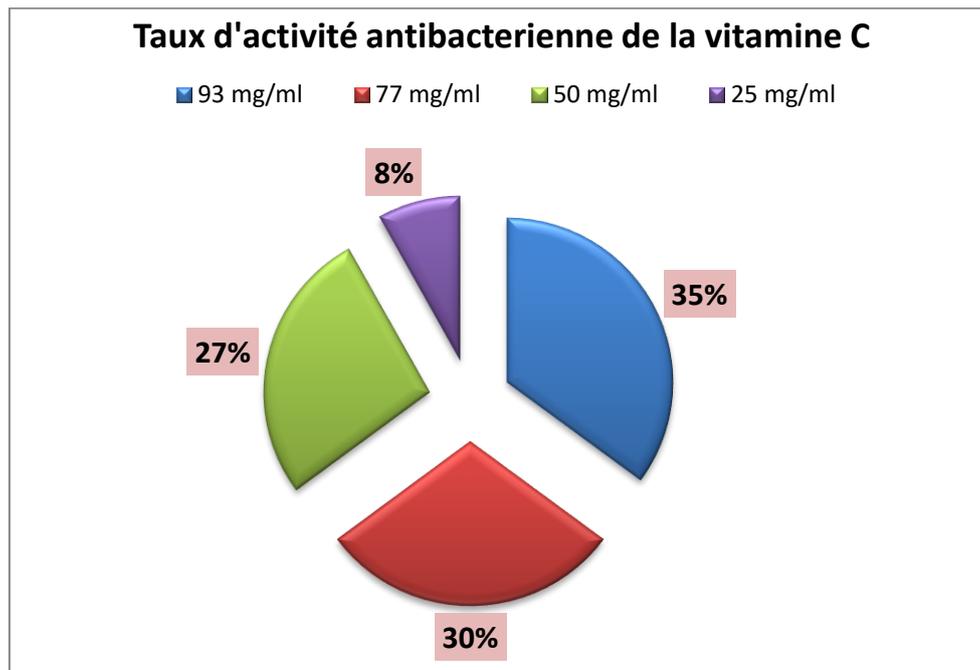


Figure 26: Taux d'activité antimicrobienne des différentes concentrations de vitamine C

Ces résultats prouvent que l'inhibition de la croissance bactérienne des souches isolées était dépendant des différentes doses de la vitamine C (**Figure 26**). Ainsi qu'une forte activité inhibitrice de vitamine C est obtenue pour 93 mg/ml.

En 2010, l'équipe de Sulaiman a essayé de déterminer les effets de la prise de Vitamine C associée au traitement parodontal non chirurgical, les patients atteints de parodontite chronique ont reçu en plus une dose journalière de 2g de vitamine C par jour pendant 4 semaines. A la réévaluation tous les patients atteints de parodontite chronique ont eu une amélioration significative des paramètres cliniques (**Abou et al, 2010**).

Ces résultats sont similaires à 2 études plus anciennes, l'équipe de Vogel en 1986 n'avait pas trouvé qu'une supplémentation en vitamine C (1,5g/jour) avait un impact sur des modèles expérimentaux des ulcérations buccals. Et l'équipe d'Hui-Min Zhang qui montre qu'aux concentrations de 2048, 512 et 128 mg / mL (inhibiteur minimal) la vitamine C pourrait inhiber la croissance de 90% des bactéries (**Ogel et al, 1986 ; Zhang et al, 1997**).

Une augmentation supplémentaire de la concentration pourrait augmenter significativement l'effet inhibiteur. Cependant, pour prouver cet effet de seuil, il est nécessaire de mener des études sur des échantillons de plus grande taille en étudiant les effets de la vitamine C sur une plage de concentrations plus large.

II.7.3. Test des spots

Tous comme pour les staphylocoques et les entérobactéries, les résultats issues de cette méthode ont montré une réelle activité vis-à-vis à presque toutes les souches.

Comparé à la précédente technique, la méthode des spots ou des microgouttes se trouve être plus efficace et plus rapide face aux souches résistantes.

En effet une concentration de vitamine C diffuse et mélangé avec le milieu agit bien mieux que lorsque celle-ci est déposée dans des puits. Son effet serait donc limité.

Tous comme pour les deux méthodes utilisées celles-ci mettent en évidence une réelle activité antibactérienne de la vitamine C sur les bactéries résistante déjà testé au préalable.

Le test des microgouttes (ou spots) à montré les résultats ci-dessous (**Figure 27**) :

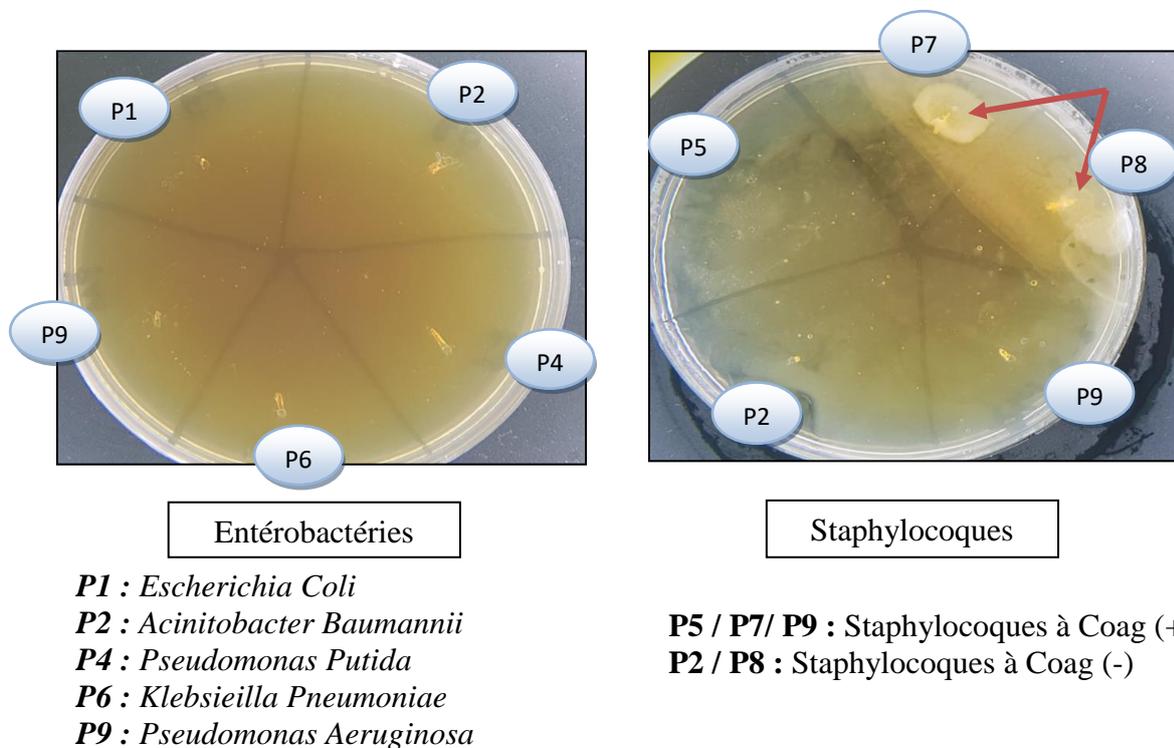


Figure 27 : Résultats du test des spots

Sur la totalité des souches soumises au test, on compte uniquement deux souches résistance à la concentration de 93mg/ml de vitamine C dont une souche de *Staphylococcus aureus* et de staphylocoque à coagulas (-) issus respectivement des prélèvements P6 et P7. On n'y observe aucune multiplication pour le reste des souches testées.

Ceci concorde une fois de plus avec les résultats précédents mettant en évidence une forte résistance des *Staphylocoques dorés*.

Une étude vient confirmer ces faits montrant que *Staphylococcus aureus* a un fort pouvoir adaptatif et a développé différents mécanismes de résistance aux antistaphylococciques en particuliers ceux d'origine hospitaliers, et plus récemment communautaires (**Dumitrescu et al, 2010**).

Gupta GC et Guha BC, 1941. Ont démontré un effet inhibiteur de la vitamine C sur *Staphylococcus aureus* et à une concentration de 150 mg/ml.

Quant à Isela SN et al. Ont étudié l'effet de la vitamine C sur des bactéries buccales telles que *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*.

Ils ont observé une chute de la concentration pour toutes les solutions bactériennes, avec un effet maximal à 20 mg / mL de vitamine C. Ils ont également observé une réduction du nombre bactérie jusqu'à 90% à 20 mg / mL de vitamine C (**Isela et al, 2013**).

Une étude vient confirmer l'utilisation thérapeutique dont la vitamine C pourrait disposer ou les médecins ont commencé à s'intéresser au traitement des infections par des antioxydants contenant des compléments alimentaires, tels que la vitamine C (acide ascorbique) uniquement ou en association avec des antibiotiques.

En effet, des études menées par **El-Gebaly E et al, 2012** Et **Biswas S et al, 2013**. Ont démontré une activité synergique entre la vitamine C et des antibiotiques tels que azithromycine et lévofloxacine, respectivement. Cette synergie est due à l'action attribuée à la présence d'antioxydants, de flavonoïdes phénoliques dans la vitamine C.

El-Gebaly E et al. Ont également démontré que la formation de biofilm bactérien pouvait inhiber par la vitamine C à la surface de cathéters urétraux.

De ce fait, diverses explications de l'effet inhibiteur de la vitamine C ont été proposées. Un changement structurel chez les bactéries peut en être la cause. L'effet inhibiteur de la vitamine C sur les biofilms bactériens peut être dû à son activité de détection anti-quorum (**Novak et al, 2004**).

D'autres explications incluent la présence d'antioxydants, de flavonoïdes et de composés phénoliques dans la vitamine C (**Biswas et al, 2013**), ou à sa capacité d'abaisser le pH.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le phénomène de résistance des organismes microbiens face aux traitements qui ont été développés prend rapidement de l'ampleur et vient nous rappeler que la lutte contre les maladies infectieuses n'est pas terminée. La situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier, où les staphylocoques et certains bacilles à Gram négatif, parmi les entérobactéries, *Pseudomonas* et *Acinetobacter*, sont souvent responsables d'infections dues à des souches multirésistantes. La pression de sélection exercée par l'utilisation importante de l'antibiothérapie et la diffusion épidémique des souches résistantes sont les deux facteurs principaux conditionnant cette évolution (Pechère et al, 1995 ; Wise et al, 1998).

Les données antérieures qui ont été soumises le long de cette étude avaient montré que la vitamine C était un de ces adjuvants prometteurs.

Les prélèvements se sont avérés particulièrement polymicrobiens avec au moins 2 souches isolées d'un même prélèvement dont *Pseudomonas aeruginosa* et *putida*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter Baumannii* ainsi que des staphylocoques à coagulase positif et négatif.

L'analyse de la sensibilité vis-à-vis aux antibiotiques a révélé une résistance de la part de la majorité des souches isolées des 11 prélèvements en particuliers *Acinetobacter baumannii* et les staphylocoques à coagulase (+).

De ce fait nous avons montré que la vitamine C exerçait sur les souches isolées un effet inhibiteur dépendant de la concentration, qui est notamment indépendant du profil de sensibilité aux antimicrobiens. Des études bien conçues permettent d'explorer plus avant la possibilité d'utiliser la vitamine C en tant qu'agent antimicrobien sûr et efficace, contribuant ainsi à la lutte contre la résistance croissante aux antimicrobiens.

En effet, il est urgent d'explorer différentes stratégies potentielles qui pourraient mener à la découverte de nouvelles substances naturelles qui puisse être. En ce sens, l'étude de l'effet antibactérien de la vitamine C constitue une stratégie intéressante puisque cette source a jusqu'à maintenant été peu exploitée et ce, malgré l'intensive utilisation de la vitamine C pour son effet antioxydant ou encore pour traiter les infections en médecine traditionnelle de nombreuses régions du monde

La capacité de l'acide ascorbique à inhiber la croissance bactérienne pourrait trouver de nouvelles applications cliniques. La vitamine C peut trouver une utilisation potentielle dans les applications antibactériennes. Il est nécessaire d'explorer plus avant la possibilité d'utiliser la vitamine C en toute sécurité en tant qu'agent antimicrobien efficace.

En raison de sa composition chimique, son pH acide et ses propriétés physicochimiques et biologiques, surtout pour son pouvoir antioxydant, la vitamine C peut être une source primordiale pour produire de futurs remèdes naturels contre différents micro-organismes et suggère son utilisation à l'avenir comme un agent antimicrobien dans le traitement de divers maladies bactériennes et infections.

En perspective, la vitamine C peut peut-être être utilisée dans un proche avenir en tant qu'agent antibactérien topique ou solution antibactérienne en guise de pansement pour les plaies infectées. Des études complémentaires sont nécessaires pour déterminer la gamme de bactéries pouvant être inhibées par la vitamine C, la CMI et la posologie, ainsi que le spectre des infections pour lesquelles la vitamine C peut être un agent antimicrobien efficace.

Des études complémentaires doivent être menées pour déterminer la meilleure concentration de vitamine C nécessaire à son activité inhibitrice. De plus, il faut déterminer si ces concentrations peuvent être atteintes et maintenues *in vivo* en réalisant un suivi d'une thérapie purement à base de vitamine C à des doses journalières. Stein HB et al, Observait la vitamine C à une dose de 8 g / jour par voie orale chez des volontaires (**Stein et al, 1976**).

Quelques rapports de cas suggèrent que un apport inhabituellement élevé en vitamine C, en particulier lorsqu'il est administré par voie intraveineuse, peut être associé au développement d'oxalate calculs rénaux (**Curhan et al, 1996**). Cependant, Creagan ET et al. Ont observé que la vitamine C à des doses allant jusqu'à 10 g / jour par voie orale peut être donnée dans la plupart des cas aux patients sans toxicité (**Creagan et al, 1979**). Une étude prospective n'a pu trouver aucune association entre un apport quotidien élevé en vitamine C et le risque de toxicité (**Hathcock, 1997**).

Cependant, de nouvelles études de mortalité sont nécessaires à différentes concentrations pour déterminer l'activité bactériostatique, bactéricide pour comprendre le rôle de la vitamine C en tant que substance antibactérienne, seule ou conjointement associée avec d'autres antibiotiques.

Références bibliographique

Références bibliographique

- **Abou Sulaiman, Ali E., and Rana M. H. Shehadeh. (2010).** Assessment of Total Antioxidant Capacity and the Use of Vitamin C in the Treatment of Non-Smokers with Chronic Periodontitis.” *Journal of Periodontology* 81, no. 11 : 1547–54.
- **ADETONA N., KRAMARENKO W., MCGAVIN CR. (1994).** Retinal changes in scurvy. *Eye.*, 8,709-710.
- **Adjidé C.C., Biendob M., Rousseaub F., Hamdad-Daoudib F., Thomasb D., Lauransb G et al ., (2009).** *Escherichia coli* producteurs de bêta lactamases à spectre tendu : de nouvelles menaces nosocomiales. *Pathologie Biologie*; 54 :510–517.
- **Agence Nationale de Sécurité du Médicaments (2004).** (ANSM, anciennement AFSSAPS): Usage de l'antibiothérapie locale, recommandations de bonnes pratiques.
- **ALFANDARI S, (1997).** Infections nosocomiales. Epidémiologie, critères du diagnostic, prévention et principe du traitement. Impact internat : Maladies infectieuses. N°4 : 161-168.
- **Amazian K., Rossello,J., Castella,A., Sekkat,S., Terzaki,S., Dhidah,L. et al. (2010)** Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the Mediterranean region. *East Mediterr Health J* 16: 1070-1078.
- **Amrouni S., Touati M., HadeF Y., et Djahoudi A. (2014).** Effet de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et de *Thymus ciliatus* sur *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 carbapénémase. *Phytothérapie*, 12(5), 309-313.
- **ANSES.** Vitamine C Ou Acide Ascorbique | Anses - Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de L'alimentation, de L'environnement et Du Travail.
- **Anses.** Vitamine C ou acide ascorbique : présentations, sources alimentaires et besoins nutritionnels.
- **Arancibia F, Bauer TT, Ewig S, et al.** Community-acquired pneumonia due to gram-negative bacteria and *Pseudomonas aeruginosa*: incidence, risk, and prognosis, *Arch Intern Med* , 2002, vol. 162 (pg. 1849-58)
- **Associated with infant diarrhea:** epidemiology and pathogenesis. *Epidemiol Rev* 6:31-51.
- **Bao L, Peng R, Ren X, Ma R, Li J et Wang Y. (2013).** Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics. *Pakistan Journal of Medical Sciences.* 29: 135–139.

Références bibliographique

- **BARBUT, F, MASTRANTONIO P, DELMÉE M, BRAZIER J, KUIJPER E, POXTON I.** Prospective study of *Clostridium difficile* infections in Europe with phenotypic and genotypic characterisation of the isolates. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2007, 13 : 1048-1057.
- **BEUCAIRE G.** Infections nosocomiales. Epidémiologie, critères du diagnostic, prévention, principes de traitement. *La revue du praticien* 1997; 47: 201-209 (NosoBase n°3734).
- **Bendig J.W., Kyle P.W., Giangrande P.L., Samson D.M., Azadian B.S.,** Two neutropenic patients with multiple resistant *Pseudomonas aeruginosa* septicaemia treated with ciprofloxacin, *J. Roy. Soc. Med.* 80 (1987) 316–317.
- **Benslimani A., Meieddine C., (2012).** État de la résistance aux antibiotiques, d'autres
- **Berche P, Gallard J. L, Simonnet M.** les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. *Bactériologie des infections humaines de la biologie à la clinique.* Paris : Flammarion, 1991 : 64-71.
- **Bergogne-Berezin E, Joly-Guillou ML, and Towner KJ,** *Acinetobacter: microbiology, epidemiology, infections management.* . New York: CRC Press, 1996.
- **Bernard, Marc.** Les Nouveaux Visages Du Scorbut En 2010 : Etude Rétrospective Du Statut En Vitamine C de Patients Hospitalisés Dans Les Services de Post-Urgences Médicales de L'hôpital Purpan Durant L'année 2010." Thèse Toulouse 3, 2011.
- **Bernard, Marc.** "Les Nouveaux Visages Du Scorbut En 2010 : Etude Rétrospective Du Statut En Vitamine C de Patients Hospitalisés Dans Les Services de Post-Urgences Médicales de L'hôpital Purpan Durant L'année 2010." Thèse Toulouse 3, 2011.
- **Berthelot P., Grattard F., Mallaval F.O., Ros A., Lucht F., Pozzetto B., (2005).** Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie Biologie* 53: 341-348.
- **Berthelot. PH et Lucht F.** Investigation d'épidémie d'infection nosocomiale, les différents types d'enquête épidémiologique et leur méthodologie d'analyse. *Med Mal Inf.*, 1998 ; 28 : 469-73.
- **Bio Merieux S.A. 2002.** API 20 E Système d'identification des entérobactéries France
- **Biswas S, Thomas N, Mandal A, Mullick A, Chandra D, Mukherjee S, et al. (2013).** In vitro analysis of antibacterial activity of vitamin c alone and in combination with antibiotics on gram positive rod isolated from soil of a dumping site of Kolkata. *Int J Pharm Biol Sci.* ;3(3):101-10.

Références bibliographique

- **Biswas S, Thomas N, Mandal A, Mullick A, Chandra D, Mukherjee S, et al.** *In vitro* analysis of antibacterial activity of Vitamin C alone and in combination with antibiotics on Gram positive rod isolated from soil of a dumping site of Kolkata. *Int J Pharm Biol Sci* 2013;3:101-10.
- **Bousseboua H., 2002.** Techniques d'étude des bactéries. Dans *Microbiologie générale*.
- **Bowler PG, Duerden B, Armstrong DG.** Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clinical Microbiol Rev.* 2001;14(2):244-69
- **Bruner, D. W. (1933).** Differentiation between Gram-positive and Gram-negative Microorganisms by the use of Enzymes. *Journal of bacteriology*, 26(4), 361.
- **Bryskier A.** Relation activité-structure des agents antibactériens. *Antibiotiques* 2006;8:136-46
- **Bssaibis F., Gmira N. et Meziane M.,** Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, 3 (1), (2009), 44-45.
- **Buettner, Garry & Q Schafer, Freya. (2006).** Albert Szent-Györgyi: Vitamin C identification. *Biochemical Journal - BIOCHEM J.* 400. 10.1042/BJ2006c005.
- **Butler, D. A., Lobregat, C. M., & Gavan, T. L. (1975).** Reproducibility of the analytab (API 20E) system. *Journal of clinical microbiology*, 2(4), 322-326.
- **Byrne AH, et al.,** *Serratia marcescens* causing hospital-acquired lower respiratory tract infection. *J Hosp Infect*, 2000. 45: p. 242-51
- **C. Sanchez- Moreno, M. Pilar- Cano, B. de Ancos & al.,** Effect of orange juice intake on vitamin C concentrations and biomarkers of antioxidant status in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2003 ; 78 : 454-60.
- **C.A. 2006.** *Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter* and *Serratia* spp. Principles and practice of Clinical Bacteriology. England, UK: John Wiley and Sons Ltd. 2nd ed: 377- 386.
- **C.CLIN PARIS NORD.** Guide de définitions des infections nosocomiales. C.CLIN Paris-Nord, Paris, 1995.
- **C.R.Mayland, M.I.Bennett, K.Allan :** Vitamin C deficiency in cancer patients. *Palliat Med* January 2005 ; 19: 17-20.
- **Cadness-Graves, B., Williams, R., Harper, G. J., & Miles, A. A. (1943).** Slide-Test for Coagulase-Positive Staphylococci. *Lancet*, 736-8.

Références bibliographique

- **Cameron, E., & Pauling, L. C. (1979).** *Cancer and vitamin C: a discussion of the nature, causes, prevention, and treatment of cancer with special reference to the value of vitamin C.* Linus Pauling Institute of Science and Medicine.
- **Caron, F. (2003).** Physiopathologie des infections urinaires nosocomiales. *Médecine et maladies infectieuses*, 33(9), 438-446.
- **Carr, A., Frei, B., 1999.** Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions. *The FASEB Journal*; 13: 1007-24.
- **Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales Ouest (CCLIN Ouest):** Hygiène des plaies et pansements, 2004,
- **Chambial, S., Dwivedi, S., Shukla, K. K., John, P. J., & Sharma, P. (2013).** Vitamin C in disease prevention and cure: an overview. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*, 28(4), 314-28.
- **Chen MZ, Hsueh PR, Lee LN, Yu CJ, Yang PC, Luh KT.** Severe community-acquired pneumonia due to *Acinetobacter baumannii*, *Chest* , 2001, vol. 120 (pg. 1072-7
- **Cier D., Rimsky Y., Rand N., Polishuk O., GUR N., Shoshan A.B., Frish Y ., MOSHE A.B.** The effects of supplementing ascorbic acid on broilers performance under summer conditions. In : *Proceedings of the 19th World's Poultry Congress*, Amsterdam, Netherlands, 19-24 September 1992. Beekbergen, Netherlands: World's Poultry Science Association, 1992, volume 1, 586-589.
- **Coalson JJ.** The pathology of nosocomial pneumonia. *ClinChest Med* 1995;**16**:13–28.
- **Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (2005)** Communiqué. Numéro spécial SFM et site internet : <http://www.sfm.asso.fr/>
- **Conklin, P. L., Norris, S. R., Wheeler, G. L., Williams, E. H., Smirnoff, N., & Last, R. L. (1999).** Genetic evidence for the role of GDP-mannose in plant ascorbic acid (vitamin C) biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(7), 4198-4203.
- **Corson, P. (1995).** *Notre ange gardien.* Paris: G. Trédaniel.
- **Corson, P. (2014).** *La vitamine C et ses alliés indispensables à la santé.* Paris: Ed. Médicis.
- **Couture B. (1990).** Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris. 15-32.

Références bibliographique

- **Creagan ET, Moertel CG, O'Fallon JR, Schutt AJ, O'Connell MJ, Rubin J, et al.** Failure of high-dose vitamin C (ascorbic acid) therapy to benefit patients with advanced cancer. *N Engl J Med.* 1979;301(13):687-90
- **Crinch C, Maki D.** La promesse d'une nouvelle technologie pour la prévention des infections sanguines liées aux dispositifs intravasculaires, I: la pathogenèse et les dispositifs à court terme. *Clin Infect Dis.* 2002; 34 : 1232-1242.
- **CTINILS.** Actualisation de la définition des infections nosocomiales. Définitions des infections associées aux soins. DHOS/DGS/Ministère de la santé, 2007:11 p.
- **Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ.** A prospective study of the intake of vitamins C and B6 and the risk of kidney stones in men. *J Urol.* 1996;155(6):1847-51.
- **Darouiche R.** Infections associées à un appareil: un macroproblème qui commence par la microadhérence. *Clin Infect Dis.* 2001; 33 : 1567-1572.
- **Dawson EB, Evans DR, Harris WA, Mcganity WJ.** The effect of ascorbic acid supplementation on the nicotine metabolism of smokers. *Prey Med.* 1999, 29,451-454.
- **Demoré B, Grare M, Duval R.** Pharmacie clinique et thérapeutique 4ème édition. Chapitre 40 : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. Elsevier Masson; 2012.
- **Desaulniers M., Dubost, M.** Table de composition des aliments. Volumes 1 et 2. Département de nutrition, Université de Montréal. c2003.
- **Descroix V.** Antibiotiques en médecine buccale. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Médecine buccale, 28-190-U-10, 2010
- **Dhariwal KR., Hartzell WO., Ievine M.** Ascorbic acid and dehydroascorbic acid measurements in human plasma and serum. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991, 54,712-716.
- **Donlan RM, Costerton JW. (2002).** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews.*15: 167- 193.
- **DOUARRE C.** Quelques données actuelles sur la vitamine C. Thèse Pharma Clermont. 1987.
- **Douarre C.** Quelques données actuelles sur la vitamine C. Thèse Pharma Clermont. 1987,
- **Duconge J, Miranda-Massari JR, Gonzalez MJ, Jackson JA, Warnock W, Riordan NH.** Pharmacokinetics of vitamin C: insights into the oral and intravenous administration of ascorbate. *P R Health Sci J.* mar 2008;27(1):7-19.

Références bibliographique

- **Ducret-Costa, R. (2019).** La vitamine immunostimulante par excellence. [online] Vitamag. Available at: <http://www.vitamag.ch/fr/article/la-vitamine-immunostimulante-par-excellence-0> [Accessed 20 Apr. 2019].
- **Duffy SJ, Gokce N, Holbrook M, et al.** Treatment of hypertension with ascorbic acid. *Lancet* 1999;354:2048–9.
- **Dumitrescu, O., Dauwalder, O., Boisset, S., Reverdy, M., Tristan, A., & Vandenesch, F. (2010).** Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. *Médecine/Sciences*, 26(11), 943-949. doi: 10.1051/medsci/20102611943.
- **Dumitrescu, O., Dauwalder, O., Boisset, S., Reverdy, M., Tristan, A., & Vandenesch, F. (2010).** Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. *Médecine/Sciences*, 26(11), 943-949. doi: 10.1051/medsci/20102611943
- **Dunn, W. A., G. Rettura, E. Seifter, and S. Englard.** Carnitine Biosynthesis from Gamma- Butyrobetaine and from Exogenous Protein-Bound 6-N-Trimethyl-L-Lysine by the Perfused Guinea Pig Liver. Effect of Ascorbate Deficiency on the in Situ Activity of Gamma- Butyrobetaine Hydroxylase.” *Journal of Biological Chemistry* 259, no. 17 (September 10,1984): 10764–70.
- **E. Magiorkinis, A.Beloukas, A. Diamantis,** Scurvy : Past, present and future. Review article. *European Journal of Internal Medicine* 2011 ; 22 : 147-152.
- **Ebongue, C. O., Tsiazok, M. D., Mefo'o, J. P., Ngaba, G. P., Beyiha, G., & Adiogo, D. (2015).** Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012 [Evolution of antibiotic resistance of Enterobacteriaceae isolated at the Douala General Hospital from 2005 to 2012]. *The Pan African medical journal*, 20, 227.
- **Ed** de l'université Mentouri, Constantine (Algérie), 145-157.
- **Edgar P, et al.,** *Containment of a multiresistant Serratia marcescens outbreak.* *Burns*, 1997. 23: p. 15-18
- **Ehrenkranz J, et al.,** *Antibiotic sensitive Serratia marcescens infections complicating cardiopulmonary operations: contaminated disinfectant as a reservoir.* *The Lancet Infectious Diseases*, 1980. 316: p. 1289-92.
- **Ela M.A., El-Shaer N.S. et Ghanem N.B. (1996)** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and tixed olls. *Pharmazie*; 51 pp.993- 995.

Références bibliographique

- **El-Gebaly E, Essam T, Hashem S, El-Baky R.** Effect of levofloxacin and Vitamin C on bacterial adherence and preformed biofilm on urethral catheter surfaces. *J Microb Biochem Technol* 2012;4:131-6
- **El-Gebaly E, Essam T, Hashem S, El-Baky R.** Effect of levofloxacin and Vitamin C on bacterial adherence and preformed biofilm on urethral catheter surfaces. *J Microb Biochem Technol* 2012;4:131-6
- **Élodie Fauga.** Prise en charge ambulatoire d'ulcères de jambe infectés : revue de la littérature, évaluation de pratiques professionnelles et perspectives. *Médecine humaine et pathologie.* 2014. dumas-00976727.
- **Engelhart MJ, Geerlings MI, Ruitenberg A, et al.** Dietary intake of antioxidants and risk of Alzheimer disease. *JAMA* 2002;287:3223–9.
- **Engiard S., Seifter S.** The biochemical functions of ascorbic acid. *Ann. Rev. Nutr.* 1986, 6, 365-406
- **Eriksson, G., A.E. Eklund, and L.O. Kallings,** *The clinical significance of bacterial growth in venous leg ulcers.* *Scand J Infect Dis,* 1984. **16**(2): p. 175-80.
- **Ernestina Marianna De Francesco, Gloria Bonuccelli, Marcello Maggiolini, Federica Sotgia, Michael P. Lisanti.** **Vitamin C and Doxycycline: A synthetic lethal combination therapy targeting metabolic flexibility in cancer stem cells (CSCs).** *Oncotarget,* 2015; DOI: [10.18632/oncotarget.18428](https://doi.org/10.18632/oncotarget.18428)
- espèces bactériennes et surveillance des bactéries multirésistantes (BMR) : SARM, entérobactéries BLSE, *Acinetobacter sp,* *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas*
- **EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL:** Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2008. Stockholm: ECDC, 2008.
- **Fain O. (2004).** Carences en vitamine C. *Rev Médecine Interne.* 25(12) :872–80.
- **Farmer, J.J., Boatwright, K.D., and Janda, J.M. 2007.** Enterobacteriaceae: Introduction and identification. *Manual of Clinical microbiology.* Washington, DC, USA: ASM press. 9th ed: 649-669.
- **Fauchere J.L. and Avril J.L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ellipses Paris. 213- 217.
- **Finch, R. G. (1998).** Antibiotic resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 42(2): 125-128.
- **Flandrois JP. and Chomart M. (1988).** L'examen bactériologique des suppuration. In *Bactériologie Médicale Pratique Medci/Mc Grow.* Paris.

Références bibliographique

- **Fraser S.L, Arnett M.et Sinave C.P. 2010.** *Enterobacter* Infections. Contributor Information and Disclosures. *emedicine infectious diseases*. Editor, Cunha, B. A., State university of New York School of Medicine at Stony Brook . <http://www.medscape.com>.
- **Frei, B., Birlouez-Aragon, I., & Lykkesfeldt, J. (2012).** Authors' perspective: What is the optimum intake of vitamin C in humans?. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(9), 815-829.
- **Furuya A, Uozaki M, Yamasaki H, Arakawa T, Arita M, Koyama AH (2008)** Antiviral effects of ascorbic and dehydroascorbic acids in vitro. *Int J Mol Med*. 22:541-545.
- **Gagnon, M., W. Hunting, and W. B. Esselen. 1959.** A new method for catalase determination. *Anal. Chem.*31:144.
- **Ge M, O'Reilly A, Baillie N, Twentyman G, Sturt J, Fitzpatrick M, et al.** Vitamin C: Evidence, application and commentary. *N Z Fam Physician* 2008;35:312-8.
- **Georges DOLISI. 2001.** Galerie API. HAGUENAU, France
- **GHIASSI Parinaz** – Prévention du risque infectieux en EHPAD - Mémoire pour le DIU de Médecin coordonnateur d'EHPAD Année 2005- Université Paris V Faculté Cochin-Port-Royal page 7.
- **Gieler, U. and E. Vogt,** *Development of bacterial flora in leg ulcer.* *Z Hautkr*, 1984. 59(7): p. 435-42.
- **GORTON HC, JARVIS K.** The effectiveness of vitamin C in preventing and relieving the symptoms of virus-induced respiratory infections. *J Manipulative Physiol Ther.* 1999, 22, 530-533.
- **Green S.K., Schroth M.N., Cho J.J., Kominos S.K., Vitanza-Jack V.B.,** Agricultural plants and soil as a reservoir for *Pseudomonas aeruginosa*, *Appl. Microbiol.* 28 (1974) 987–991.
- **Guembe M, Cercenado E, Alcalá L, Marín M, Insa R, Bouza E.** Evolution of antimicrobial susceptibility patterns of aerobic and facultative gram-negative bacilli causing intra-abdominal infections: results from the SMART studies 2003-2007. *Revista Espanolade Quimioterapia.* 2008;21(3):166–73.
- **Guembe M, Cercenado E, Alcalá L, Marín M, Insa R, Bouza E.** Evolution of antimicrobial susceptibility patterns of aerobic and facultative gram-negative bacilli

Références bibliographique

causing intra-abdominal infections: results from the SMART studies 2003-2007. *Revista Espanolade Quimioterapia*. 2008;21(3):166–73.

- **Gueye O. (2007)**. Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles a Gram négatif. Thèse doctorat. Université cheikh Anta Diop de Daka. 120p.
- **Guide Technique d'Hygiène Hospitalière.**, Lyon : C.CLIN Sud-Est , 2004.
- **Gupta G, Guha B.** The effect of Vitamin C and certain other substances on the growth of microorganisms. *Ann Biochem Exp Med* 1941;1:14-26.
- **Halbert, A.R., et al.,** *The effect of bacterial colonization on venous ulcer healing.* *Australas J Dermatol*, 1992. **33**(2): p. 75-80.
- **Haley RW.** Extracharges and prolongation of state attributable to nosocomial infection: a prospective inter-hospital comparaison. *Am J Med.* 1981;70:51–58.
- **Hashemi SH, Esna-Ashari F, Tavakoli S, Mamani M.** The prevalence of antibiotic Resistance of Enterobacteriaceae strains isolated in community and Hospital acquired in infections in teaching hospital of Hamadan, west of Iran. *Journal of research in Health Sciences.* 2013;13(1):75–80
- **Hashemi SH, Esna-Ashari F, Tavakoli S, Mamani M.** The prevalence of antibiotic Resistance of Enterobacteriaceae strains isolated in community and Hospital acquired in infections in teaching hospital of Hamadan, west of Iran. *Journal of research in Health Sciences.* 2013;13(1):75–80.
- **Hathcock JN.** Vitamins and minerals: efficacy and safety. *Am J Clin Nutr.* 1997;66(2):427-37.
- **Haute Autorité de Santé.** Recommandations pour la prise en charge de l'ulcère veineux en dehors des pansements. Recommandations de bonnes pratiques, Juin 2006
- **Heilmann C, Thumm G, Chhatwal GS, Hartleib J, Uekotter A and Peters G, (2003)**. Identification and characterization of a novel autolysin (Aae) with adhesive properties from *Staphylococcus epidermidis*. *Microbiology.* Vol: 149(10): 2769-2778.
- **Hejazi A, Aucken HM, and Falkiner FR,** *Epidemiology and susceptibility of Serratia marcescens in a large general hospital over 8-year period.* *J Hosp Infect,* 2000. 45: p. 42-6
- **Hemila H, Douglas RM.** Vitamin C and acute respiratory infections. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1999, 3,756-761.

Références bibliographique

- **Henri, D and Jean, L.C. (1992).** Alimentation et nutrition humaine. ESF éditeur, p:1533
- **Hervé Jacquier.** Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques - Conférence internat - Paris Luxembourg. 2011.
- **Hickey S, Saul AW (2008)** La vitamine C: La vraie histoire, le facteur de guérison remarquable et controversé. ISBN-13: 9781591202233
- **Hickey S., Roberts, H. and Saul, A. (2014).** *The Vitamin Cure for Heart Disease.* Basic Health Publications.
- **Hirschmann J.V., Raugi G.J., Adult Scurvy., J AAcadDermatol.(1999).**41(6):895–910.
- **Hooton TM, Bradley SF, Cardenas DD, Colgan R, Geerlings SE, Rice JC, et al.** Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2010;50:625-63
- **Hossu, AM., Radulescu, C., Lonita, L., Moat, EI.** Méthode spectrophotométriques et chromatographiques pour la détermination de la vitamine C. Scientific study & research. 2006, vol VII (1), pp 1582-540x.
- **Hsueh P.R., Teng L.J., Yang P.C., Chen Y.C., Ho S.W., Luh K.T.,** Persistence of a multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone in an intensive care burn unit, J. Clin. Microbiol. 36 (1998) 1347–1351.
- **Hugonnet, S., & Pittet, D. (2000).** Infections nosocomiales: realite et impact. *Médecine et hygiène*, 954-958.
- **Inan A, Ozgultekin A, Akcay SS, Engin DO, Turan G, Ceran N, Dincer E, Aksaray S, Goktas P, Erdem I.** Alterations in Bacterial Spectrum and Increasing Resistance Rates in Isolated Microorganisms from Device-Associated Infections in an Intensive Care Unit of a Teaching Hospital in Istanbul (2004–2010) Japanese Journal of Infectious Diseases. 2012;65:146–5.
- **Isela S, Sergio N, Jose M, Rene H, Claudio C.** Ascorbic acid on oral microbial growth and biofilm formation. Pharma Innovation 2013;2:104-9
- **J. Koolman, K.-H, Rohm ; Biochimie.** Flammarion Paris, 2006.
- **Jacques, F. Paul, Sulsky, Sandra, I., Perrone, Gayle, E., Jenner, Jennifer, Schaefer, Ernst, J., 1995.** Effet de la supplémentation en vitamine C sur le cholestérol de lipoprotéines, apolipo protéines, et de triglycérides concentrations".

Références bibliographique

Annals of Epidemiology 5 (1): 52-9. Doi : 10.1016/1047-2797 (94) 00041-Q. PMID 7728285.

- **Jere Boyer.** A Recent History of Antibiotics And Where We May Be Going. 2013
- **Joffin J.N., Leyral G., 2005.** Microbiologie Technique. Tome 1 Dictionnaire des techniques. Académie de bordeaux et crdp d'Aquitaine, 171-189.
- **Johnston C Thompson L (1998).** Vitamin C Status of an Outpatient Population. J Am Coll Nutr. Aug. 17(4):66–70.
- **Joly B. et Reynaud A. 2007.** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris. p 3-182.
- **Kahlmeter G (2003)** An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO-SENS Project. J Antimicrob Chemother 51: 69-76
- **Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004).** Pathogenic escherichia coli. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 123.
- **Khaw KT, Bingham S, Welch A.** Relation between plasma ascorbic acid and mortality in men and women in EPIC-Norfolk prospective study: a prospective population study. *Lancet* 2001;357:657–63.
- **Kielhofner M., Atmar R.L., Hamill R.J., Musher D.M.,** Life-threatening *Pseudomonas aeruginosa* infections in patients with human immunodeficiency virus infection, *Clin. Infect. Dis.* 14 (1992) 403–411
- **Kim Y., Kim, H., Bae, S., Choi, J., Lim, S. Y., Lee, N., ... Lee, W. J. (2013).** Vitamin C Is an Essential Factor on the Anti-viral Immune Responses through the Production of Interferon- α/β at the Initial Stage of Influenza A Virus (H3N2) Infection. *Immune network*, 13(2), 70–74. doi:10.4110/in.2013.13.2.70
- **Kollef MH.** Prevention of hospital-associated pneumonia and ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med* 2004;32:1396-405.
- **Kollef MH.** Ventilator-associated pneumonia. A multivariate analysis. *JAMA* 1993;270:1965–1970.
- **Kontinen, S. and E. Rinne,** *Bacteria in ulcera crurum.* Acta Derm Venereol, 1988. 68(3): p. 240-4.
- **Kurl S, Tuomainen TP, Laukkanen JA, et al.** Plasma vitamin C modifies the association between hypertension and risk of stroke. *Stroke* 2002;33:1568–73.
- **Laïbi and S. Laïbi,** Vitamine c liposomale et cancer, Fiat-Lux ´editions, 2014, P-40.

Références bibliographique

- **Lamden MP.** Dangers of massive vitamin C intake. *New Engl J Med.* 1971, 284, 336-337.
- **Larbier M., Leclercq B.** Nutrition et alimentation des volailles. Paris, France : ESTEM, 1992. 352.
- **Latshaw J.D.** Nutrition - mechanisms of immunosuppression. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1991, **30** : 1, 111-120.
- **LE Grusse J, Waltter B.** Les vitamines: données biochimiques, nutritionnelles et cliniques. Editions C.E.I.V. 1985.
- **LE Müel G, Saverot-Dauvergne A, Gausson T, Gueant J.L.** (coordonnateurs) Le statut vitaminique: physiopathologie, exploration biologique et intérêt clinique. Éditions Médicales Internationales, mars 1998.
- **Léone, M., Arnaud, S., Boisson, C., Blanc-Bimar, M. C., & Martin, C. (2000).** Infections urinaires nosocomiales sur sonde en réanimation: physiopathologie, épidémiologie et prophylaxie. In *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation* (Vol. 19, No. 1, pp. 23-34). Elsevier Masson.
- **Levine, M. M., and R. Edelman.** 1984. Enteropathogenic *Escherichia coli* of classic serotypes
- **Levy SB, Marshall B:** Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat Med.*2004, 10 : 122-129. 10.1038/nml 145.
- **Levy T. (2002).** *Vitamin C, infectious diseases, and toxins.* Livon Books, Philadelphia, Pa: Xlibris.
- **Liesse Iyamba J M. (2012).** Etude de l'interaction des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* avec une surface abiotique. Thèse de doctorat : Université libre de Bruxel, Faculté de Pharmacie, Ecole Doctorale en Sciences Pharmaceutiques. 226p.
- **Lindblad M, Tveden-Nyborg P, Lykkesfeldt J.** Regulation of vitamin C homeostasis during deficiency. *Nutrients.* 2013 ; 5(8) : 2860 2879.
- **Linster CL, Van Schaftingen E.** Vitamine C. Biosynthèse, recyclage et dégradation chez les mammifères. *FEBS J.* 2007; 274 : 1–22.
- **Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yilx, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu LF, Gu D, Ren H, Chen X, Ly L, He D, Zhou H, Liang Z, Liu JH, Shen J (2016)** ; Emergence of plasmidmediated colistin resistance mechanism mcr-1 in animals and human beings in China : a microbiological and biological study ; *Lancet infectious Diseases*, (16) : 161-168.

Références bibliographique

- **M. Bernard**, Les nouveaux visages du scorbut en 2010: étude rétrospective du statut en vitamine c de patients hospitalisés dans les services de post-urgences médicales de l'hôpital purpan durant l'année 2010, 2011.
- **Marchitti, S. A., Chen, Y., Thompson, D. C., & Vasiliou, V. (2011)**. Ultraviolet radiation: cellular antioxidant response and the role of ocular aldehyde dehydrogenase enzymes. *Eye & contact lens*, 37(4), 206.
- **Mark Levine, Steven C. Rumsey, Rushad Daruwala & al.**, Criteria and recommendations for Vitamin C intake. *JAMA*. 1999 ; 295(15) : 1415- 1423.
- **Mark Levine, Steven C. Rumsey, Rushad Daruwala & al.**, Criteria and recommendations for Vitamin C intake. *JAMA*. 1999 ; 295(15) : 1415- 1423.
- **Martini M-C et Seiller M. 2006**. Actifs et additifs en cosmétologie. Éditions Tec & Doc, Éditions médicales internationales, Paris : Cachan, 1051 p. p.
- **Merah Mostefa (2011)**. Contribution a l'Etude qualitative de Quelques Groupes de Bacteries Isolées du Bloc Operatoire de l'Etablissement Public Mohamed Boudiaf de Ouargla : Profil et Sensibilite aux Antibiotiques. *Annales de la Faculté des Sciences, Sciences de l'Ingénieur*. Vol. 1 N° 4/2009.
- **Mermel LA, Allon M, Bouza E, et al.** Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;49(1):1-45.
- **Mesaros N., Nordmann P., Plésiat P., Roussel-Delvallez M., Van Eldere J., Glupczynski Y., ... Van Bambeke, F. (2007)**. *Pseudomonas aeruginosa*: résistance et options thérapeutiques à l'aube du deuxième millénaire. *Antibiotiques*, 9(3), 189-198.
- **Mosdol, B.Erens, E.Brunner** : Estimated prevalence and predictors of vitamin C deficiency within UK's low-income population. *Journal of Public Health*. 2008 ; vol 30 (4) : 456-460.
- **Munnich A, Ogier H, Saudubray J-M et Amédée-Manesme O. 1987**. Les Vitamines : aspects métaboliques, génétiques, nutritionnels et thérapeutiques. Masson, Paris, 428 p. p.
- **Naidu K.A. (2003)**. Vitamin C in human health and disease is still a mystery .An overview. *Nutr. J.* 21: 2-7.
- **Naidu KA**. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutr J* 2003;2:7.

Références bibliographique

- **Nat Amara L, Amir, Touati A, Mezhoud H et Belhadi K (2012).** Caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées des prélèvements pathologiques en médecine de ville. Mémoire de fin de cycle de microbiologie. Université A/MIRA de Béjaia, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Corte. 25p.
- **Neutrophils.** *The Journal of Biological Chemistry* 268, no. 21 (July 25, 1993): 15531–35
- **Nicolle L.E., Mcintyre M. Zacharias H. et al, 1984,** Twelvemonth survey of infections in institutionalized elderly men, *J. Am. Geriatr. Soc.* 32: 513 – 519
- **Nicolle L.E., STRAUSBAUGH L.J., GARIBALDI R.A., 1996** Jan, Infections and Antibiotic Resistance in Nursing Homes, *Clinical Microbiology Reviews*; p. 1 – 17.
- **Nordmann P, Cuzon G et Naas T. (2009).** The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *The Lancet Infectious Diseases.* 9: 228-36.
- **Novak J, Fratamico P.** Evaluation of ascorbic acid as a quorum sensing analogue to control growth, sporulation, and enterotoxin production in *Clostridium perfringens*. *J Food Sci* 2004;69:FMS72-8.
- **O. Fain,** Carences en vitamine C. Mise au point. *La revue de médecine interne.* 2004 ; 25 : 872- 880.
- **Engonga., O, Clément., L. (2009).** Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines. Grade de doctorat, UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU, France.
- **O'Connell NH and Humphreys H,** *Intensive-care unit design and environmental factors in the acquisition of infection.* *J Hosp Infect,* 2000. 46: p. 255-62.
- **ogel, R. I., I. B. Lamster, S. A. Wechsler, B. Macedo, L. J. Hartley, and J. A. Macedo.** The Effects of Megadoses of Ascorbic Acid on PMN Chemotaxis and Experimental Gingivitis." *Journal of Periodontology* 57, no. 8 (August 1986): 472–79.
- **O'Neill J.** Review on antimicrobial resistance. In: *Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations*; 2014: http://www.jpamr.eu/wp-content/uploads/2014/12/AMR-Review-Paper-Tackling-a-crisis-for-the-health-and-wealth-of-nations_1-2.pdf.
- **Osborn T. W. B., & Gear, J. H. S. (1940).** Possible relation between ability to synthesize vitamin C and reaction to tubercle bacillus. *Nature*, 145.

Références bibliographique

- **Padayatty SJ., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee JH., Chen S., Corpe C., Dutta A., Dutta SK., Levine M.** Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr.* 2003, vol 22 (1), pp 18-35.
- **Pagani L, et al.,** *Outbreak of extended-spectrum b-lactamase producing Serratia marcescens in an intensive care unit.* *Immunol Med Microbiol,* 1994. 10: p. 39-46
- **Pagotto, F.J., Nazarowec-White, M., Bidawid, S., and Farber, J.M. 2003.** *Enterobacter sakazakii: infectivity and enterotoxin production in vitro and in vivo. J Food Protect.* 66 (3): 370-375.
- **Passerini L, Lan K, Costerton, King E.** Biofilms sur cathéters vasculaires à demeure. *Crit Care Med.* 1992; 20 : 665–673.
- **Pechère JC, Frottier J (1995)** Une menace croissante: la résistance aux antibiotiques. *Médecine Hygiène* 2090: 107
- **PELEG AY, SEIFERT H, PATERSON DL.** *Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen. Clin. Microbiol. Rev.,* 2008, **21** : 538-582.
- **Piéboji JG, Koulla-Shiro S, Ngassam P, Adio D, Njine T, Ndumbe P.** Antimicrobial resistance of Gram-negative bacilli isolates from inpatients and outpatients at Yaounde Central Hospital, Cameroon. *International Journal of Infectious Diseases.* 2004;8:147–54.
- **Podmore ID, Griffiths HR, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Lunec J.** Vitamin C exhibits pro oxidant properties. *Nature.* 9 avr 1998;392(6676):559.
- **Pohl, P., Lintermans, B., Mainil, J. and Deprez, P.** 1989. Production de verocytotoxine par les Escherichia coli du porc. *Ann. Med. Vet.* **133**:31-38.
- **POPI.** Maladies infectieuses. Paris : APPIT ,1999 :159-169.
- **Poupée R, Cinquième R.** Les causes du cancer: estimations quantitatives des risques de cancer évitables aux États-Unis aujourd'hui. *J Natl Cancer Inst* 1981;66:1191–308.
- **Prakash D et Saxena RS. (2013).** Distribution and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Bacterial Pathogens Causing Urinary Tract Infection in Urban Community of Meerut City, India. *International Scholarly Research Notices Microbiology.* 2013: 13.
- **Principes de bonne pratique.** L'infection des plaies en pratique clinique. Un consensus international, Londres : MEP Ltd 2008:10.
- **Raad I, Bodey G.** Complications infectieuses des cathéters vasculaires à demeure. *Clin Infect Dis.* 1992; 15 : 197-210.

Références bibliographique

- **Raad I, Costerton W, U Sabharwal, M Sacilowski, E Anaissie, Bodey G.** Analyse ultrastructurale de cathéters vasculaires à demeure: une relation quantitative entre la colonisation luminale et la durée du placement. *J Infect Dis.* 1993; 168 : 400-407.
- **RABER, L. and MORRISSEY, S. (2002).** ACS HONORS ALBERT SZENT-GYÖl;RGYI. *Chemical & Engineering News*, 80(23), pp.58-62.
- **RAISIN.** Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales. Surveillance des bactériémies nosocomiales en France. Résultats 2004. INVS, 2008.
- **Raji MA, Jamal W, Ojemhen O, Rotimi VO.** Point –surveillance of antibiotic resistance in Enterobacteriaceae isolates from patients in a Lagos Teaching Hospital, Nigeria. *Journal of Infection and Public Health.* 2013 Dec;6(6):431–7.
- **Ramelet, A.A.,** *Bacteriology of leg ulcer.* Phlébologie, 1999. **52:** p. 393-397.
- **Rangaiahagari A, Uwizeyimana JP, Nyirabanzi J, Ngoga E et Wane J. (2013).** Antibiotic sensitivity patterns of Enterobacteriaceae isolated at king Faisal hospital, Kigali - a three years study. *Rwanda Medical Journal.* 70: 11-14.
- **Rapport d'activité 2009/2010** de l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA): ISBN 978 2-916641-53-9 Vivactis Plus Ed° 2011
- **Remington JS and Schimpff SC,** *Occasional notes. Please don't eat the salads.* *N Engl JMed* 1981. 304: p. 433-5.
- **Revue Francophone des Laboratoires,** Volume 2010, Issue 426, November 2010, Pages 41-49)
- **Richards M, Edwards J, D Culver, Gaynes R.** Infections nosocomiales dans les unités de soins intensifs aux États-Unis. Système national de surveillance des infections nosocomiales. *Crit Care Med.* 1999; 27 : 887–892.
- **Rossant, L. (1977).** *Les intoxications de l'enfant.* Paris: Presses universitaires de France, p.79.
- **Rueff, D. (2000).** *Vitamine C.* St. Julien-en-Genevois: Editions Jouvence.
- **S. Goya Wannamethee, G. Do Lowe, A. Rumley & al.,** Associations of vitamin C status, fruit and vegetable intakes, and markers of inflammation and hemostasis. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2006 ; 83 : 567-574.

Références bibliographique

- **Saidi N., Guessas B., Bensalah F., Badis A., Hadadji M., Henni D.E., Prevost H. et Kihal M. 2002.** Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait de chèvre des régions arides. *J. Alg. Reg. Arides*. 1: 1-11.
- **SCHAFFNER WILLIAM. (2005).** Les infections nosocomiales. CECIL Traité de médecine interne. 1ère édition française. ch : 267. P 1548-1555.
- **SCHEER C.** Le scorbut d'hier et d'aujourd'hui. Thèse Med. Reims. 1993,
- **Schillinger U et Lucke FK, (1998).** Antimicrobial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat .Appl. Environ. Microbiol.55, 1901-1906.
- **Schlueter, A. and Johnston, C. (2011).** Vitamin C: Overview and Update. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 16(1), pp.49-57.
- **Schraibman, I.G.,** *The significance of beta-haemolytic streptococci in chronic leg ulcers.* Ann R Coll Surg Engl, 1990. **72**(2): p. 123-4.
- **Science Learning Hub. (2019).** *Vitamin C history - timeline.* [online] Available at: <https://www.sciencelearn.org.nz/resources/1690-vitamin-c-history-timeline> [Accessed 11 Feb. 2019].
- **Science Progress,** “Le Métabolisme de La Vitamine C.” June 25, 2013.
- **Shields JA, et al.,** *Localized infection by Serratia marcescens simulating a conjunctival neoplasm.* Am J Ophthalmol, 2000. 129: p. 247-8.
- **Sirot D, et al.,** *Transferable resistance to third generation cephalosporins in clinical isolates of klebsiella pneumoniae: identification of CTX-1, a novel bêta-lactamase.* J Antimicrob chemother, 1987. 20: p. 323-33.
- **Smirnoff, N. (1996).** Botanical briefing: the function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Annals of botany*, 78(6), 661-669.
- **Smith JP, et al.,** *An outbreak of Serratia marcescens infection in a neonatal unit.* The Lancet Infectious Diseases, 1984. 323: p. 151-3.
- **Sorice A., Guerriero E., Capone F., Colonna G., Castello G., Costantini S.** Ascorbic acid: its role in immune system and chronic inflammation diseases. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2014, vol 14 (5), pp 444-52.
- **Soussy CJ. (2007)** Résistance bactérienne aux antibiotiques. In: Les infections urinaires. Monographies en urologie. Springer, Paris.
- **Spanyár P, Kevei P. Über.** die Stabilisierung von Vitamin C in Lebensmitteln: I. Mitteilung. *Z Für Lebensm-Unters -Forsch.* mai 1963;120(1):1-17.

Références bibliographique

- **Sperber, W. Z., & Tatini, S. R. (1975).** Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 29(4), 502-505.
- **Stein HB, Hasan A, Fox IH.** Ascorbic acid-induced uricosuria. *Ann Intern Med.* 1976;84(4):385-88
- **Stone, I. (n.d.).** *The Healing Factor - Vitamin C Against Disease.* (Grosset & Dunlap).
- **Svirbely JL, Szent-Györgyi A.** The chemical nature of Vitamin C. *Biochem J* 1932;26:865-70.
- **Takanaga H, Mackenzie B, Hediger MA. 2004.** Sodium-dependent ascorbic acid transporter family SLC23. *Pflugers Arch.* 447:677–82.
- **Talon, D., Capellier, G., Boillot, A., & Michel-Briand, Y. (1995).** Use of pulsed-field gel electrophoresis as an epidemiologic tool during an outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* lung infections in an intensive care unit. *Intensive care medicine*, 21(12), 996-1002.
- **Tankeshwar (2019).** *Coagulase Test: Principle, procedure and interpretation - Microbeonline.* [online] Microbeonline. Available at: <https://microbeonline.com/diagnostic-tests-biochemical-tests-coagulase-test/> [Accessed 12 May 2019].
- **The Microbial Threat (1998)** Invitational EU Conference. Workshops, Copenhagen, Denmark, 7–8 September
- **Chepda Thierry, Christian Perrier, Annette Chamson & al,** Effets pro et anti oxydants de l'ascorbate. *Nutr. Clin. Métabol.* 1999 ; 13 : 115-120.
- **van der Mee-Marquet N, Achard A, Mereghetti L, Danton A, Minier M, Quentin R.** *Staphylococcus lugdunensis* infections: high frequency of inguinal area carriage. *J Clin Microbiol.* 2003 Apr;41(4):1404–9.
- **Van derVorm ER and Woldring-Zwaan C,** *Source, and management of a Serratia marcescens outbreak in a pulmonary unit.* *J Hosp Infect*, 2000. 52: p. 263-7.
- **VIDACS L.** Effects of ascorbic acid and iron ration on performance of broiler chickens. *Baromfitenyésztés Feldolgozás*, 1992, 39 : 3, 131-134.
- **Villegas MV, Hartstein AI.** Acinetobacter outbreaks, 1977–2000, *Infect Control Hosp Epidemiol* , 2003, vol. 24 (pg. 284-95)
- **Wagenlehner FM, Pilatz A, Naber KG, Weidner W.** Therapeutic challenges of urosepsis. *Eur J Clin Invest* 2008;38 Suppl 2:45-9.

Références bibliographique

- **Washko, P. W., Y. Wang, and M. Levine.** Ascorbic Acid Recycling in Human
- **Wendt C, Wiesenthal B, Dietz E, Ruden H. (1998).** Survival of vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococci on dry surfaces. *J ClinMicrobiol*; 36:3734-6.
- **Wheeler, G. L., Jones, M. A., & Smirnov, N. (1998).** The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature*, 393(6683), 365–369. doi:10.1038/30728
- **Williams P.A., Worsey M.J.,** Ubiquity of plasmids in coding for toluene and xylene metabolism in soil bacteria: evidence for the existence of new TOL plasmids, *J. Bacteriol.* 125 (1976) 818–828.
- **Wise R, Hart T, Cars O et al. (1998)** Antimicrobial resistance is a major threat to public health. *British Med J* 317: 609–610
- **World Cancer Resarch Fund/American Institute for Cancer Research.** Food research and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, DC: American Institute for Cancer Research, 1997.
- **World Health Organization,** editor. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2014. 232 p.
- **Wright G.D.,** Bacterial resistance to antibiotics : enzymatic degradation and modification, *Adv. Drug Deliv.Rev.*, 2005,57, 1451-1470
- **Zhang, H., Wakisaka, N., Maeda, O., & Yamamoto, T. (1997).** Vitamin C inhibits the growth of a bacterial risk factor for gastric carcinoma: *Helicobacter pylori*. *Cancer*, 80(10), 1897-1903. doi: 10.1002/(sici)1097-

Annexes

Annexe 01 :

Milieux de culture

1. Milieu Chapman :

Composition:

La formule théorique de ce milieu de culture en g/L d'eau purifiée est :

Extrait de viande (bovin ou porcin).....	1g
Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin).....	10g
Chlorure de sodium.....	75g
Mannitol.....	10g
Agar.	15g
Rouge de phénol.....	0,025g

pH=7,6

Préparation : 111g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave :15 minutes à 120°C. 2.

2. Milieu MacConkey :

Composition :

Sa formule (g/l) est la suivante :

Peptone de caséine	17 g/l
Peptone de viande	3 g/l
Lactose	10 g/l
Mélange de sels biliaires	1,5 g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
Rouge neutre.....	0,03 g/l
Cristal violet	0,001 g/l
Agar- agar	13,5 g/l

pH =7,1

Stériliser à 120 °C pendant 15 min.

3. Gélose nutritive pour la conservation

Composition :

Peptone.....	10.0g
Extrait de viande.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	10.0g
pH=7.3	

Préparation : prêt à l'emploi en petits tubes fins.

4. Bouillon cœur-cervelle (BHIB) :

Composition :

Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de coeur de boeuf.....	5.0g
Peptone.....	10.0g
Glucose.....	2.0g
Chlorure de sodium.....	2.0g
Phosphatase di sodique.....	5g
pH= 7.4	

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min.

5. Milieu de Mueller- Hinton:

Composition :

Sa formule (g/l) est la suivante :

Infusion de viande de bœuf	300 g/l
Hydrolysate de caséine.....	17,5 g/l
Amidon.....	1,5 g/l
Gélose	17 g/l
PH= 7,4	

Stériliser à 121 °C pendant 15 min.

Annexe 02 :

Réactifs de la coloration de Gram

1. Violet de gentiane:

Phénol.....	2.0 g
Violet de gentiane.....	1.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

2. Lugol:

Iodure de potassium.....	2.0 g
Iode métalloïde.....	1.0 g
Eau distillée	300 ml

3. Alcool (éthanol)

4. Fuschine de ziehl:

Fuchsine basique.....	1.0g
Phénol.....	5.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée	100 ml

Annexe 3 :

Résultats du test d'antibiogramme

Tableau (8) : Diamètres de sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques

Souche	Antibiotiques (ATB)	Diamètre (mm)	Diamètre (mm) référence	Résistant/Sensible
P1 : <i>Escherichia coli</i>	Imipenem (imp)	0	16-22	R
	Ceftazidime (Caz)	0	15-18	R
	Tobramycin (Tob)	0	14-17	R
	Ciprofloxacin (Cip)	0	19-25	R
	Ampicilin (Amp)	0	14-16	R
	Colistin sulfate (CS)	10	10 ≤	S
P2 : <i>Acinetobacter baumannii</i>	Clindamycine (Cn)	07	19 ≤	R
	Ceftazidime (Caz)	0	15-18	R
	Piperacillin (PIP)	15	18-21	R
	Ciprofloxacin (Cip)	16	19-25	R
	Ampicilin (Amp)	0	14-16	R
	Colistin sulfate (CS)	11	10 ≤	S
P3 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Chloramphenicol (C)	0	13-18	R
	Imipenem (imp)	0	16-22	R
	Tobramycine (Tob)	10	14-17	R
	Ciprofloxacin (Cip)	16	19-25	S
	Tetracycline (TE)	0	12-15	R
	Amoxicilin (AMC)	0	14-17	R
P4 : <i>Pseudomonas Putida</i>	Piperacillin (PIP)	18	18-21	S
	Clindamycine (Cn)	0	19 ≤	R
	Ceftazidime (Caz)	0	15-18	R
	Ciprofloxacin (Cip)	15	19-25	R
	Ampicilin (Amp)	0	14-16	R
	Colistin sulfate (CS)	0	10 ≤	R
P5 : <i>Escherichia coli</i>	Chloramphenicol (C)	20	13-22	S
	Imipenem (imp)	30	16-22	S
	Tobramycine (Tob)	0	14-17	R
	Ciprofloxacin (Cip)	23	19-25	S
	Ampicilin (Amp)	0	14-16	R
	Tetracycline (TE)	13	12-15	S
P6 : <i>Klebsella pneumoniae</i>	Ceftazidime (Caz)	0	15-18	R
	Clindamycine (Cn)	08	19 ≤	R
	Ciprofloxacin (Cip)	15	19-25	R
	Ampicilin (Amp)	0	14-16	R
	Colistin sulfate (CS)	0	10 ≤	R
	Piperacillin (PIP)	14	18-21	R

P7 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Imipenem (imp)	19	16-22	S
	Ceftazidime (Caz)	0	15-18	R
	Tobramycine (Tob)	18	14-17	S
	Ciprofloxacin (Cip)	25	19-25	S
	Ampicilin (Amp)	0	14-16	R
	Colistin sulfate (CS)	14	10 ≤	S

P8 : <i>Eschirichia coli</i>	Piperacillin (PIP)	08	18-21	R
	Ceftazidime (Caz)	0	15-18	R
	Clindamycine (Cn)	08	19 ≤	R
	Ciprofloxacin (Cip)	15	19-25	R
	Ampicilin (Amp)	0	14-16	R
	Colistin sulfate (CS)	0	10 ≤	R

P9 : <i>Pseudomona aeruginosa</i>	Chloramphenicol (C)	0	13-18	R
	Imipenem (imp)	0	16-22	R
	Tobramycine (Tob)	10	14-17	R
	Ciprofloxacin (Cip)	14	19-25	R
	Tetracycline (TE)	0	12-15	R
	Amoxicilin (AMC)	0	14-17	R

P10 : <i>Serratia fonticola</i>	Clindamycine (Cn)	10	19 ≤	R
	Ceftazidime (Caz)	0	15-18	R
	Ciprofloxacin (Cip)	0	19-25	R
	Ampicilin (Amp)	0	14-16	R
	Colistin sulfate (CS)	12	10 ≤	R
	Piperacillin (PIP)	0	18-21	R

P11 : <i>Acinitobacteri baumannii</i>	Imipenem (imp)	0	16-22	R
	Ceftazidime (Caz)	0	15-18	R
	Tobramycine (Tob)	0	14-17	R
	Ciprofloxacin (Cip)	0	19-25	R
	Ampicilin (Amp)	0	14-16	R
	Colistin sulfate (CS)	12	10 ≤	S

Tableau (9) : Diamètre de sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques.

Souche	Antibiotiques (ATB)	Diamètre (mm)	Diamètre d'inhibition (mm)	Résistant/Sensible
P1 : Staphylocoque à coagulase (+)	Streptomycin (S)	0	14-20	R
	Penicilin (P)	0	12-18	R
	Rifampin (RA)	07	15-21	R
	Ofloxacin (OFX)	16	18-24	R
	Oxacilin (OX)	0	20 ≤	R
	Vancomycin (VA)	0	17-23	R
P2 : Staphylocoque à coagulase (+)	Streptomycin (S)	14	14-20	S
	Penicilin (P)	0	12-18	R
	Rifampin (RA)	08	15-21	R
	Ofloxacin (OFX)	24	18-24	S
	Oxacilin (OX)	0	20 ≤	R
	Vancomycin (VA)	0	17-23	R
P3 : Staphylocoque à coagulase (+)	Streptomycin (S)	0	14-20	R
	Penicilin (P)	0	12-18	R
	Rifampin (RA)	13	15-21	R
	Ofloxacin (OFX)	0	18-24	R
	Oxacilin (OX)	0	20 ≤	R
	Vancomycin (VA)	0	17-23	R
P4 : Staphylocoque à coagulase (+)	Streptomycin (S)	0	14-20	R
	Penicilin (P)	0	12-18	R
	Rifampin (RA)	12	15-21	R
	Ofloxacin (OFX)	21	18-24	S
	Oxacilin (OX)	0	20 ≤	R
	Vancomycin (VA)	0	17-23	R
P5 : Staphylocoque à coagulase (-)	Streptomycin (S)	0	14-20	R
	Penicilin (P)	0	12-18	R
	Rifampin (RA)	07	15-21	R
	Ofloxacin (OFX)	20	18-24	S
	Oxacilin (OX)	0	20 ≤	R
	Cephalexin (CN)	0	15-21	R
P6 : Staphylocoque à coagulase (+)	Streptomycin (S)	0	14-20	R
	Penicilin (P)	0	12-18	R
	Rifampin (RA)	12	15-21	R
	Ofloxacin (OFX)	18	18-24	S
	Oxacilin (OX)	0	20 ≤	R
	Vancomycin (VA)	0	17-23	R

P7 : Staphylocoque à coagulase (+)	Streptomycin (S)	06	14-20	R
	Penicilin (P)	0	12-18	R
	Rifampin (RA)	12	15-21	R
	Ofloxacin (OFX)	20	18-24	S
	Oxacilin (OX)	0	20 ≤	R
	Vancomycin (VA)	0	17-23	R
P8 : Staphylocoque à coagulase (-)	Streptomycin (S)	0	14-20	R
	Penicilin (P)	0	12-18	R
	Rifampin (RA)	15	15-21	S
	Ofloxacin (OFX)	22	18-24	S
	Oxacilin (OX)	0	20 ≤	R
	Vancomycin (VA)	0	17-23	R
P10 : Staphylocoque à coagulase (-)	Streptomycin (S)	0	14-20	R
	Penicilin (P)	0	12-18	R
	Rifampin (RA)	17	15-21	S
	Ofloxacin (OFX)	0	18-24	R
	Oxacilin (OX)	0	20 ≤	R
	Cefalexin (CN)	0	15-21	R
P11 : Staphylocoque à coagulase (+)	Streptomycin (S)	06	14-20	R
	Penicilin (P)	0	12-18	R
	Rifampin (RA)	13	15-21	R
	Ofloxacin (OFX)	19	18-24	S
	Oxacilin (OX)	0	20 ≤	R
	Vancomycin (VA)	0	17-23	R

Annexe 4 :

Résultats du test de sensibilité à la vitamine C

Tableau (10) : Diamètre de sensibilité des entérobactéries à la vitamine C

Souche	Vitamine C	Diamètre (mm)	Résistant/Sensible
P1 : <i>Escherichia coli</i>	25	0	R
	50	0	R
	77	0	R
	93	0	R
P2 : <i>Acinetobacter baumannii</i>	25	0	R
	50	08	S
	77	10	S
	93	15	S
P3 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	0	R
	50	0	R
	77	0	R
	93	17	S
P4 : <i>Pseudomona putida</i>	25	0	R
	50	10	S
	77	14	S
	93	16	S
P5 : <i>Escherichia coli</i>	25	0	R
	50	0	R
	77	0	R
	93	0	R
P6 : <i>klebseilla pneumoniae</i>	25	18	S
	50	20	S
	77	23	S
	93	25	S
P7 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	0	R
	50	07	R
	77	09	S
	93	11	S
P8 : <i>Escherichia coli</i>	25	0	R
	50	0	R
	77	0	R
	93	14	S
P9 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	0	R
	50	06	R
	77	09	S
	93	13	S

P10 : <i>serratia fonticola</i>	25	0	R
	50	06	R
	77	16	S
	93	17	S
P11 : <i>Acinitobacter baumannii</i>	25	0	R
	50	0	R
	77	0	R
	93	0	R

Tableau (11) : Diamètre de sensibilité des staphylocoques a la vitamine C

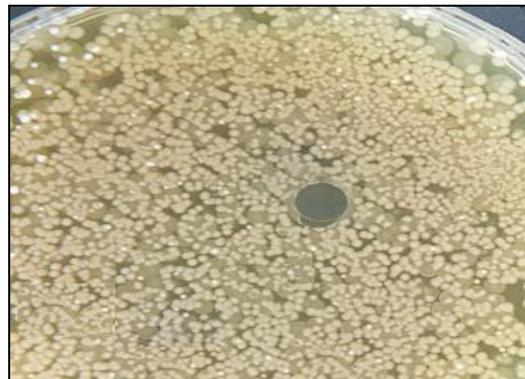
Souche	Vitamine C	Diamètre (mm)	Résistant/Sensible
P1 : Staphylocoque à coagulase (+)	25	0	R
	50	0	R
	77	0	R
	93	0	R
P2 : Staphylocoque à coagulase (-)	25	0	R
	50	10	S
	77	16	S
	93	18	S
P3 : Staphylocoque à coagulase (+)	25	0	R
	50	0	R
	77	0	R
	93	0	R
P4 : Staphylocoque à coagulase (+)	25	0	R
	50	0	R
	77	11	S
	93	16	S
P5 : Staphylocoque à coagulase (-)	25	0	R
	50	0	R
	77	0	R
	93	0	R
P6 : Staphylocoque à coagulase (+)	25	0	R
	50	0	R
	77	0	R
	93	0	R
P7 : Staphylocoque à coagulase (+)	25	0	R
	50	0	R
	77	0	R
	93	0	R

P8 : Staphylocoque à coagulase (-)	25	09	S
	50	10	S
	77	14	S
	93	19	S
P10 : Staphylocoque à coagulase (-)	25	15	S
	50	17	S
	77	19	S
	93	21	S

Annexe 5 :



Témoin pour le test d'antibiogramme



Témoin pour la méthode des puits

Figure 28 : Témoin d'effet antibactérien et antibiotique

Annexe 6

Protocole de la coloration de Gram

La coloration de Gram, qui permet de différencier les micro-organismes selon la structure de leur paroi, est la première étape d'identification bactérienne.

Expérimentalement, nous avons utilisé le test de coloration de Gram en plusieurs étapes, selon le protocole suivant :

- Effectuer un frottis
- Fixer à la chaleur
- Recouvrir de Cristal violet (colorant) pendant 1 minute, puis rincer à l'eau distillé
- Recouvrir de lugol pendant 1 minute, puis rincer à l'eau distillé
- Décolorer à l'aide d'éthanol pendant 40 secondes puis rincer à l'eau distillé
- Contre-colorer à la Safranine pendant 40 secondes, puis rincer à l'eau distillé

Après séchage à l'air, les bactéries sont observées au microscope optique à l'aide d'un objectif à immersion.

Une coloration rose indique que les bactéries sont Gram négatives, et une coloration violette qu'elles sont Gram positives.

Résumé

L'augmentation rapide de l'apparition de résistances contre les antibiotiques utilisés dans le traitement des infections bactériennes est une menace grave pour la santé de la population. Actuellement, les substances naturelles tels que la vitamine C (acide ascorbique), sont très efficaces contre diverses infections bactériennes, que ce soit avec de nombreux antibiotiques ou sans. En effet, il a été constaté qu'en plus de son effet antioxydant, la vitamine C dispose d'un effet antibactérien, D'où l'intérêt d'avoir isolé des souches d'origine hospitalière responsable d'infection et d'ulcérations chronique à fin d'y exercer une activité antibactérienne. Cette étude présente le fractionnement bio guidé par l'activité antibactérienne in vitro de plusieurs doses de vitamine C en solution évaluée contre des staphylocoques et entérobactéries issue d'infections au niveau de l'hôpital d'EH Benjerdgeb. Après une soumission à un test de sensibilité aux antibiotiques bien que les souches étaient sensibles à au moins un antibiotique le taux de résistance était élevé. L'effet de diverses concentrations d'acide ascorbique sur la croissance bactérienne a été étudié sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, *pseudomonas*, *Acinitobacter baumannii* ainsi que sur des staphylocoques et à révélé une réelle activité antibactériennes.

Mots clés : Vitamine C, Antibiotiques, infection nosocomiale, staphylocoques, entérobactéries.

ملخص

الزيادة السريعة في المقاومة ضد المضادات الحيوية المستخدمة في علاج الالتهابات البكتيرية تشكل تهديدا خطيرا لصحة السكان. في الوقت الحالي ، تعتبر المواد الطبيعية مثل فيتامين C (حمض الأسكوربيك) فعالة للغاية ضد الالتهابات البكتيرية المختلفة ، سواء كان ذلك باستخدام العديد من المضادات الحيوية أو بدونها. في الواقع ، لقد وجد أنه بالإضافة إلى تأثيره المضاد للأكسدة ، فإن فيتامين C له تأثير مضاد للجراثيم ، ومن هنا تأتي الرغبة في وجود سلالات معزولة من أصل المستشفى مسؤولة عن العدوى والتقرحات مزمن لممارسة نشاط مضاد للجراثيم. تعرض هذه الدراسة التجزؤ الحيوي الذي يسترشد بالنشاط المضاد للبكتيريا في المختبر لعدة جرعات من فيتامين C في محلول تم تقييمه ضد المكورات العنقودية والمكورات المعوية الناتجة عن العدوى في مستشفى EH Benjerdgeb بعد الخضوع لاختبار حساسية المضادات الحيوية ، على الرغم من أن السلالات كانت حساسة لمضاد حيوي واحد على الأقل ، كان معدل المقاومة مرتفعاً. تمت دراسة تأثير تركيزات مختلفة من حمض الأسكوربيك على نمو البكتيريا على الإشريكية القولونية والكليلة الرئوية ، والسودوموناس ، وكذلك على المكورات العنقودية وكشفت عن نشاط مضاد للجراثيم الحقيقي.

الكلمات المفتاحية: فيتامين ج ، المضادات الحيوية ، العدوى المستشفوية ، المكورات العنقودية

Abstract

The rapid increase in resistance against antibiotics used in the treatment of bacterial infections is a serious threat to the health of the population. Currently, natural substances such as vitamin C (ascorbic acid), are very effective against various bacterial infections, whether with many antibiotics or without. Indeed, it has been found that in addition to its antioxidant effect, vitamin C has an antibacterial effect, hence the interest of having isolated strains of hospital origin responsible for infection and ulcerations chronic to exert an antibacterial activity. This study presents the bio fractionation guided by the in vitro antibacterial activity of several doses of vitamin C in solution evaluated against staphylococci and enterobacteria resulting from infections at the EH Benjerdgeb hospital. After submission to an antibiotic susceptibility test, although the strains were sensitive to at least one antibiotic, the resistance rate was high. The effect of various concentrations of ascorbic acid on bacterial growth was studied on *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas*, *Acinitobacter baumannii* as well as on staphylococci and revealed a real antibacterial activity.

Key words: Vitamin C, Antibiotics, nosocomial infection, staphylococci, enterobacteria.