

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB –BLIDA 1

FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE



Portage-dépistage des entérobactéries multi-résistantes chez les sujets admis en réanimation, et des sujets atteints d'hémopathies malignes

Thèse de fin d'étude

Présentée en vue de l'obtention du titre de Docteur en

Pharmacie

Session : JUIN 2019

Présenté par :

AIT-KACI Othmane

Devant le jury :

- | | | |
|---------------|--------------------|---|
| • Dr Azrou. S | Présidente de jury | maitre-assistante en microbiologie médicale |
| • Dr Ammour.W | Examinatrice | maitre-assistante en parasitologie médicale |
| • Dr Ammour.N | Examinatrice | maitre-assistante en hématologie médicale |

Encadrée par :

- | | | |
|------------------|------------|---|
| • Dr Benamara. M | Promotrice | maitre-assistante en microbiologie médicale |
|------------------|------------|---|

REMERCIEMENTS

Avant tout je remercie le dieu tout puissant pour m'avoir donné la force, le courage ainsi que la patience pour mener à terme ce modeste travail.

C'est avec une profonde reconnaissance et une considération particulière que j'adresse mes remerciements, à ma promotrice et encadreur Mm M. BENAMARA BOUHRAOUA pour sa disponibilité tout d'abord, de m'avoir accordé de son temps, de son savoir, de ses conseils, l'assistance et l'aide dont j'ai bénéficié ont étaient sans égale et été pour moi une source constante de motivation à poursuivre et a achever ce travail

Merci encore une fois ;

Ma profonde gratitude et mes plus vifs remerciements vont au Dr S. AZROU d'avoir eu l'amabilité de présider notre jury et d'évaluer ce modeste travail, ainsi que pour ses précieux conseils.

Mes remerciements vont aussi aux membres de jury : Dr AMOUR.W et DrAMOUR.Squi me feront l'honneur de juger, et évaluer mon travail

Il est d'un agréable devoir d'exprimer ma reconnaissance et mes profonds remerciements aux personnels du laboratoire centrale du CHU Frantz Fanon unité microbiologie notamment : Mme ATAFAT, Mme S.MUSTAPHA, Mme M. BENSOUNA, Mm LILA et Mme N. BOUAMRA, aux résidents : Dr ZADOUERKEB, Dr MOUSSAOUI, Dr FETATTA, Dr OULMI, Dr ROSTOM, Dr SIDALI, et Dr ABEDEL-AZIZ ; ainsi à mes maîtres assistants : Dr M.MAHFOUD, Dr S. BEROUAKEN, et au professeur R.Belouni

Mes vifs remerciements vont également au Pr S. ABDI, la cheffe de service de laboratoire centrale du CHU Blida, qui nous a ouvert les portes du laboratoire.

Je ne pourrai terminer mes remerciements sans y associer mes enseignants et le personnel du département de pharmacie de la faculté de médecine, Université Saad Dahleb –BLIDA-

Je conclus par remercier toute personnes ayant contribué de prés ou de loin a la réalisation et l'aboutissement de ce modeste travail.

Je vous remercie tous

AITKACI OTHMANE

DÉDICACES

A la plus belle créature que dieu a créée sur terre

A cette source de tendresse, de patience, d'amour, de générosité

A la personne qui m'a donné vie

A ma maman d'amour

A mon pilier, mon exemple, mon repère et mon guide

A la personne qui m'a toujours compris, soutenu

A la personne qui était toujours là pour moi afin de me guider, et me suivre

A mon model, a mon papa adoré

*Les deux personnes qui m'ont toujours su nous combler d'amour et de tendresse, aucune
dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, mon amour éternel, ma considération pour
tous les sacrifices que vous avez consentit juste pour mon bien être et celui de mon frère
et mes sœurs*

Puisse dieu le tout puissant vous garder et vous procurer santé et bonheur

Papa, maman, comme je disais enfant ; je vous aime <<comme ça>>

*A mon frère (BILLEL), mon exemple, à la personne que je peux appeler a 4h du matin en
sachant qu'il répondra et viendra à mon aide*

*A mes sœurs (SAMIRA, KHADIDJA, FATIMA, AMEL et HAYETTE), vous avez toujours cru
en moi et étaient là pour moi ; même si je vous le dis jamais, mais vous savez que je vous
aime,*

A mon adorable belle-sœur RANIA, et mon petit ange ANAIS

A mes beaux frères, RABAH, SAMIR et ABDOU

A tous mes amis, à mes confrères

A mes meilleur(e)s ami(e)s : Chanez, Djihane, Samiret Brahim

A tous les ASEPISTES, ma deuxième famille (vivaASEPA, viva pharmacie)

*Une dédicace spéciale pour : chakib, meriem, nadir, Ikram Fekharet bien évidemment
ImeneAbouriche, vous étiez là pour moi depuis le début, je n'oublierai jamais vos
encouragements et votre présence*

A toute personne qui m'a soutenu je vous souhaite d'être follement aimés et heureux

AITKACI OTHMANE

RESUME

Les entérobactéries dont le réservoir est le système digestif, constituent plus de 2/3 des bactéries isolées dans un laboratoire clinique, et sont impliquées dans 80% des isolats responsables d'infections. Utilisation inappropriée des antibiotiques ainsi que le manque d'hygiène dans les services à haut risque (réanimation et onco-hématologie) présentent l'une des responsables raisons dans l'apparition et la diffusion des entérobactéries multi-résistantes (EMR).

Notre étude rétro-prospective, couvrant la période allant du 01 Mars 2018 au 01 Avril 2019, réalisé au niveau de laboratoire central du CHU Frantz fanon BLIDA, unité bactériologie, à pour objectifs :

Le dépistage des porteurs asymptomatiques parmi les patients admis en onco-hématologie et en réanimation, définir les facteurs de risque d'acquisition des EMR et d'expérimenter un milieu maison à base de gélose MacConkey additionné de : ceftazidime et ertapénème dans le dépistage des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération et les entérobactéries productrices de carbapénémases.

179 patients ont été inclus dans notre étude (170/179 admis en service d'onco-hématologie et 9/179 admis en réanimation). La prévalence de EMR chez les patients d'onco-hématologie était de (56/376 : 14,89%) principalement *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*, les mécanismes de résistance retrouvés chez les souches isolés étaient : production de beta-lactamase à spectre élargi, production d'une céphalosporinase hyper-produite AmpC et production de carbapénémase, à des taux de : (25/56 : 44,64%), (31/56 : 55,36%) et (0%) respectivement. 2/9 Patients admis en réanimation et participant à notre étude étaient porteur d'entérobactéries résistantes aux céphalosporine de 3eme génération

Mots clés : Entérobactérie Multi-résistantes, Réanimation, Onco-hématologie, Dépistage, Portage Digestif,

ABSTRACT

Enterobacteria, which have the digestive system as a reservoir, constitute more than 2/3 of the bacteria isolated in a clinical laboratory, and are involved in 80% of the isolates responsible for infections. Inappropriate use of antibiotics and lack of hygiene in high-risk services (intensive care unit and onco-hematology) are one of the reasons for the emergence and spread of multidrug-resistant enterobacteria (MDR-E)

Our retrospective study, covering the period from 01 March 2018 to 01 April 2019, carried out at the central laboratory level of the Frantz Fan Hospital BLIDA, bacteriology unit, aims to: Screening for asymptomatic carriers in onco-hematology and intensive care unit patients, defining the risk factors for acquiring RMEs and testing a MacConkey agar medium supplemented with: ceftazidime and ertapenem for enterobacteria screening resistant to 3rd generation cephalosporins and carbapenemase-producing enterobacteria

179 patients were included in our study (170/179 admitted to onco-hematology and 9/179 admitted to intensive care). The prevalence of EMR in onco-hematology patients was (56/376: 14.89%) mainly *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, the resistance mechanisms found in isolated strains were: extended-spectrum beta-lactamase production production of a hyperproduced AmpC cephalosporinase and carbapenemase-producing enterobacteria at levels of: (25/56: 44.64%), (31/56: 55.36%) and (0%) respectively

. 2/9 Patients admitted to intensive care and participating in our study were carriers of Enterobacteriaceae resistant to 3rd generation cephalosporin

Key words: Multi-drug Resistant Enterobacteriaceae, Intensive Care Unit, Onco-hematology, Screening, fecal carriage

ملخص

تشكل بكتيريا المعوية،و التي يعد الجهاز الهضمي خزان ، أكثر من ثلثي البكتيريا المعزولة في المختبر السريري ، وتشارك في 80٪ من العزلات المسؤولة عن الالتهابات. يعد الاستخدام غير المناسب للمضادات الحيوية ونقص النظافة في المصالح ذات الخطورة العالية (الإنعاش وأمراض الدم) أحد أسباب ظهور وانتشار بكتيريا الأمعاء المقاومة للأدوية المتعددة.

تهدف دراستنا بأثر رجعي ، التي تغطي الفترة من 1 مارس 2018 إلى 1 أبريل 2019 ، والتي أجريت على مستوى المختبر المركزي لمستشفى Frantz Fan Hospital BLIDA ، وحدة البكتيريا ، إلى: الكشف عن الأشخاص الناقلين لبكتيريا الأمعاء المقاومة للأدوية المتعددة بدون أعراض في مرضى أمراض الدم والإنعاش ، مع تحديد عوامل الخطر لاكتساب واختبار وسيط أجار MacConkey مع: Ceftazidime و ertapenem لفحص الأمعاء مقاوم للجيل الثالث من السيفالوسبورين والبكتيريا المعوية المنتجة للكاربابينيمات.

أدرجت 179 مريضا في دراستنا (179/170 اعترف لأمراض الدم sonco و 179/9 اعترف في العناية المركزة). كان معدل انتشار EMR في مرضى أمراض الدم الوراثية (376/56: 14.89 ٪) بشكل رئيسي الكلبسيلا الرئوية والإشريكية القولونية ، وكانت آليات المقاومة الموجودة في السلالات المعزولة هي: إنتاج بيتا لاكتاماز طويل المدى. إنتاج السيفالوسبوريناز AmpC عالي الإنتاج وإنتاج الكاربابينيمات بمستويات: (56/25: 44.64 ٪) ، (56/31: 55.36 ٪) و (0٪) على التوالي. 9/2 المرضى الذين تم قبولهم في العناية المركزة والمشاركة في دراستنا هم حاملو الأمعاء والبكتيريا المقاومة للجيل الثالث من السيفالوسبورين

الكلمات الرئيسية: الأمعاء المتعددة المقاومة، الإنعاش، أمراض الدم، الفحص، حمل الهضمي.

Liste des tableaux

Tableau 1: Entérobactéries et ATB : phénotypes de résistance naturelle.....	10
Tableau 2: groupes d'entérobactéries selon la résistance aux beta-lactamines.....	11
Tableau 3 : les services concernés par le dépistage.....	23
Tableau 4: les entérobactéries BLSE et leur gènes impliqués.....	28
Tableau 5: les entérobactéries isolées AmpC et les gènes impliqués.....	29
Tableau 6: les entérobactéries isolées et leur gène de résistance.....	29
Tableau 7 : récapitulatif des différentes méthodes de dépistage.....	37
Tableau 8 : caractéristiques des principaux milieux de dépistage des Entérobactéries BLSE.....	40
Tableau 10 : précautions complémentaires de contact et précautions complémentaires gouttelettes.....	51
Tableau11 : répartition des prélèvements selon leur nature.....	67
Tableau 12 : répartition des espèces d'entérobactéries isolées selon la nature du Prélèvement.....	71
Tableau 13: résultat de l'enquête de dépistage faite au niveau du service de la réanimation.....	73
Tableau 14 : bactéries isolées à partir des 3 PDP.....	81
Tableau15: résultat du dépistage effectué le 20.05.19 au niveau de la réanimation.....	83

Liste des figures

Figure 1: coloration de gram <i>Escherichia coli</i> vue par microscope optique, G*100.....	4
Figure 2 : <i>Escherichia coli</i> vu par microscope électronique.....	4
Figure 3: aspect des entérobactéries sur gélose spécifique, (BCP à droite: colonie: jaune lac+, colonie incolore: lac-; MacConkey à gauche).....	4
Figure 4: aspect des entérobactéries sur Hektoen.....	4
Figure 5 : galerie API 20E bioMerieux.....	5
Figure 6 : aspect de la galerie API 20E après l'ajout de la suspension bactérienne (avant incubation).....	5
Figure 7 : aspect de la galerie après incubation, <i>Escherichia coli</i> détectée.....	5
Figure 8 : localisation des antigènes O, H et K sur la paroi des entérobactéries.....	6
Figure 9: mode de transmission des entérobactéries.....	8
Figure 10 : technique de prélèvement.....	24
Figure 11 : écouvillon anal.....	24
Figure 12 : L'évolution du portage des E-BLSE chez les admis en réanimation en France...	32
Figure 13: Gélose Brilliance E-BLSE.....	39
Figure 14 : Gélose ChroMidESBL.....	39
Figure 15 : Brilliance CRE (OXOID).....	42
Figure 16 : ChroMidCarba.....	44
Figure 17 : SuperPolymexin Medium.....	46
Figure 18: ChroMagarCOLAPSE.....	47
Figure 19 : les différents niveaux de précautions à appliquer pour la maîtrise de la diffusion des résistances bactériennes	50
Figure 20: logigramme du protocole suivi durant notre étude.....	60
Figure 21: prélèvement souche pure	62
Figure 22: galerie API 20 ^E	62
Figure 23: paramètres à remplir complètement.....	62
Figure 24: paramètre nécessitant une atmosphère anaérobie par l'ajout de la vaseline.....	62

Figure 25 : apparition d'image de synergie: bouchon de champagne.....	63
Figure 26/: absence d'image de synergie.....	63
Figure 27: les 10 premiers tests de la galerie API 20E négatifs.....	63
Figure 28: les 10 premiers tests de la galerie API 20E positifs.....	64
Figure 29: les 10 derniers tests de la galerie API 20E négatifs.....	64
Figure 30 les 10 derniers tests de la galerie API 20E positifs.....	64
Figure 31 : galerie API 20E après une nuit d'incubation et ajout de réactifs.....	65
Figure 32: schéma simplifié de la répartition des prélèvements.....	65
Figure 33 : schéma simplifié de la répartition des résultats de dépistage.....	67
Figure 34: répartition des prélèvements reçus.....	67
Figure 35 : schéma simplifié de la répartition des résultats de dépistage.....	67
Figure 36 : répartition des entérobactéries selon l'espèce bactérienne.....	69
Figure 37 : répartition des entérobactéries isolées selon le mécanisme de résistance.....	70
Figure 38 : répartition des entérobactéries multi-résistantes selon la nature du prélèvement..	72
Figure 39: souches ATCC E.coli et Pseudo aeruginosa.....	76
Figure 40: les différentes souches utilisées sur gélose nutritive	76
Figure 41: balance avec un poids de 0,2mg d'ATB.....	77
Figure 42: gélose MacConkey en flacon fournit prêt à l'emploi.....	77
Figure 43: test de stabilité pour la gélose MacConkey additionné de 2mg/l de ceftazidime sur 10jours	78
Figure 44: test de stabilité pour la gélose MacConkey additionné de 2mg/l d'ertapénème....	79
Figure 45: culture sur BCP et sur MacConley additionné de 2mg/l ceftazidime.....	81
Figure 46 : les prélèvements de gites cultivés sur milieux MacConkey + ceftazidime ou ertapénème.....	82
Figure 47 : exemple de prélèvements de gites de l'enquête de dépistage cultivés sur milieux MacConkey + ceftazidime ou ertapénème.....	84

Liste des Abréviations

µg :micro-gramme

ADN: Acide DesoxyNucleique

AMC: amoxicilline+ acide
clavulanique

AMP: ampicilline

BHRe: Bactéries Hautement Résistante
émergente

BMR : Bactéries multi-résistantes

C1G: céphalosporine de 1ere
génération

C3G : céphalosporine de 3eme
génération

CTX-M : Cefotaximase

CXM: cefuroxime

DGS : Direction Générale de Sante

E-BLSE: Entérobactéries productrices
de beta-lactamases à spectre élargi

EMR : Entérobactéries multi-
résistantes

EPC : Entérobactérie productrices de
carbapénèmase

ERG:enterocoque Résistant aux
glycopeptides

ERV : Enterocoque résistant à la
vancomycine

EUCAST: European Committee on
Antimicrobial Susceptibility Testing

FOS : fosfomycine

FOX:cefoxitime

ATB: Antibiotique

ASM: American Society of
Microbiology

BGN: Bacille Gram négative

BHIB: Brain-Heart Infusion Broth

CA-SFM : comité de l'antibiogramme
de la société française de microbiologie

CMI : concentration minimale
inhibitrice

COL: colistine

CTX: cefotaxime

GEN: gentamycine

HCSP: Haut Conseil de santé Publique

IMP : imipénèmase

KPC : *Klebsiella*
Pneumoniae productrice de
Carbapénèmase

LPS: lipopolysaccharide

MDR-E: Multi-Drug Resistant
Enterobacteriaceae

NDM: New Delhi-Metallo-lactamase

NIT: nitrofurane

OXA : Oxacillinase

PCA : Précautions complémentaires
Air

PCC : Précautions complémentaires
Contact

PCG : Précautions complémentaires
gouttelettes

PCR: polymerase chaine Reaction

PDR-E: Pan Drug Resistant
Enterobacteriaceae

PIP: Piperacilline

PR : polymexin Resistance

SARM : staphylococcus aureus
meticillino-résistant

SFHH : Societe Française d'hygiène
Hospitalière

SHV : SulfHydryl Variable

SHA: solution hydro-alcoolique

TEIC: Teicoplanine

TEM: Temoneira

TET: tetracycline

TH: test de Hodge

TIC: ticarcilline

TOB: tobramycine

VIM: VeronaIntegro-Metallo

XDR-E: Extensivly Drug
ResistantEnterobacteriaceae.

Glossaire

- **Arsenal thérapeutique** : c'est le schéma thérapeutique incluant les possibilités thérapeutiques.
- **Bactéricide** : substance ayant la capacité de tuer la bactérie.
- **Bactériostatique** : substance qui inhibe la multiplication des bactéries sans les tuer.
- **Biotype** : est un groupement d'organismes de constitution génétique similaire, dont les séquences d'ADN sont très proches.
- **Bouillon Nutritif** : est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants.
- **Cohorting** : Ce terme désigne le regroupement de patients infectés ou colonisés par le même agent infectieux afin de confiner leurs soins dans une seule aire et prévenir les contacts avec des patients vulnérables, une équipe de personnel est spécialement dédiée à ce groupe de patients. (regroupement des patients en cohorte).
- **Ciliature péritriche** : un système de flagelles recouvrant de tous côtés la surface d'une bactérie. Permettent à la bactérie de se déplacer en tournoyant dans le milieu liquide.
- **Clone** : un groupe de cellules ou d'individus qui sont issus de la même unité ancestrale.
- **Constitutive** : qui s'exprime en permanence quel que soit les conditions (ne besoin pas d'inducteur)
- **Cytobactériologie** : est l'étude des cellules, des microbes, et déchets des cellules contenues dans le liquide prélevé dans l'organisme. Cette analyse permet de mettre en évidence les, ou l'agents infectieux en cause, au cours d'une infection.
- **Dépistage** : consiste à rechercher une ou plusieurs maladies ou anomalies dites à chez les individus d'une population donnée.
- **Déréprimer** : Cesser de réprimer, cesser l'action, devenir inactif.
- **Diffusion** : phénomène par lequel deux ou plusieurs fluides en contact acquièrent une répartition et des propriétés homogènes.
- **Emergence** : apparition de nouvelles propriétés

- **Enzyme chromosomique :** (La télomérase) est une enzyme présente chez les organismes eucaryotes, et qui, lors de la réplication de l'ADN, a pour mission d'habiller les chromosomes de télomères, des séquences nucléotidiques placées à leur extrémité et servant à les préserver

- **Enzyme plasmatique :** (enzyme de restriction) est une protéine capable de couper un fragment d'ADN au niveau d'une séquence de nucléotides caractéristique appelée site de restriction.

- **Etat sauvage :** un organisme ou locus de gène qui prédomine dans les espèces naturelles ou normales.

- **Gélose :** est une substance nutritive favorisant ou inhibant (*selon sa composition*) la prolifération et le développement des bactéries. Il s'agit donc du milieu de culture des bactéries.

- **Hémopathie maligne :** un cancer des tissus hématopoïétiques caractérisé par un trouble de multiplication et la différenciation des cellules d'une lignée sanguine.

- **Inductible :** qui ne s'exprime qu'en présence d'un métabolite ; l'inducteur.

- **Inhibiteur compétitif :** est un inhibiteur enzymatique qui agit en se liant à un site actif libre d'une enzyme à la place d'un substrat.

- **Inhibiteur :** est un composé dont l'action est d'inhiber (c'est-à-dire de ralentir fortement voire arrêter) une réaction chimique.

- **Inoculum :** Échantillon contenant des germes vivants, destiné à être introduit au sein d'un milieu favorable à sa multiplication, afin de l'identifier, de l'étudier ou d'en produire une quantité supérieure.

- **Milieu chromogène :** le principe de ce milieu repose sur la présence d'un ou plusieurs substrats chromogènes permettant la coloration des colonies à la suite de sa dégradation par des enzymes bactériennes.

- **Mortalité :** c'est le rapport entre le nombre de décès et l'effectif moyen de la population dans un lieu donné et pendant une période déterminée.

- **Mutation ponctuelle :** est un changement de la structure du gène, affectant un à plusieurs nucléotides (entre un et dix).

- **Neutropénie :** trouble hématologique caractérisé par un taux bas de granulocytes (polynucléaires neutrophiles) dans le sang.

- **Nosocomial** : terme employé pour une maladie contractée lors d'une hospitalisation après 48H d'admission.
- **Patients contact** : tous les patients exposés à un cas, c'est-à-dire tous les patients pris en charge en hospitalisation (hors consultation) par le même équipe soignant un cas (quels que soit les postes de travail considérés jour ou nuit), de soignants paramédicaux et/ou médicaux dès lors que des contacts physiques ont pu être générés lors de cette prise en charge.
- **Peptidoglycane** (muréine ou mucopeptide) : est constituant essentiel de la paroi bactérienne. Il s'agit d'un polymère complexe formé par chaîne polysaccharidique, un ensemble de chaînes latérales peptidiques identiques et des ponts inter peptidiques.
- **Perméabilité** : d'un milieu poreux est la mesure de son aptitude à laisser traverser par un fluide sous l'effet d'un gradient de pression ou un champ de gravité.
- **Phénotype** : ensemble des caractères apparents d'un individu (opposé au génotype).
- **Phénotypes de résistance** : l'expression prépondérante d'un mécanisme de résistance de type enzymatique (β -lactamases) ou non (impermeabilité, affinité faible pour certaines PLP....), définissant un phénotype sauvage ou mieux de résistance naturelle.
- **Plasmide** : Élément génétique du cytoplasme (séparé et indépendant du chromosome), hébergé par un hôte bactérien et dont la réplication est autonome.
- **Portage** : en médecine infectieuse, est la capacité que possède un individu, ou un animal de transmettre un germe.
- **Prévalence** : nombre de cas d'une maladie dans une population à un moment donné, englobant aussi bien les cas nouveaux que les cas anciens.
- **Répresseur** : est une protéine régulant négativement un ou plusieurs gènes en se liant à une séquence spécifique sur l'ADN, appelée opérateur.
- **Reproductibilité** : Faculté d'être reproduit ; caractère de ce qui peut être reproduit.
La reproductibilité des êtres vivants.
- **Résistance acquise** : c'est lorsqu'une ou plusieurs souches d'une espèce bactérienne naturellement sensible à un antibiotique y deviennent résistantes.
- **Résistance naturelle** : lorsque toutes les souches d'une même espèce bactérienne sont résistantes à un antibiotique donné (insensibles au mode d'action de l'antibiotique).
- **Restaurer** : rétablir son activité.

- **Rétrospective** : se dit d'une réaction qui se manifeste après coup.
- **Sporadique** : maladie sporadique qui atteint des individus isolés d'une population (s'oppose à épidémique et à endémique)
- **Synergie** : est un type de phénomène par lequel plusieurs facteurs agissant en commun ensemble créent un effet global.
- **Système d'efflux** : est un mécanisme par lequel les cellules rejettent à l'extérieur des Composés toxiques : antibiotiques, métaux lourds, drogues...
- **Transposon** : Élément génétique transposable, composé d'ADN dont les terminaisons sont constituées de séquences identiques inversées, capable de réplication et d'insertion ailleurs dans le génome.
- **Typage** : c'est la classification en types

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux.....	6
Liste des figures.....	7
Liste des Abréviations	9
Glossaire.....	10
CHAPITRE I : LES ENTEROBACTERIES (RAPPEL BACTERIOLOGIQUE)	2
I.I.Définition des entérobactéries:.....	3
I.I.1. Classification des entérobactéries :	3
I.II. Caractères bactériologiques:.....	3
I.II.1.Caractères morphologiques :	3
I.II.2.Caractères cultureux :	4
I.II.3.Caractères biochimiques et identification des entérobactéries :	5
I.II.4.Caractère antigéniques :	6
I.III.Habitat:.....	6
I.IV.Pouvoir pathogène:.....	7
I.V.Transmission et acquisition des entérobactéries et des entérobactéries multi-résistantes :	7
CHAPITRE II : LA RESISTANCE DES ENTEROBACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES	9
II.1. Résistance naturelle :	10
II.2. Résistances acquises des entérobactéries :	12
II.I.Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération :	12
II.I.1.Par production de beta-lactamase à spectre étendu :	12
II.I.2.Par production de céphalosporinase hyper-produite (AmpC) :	13
II.II.Entérobactéries productrices de carbapénemases :	14
II.III. Entérobactéries résistantes à la colistine :	15
II.III.1.Rappel sur la Colistine :	15
II.III.2.La résistance des entérobactéries aux polymyxines :	16
II.III.2.1. Résistance chromosomique.....	17
II.III.2.2. Résistance plasmidique :	17
II.IV. Les entérobactéries multi-résistantes :	17
II.IV.1.Définition des entérobactéries multi-résistantes :	17
II.IV.2.Définition des Entérobactéries ultra-résistantes :	18
II.IV.3.Définition des Bactéries Hautement Résistantes émergente :	18
II.IV.4.La toto-résistance des Entérobactéries :	18
CHAPITRE III	PORTAGE DES ENTEROBACTERIES MULTI-RESISTANTES 19
III.I.Objectifs et importance du dépistage :	20
III.II.Définition du portage des entérobactéries multi-résistantes :	21
III.III.Causes induisant le portage:	21
III.IV.Les facteurs de risques de portage des entérobactéries multi-résistantes et les patients à prélever :	22
III.V.Politique et Prélèvements de dépistage-portage des EMR	22

III.V.1.Quand prélever et dans quels services ?	22
III.V.2.Quels sites prélever pour le dépistage des EMR ?	23
III.V.3. Comment prélever ?	23
III.V.4. Combien de temps prélever un porteur ?	24

CHAPITRE IV : EPIDEMIOLOGIE DU PORTAGE DES ENTEROBACTERIESMULTI-RESISTANTES26

IV.I. Epidémiologie du Portage des entérobactéries multi-résistantes en oncologie-hématologie:

.....	27
IV.I.1. Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération :	27
IV.I.1.1.En Amérique:	27
IV.I.1.2.En Asie :	27
IV.I.1.3.En Europe:	28
IV.I.1.4.En Algérie.....	29
IV.I.2.Les entérobactéries productrices de carbapénèmase :	29
IV.I.2.1.En Amérique :	29
IV.I.2.2.En Asie :	30
IV.I.2.3.Europe :	30
IV.I.2.4.Au Maghreb :	30
IV.I.2.5.En Algérie :	30

IV.II. Epidémiologie des entérobactéries multi-résistantes en réanimation :..... 31

IV.II.1.les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération :	31
IV.II.1.1.Aux états unis :	31
IV.II.1.2.En Asie :	31
IV.II.1.3.En France :	32
IV.II.1.4.Au Maghreb :	32
IV.II.2.les entérobactéries productrices de carbapénèmases :	33
IV.II.2.1.Aux états unis :	33
IV.II.2.2.En Asie :	33
IV.II.2.3.En Afrique :	33
IV.II.3.les entérobactéries résistantes à la colistine :	34
IV.II.3.1.En Amérique :	34
IV.II.3.2.En Asie :	34
IV.II.3.3.En Europe	34
IV.II.3.4. Au Maghreb :	35
IV.II.3.5.En Algérie :	35

CHAPITRE V : ROLE DU MICROBIOLOGISTE DANS LE DEPISTAGE DES

ENTEROBACTERIESMULTI-RESISTANTES 36

V.I. Dépistage des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération:..... 38

V.I.1. Méthodes phénotypiques :	38
V.I.1.1.Culture sur milieux non chromogène additionné d'ATB :	38
V.I.1.1.1. La BD Drigalski lactose Agar avec ceftazidime :	38
V.I.1.2.Culture sur milieux gélosés chromogènes :	38
V.I.1.2.1.Gélose brillianceESBL :	39
V.I.1.2.2.Gélose ChromIDESBL:	39
V.I.2.Méthodes moléculaires:.....	40
V.I.2.1.Détection des gènes TEM et SHV :	40
V.I.2.2.Détection des gènes CTX-M :	41

V.I.2.3. Technique micro-array :	41
V.II. Dépistage des Entérobactéries productrices de carbapénèmases :	42
V.II.1. Milieux chromogènes :	42
V.II.1.1. CHROMagar™ KPC	42
V.II.1.2. ChromIDRCarba (bioMerieux) et BrillianceR CRE (Oxoid)	42
V.II.1.3. mSuperCARBA™ (CHROMagar) ou SUPERCARBA medium << maison >>	43
V.II.1.4. ChromIDR OXA-48 (bioMerieux)	43
V.II.1.5. ChromIDR CARBA SMART (bioMerieux)	43
V.II.2. Méthodes moléculaires :	44
V.II.3. Intérêt d'une étape d'enrichissement dans le dépistage des entérobactéries productrices de carbapénèmases :	45
V.III. Dépistage des entérobactéries résistantes à la colistine :	46
V.III.1. Milieux non chromogène additionné d'ATB:	46
V.III.1.1. Milieu Hektoen additionné de 2µg de colistine.	46
V.III.2. Milieu chromogènes:	46
V.III.2.1. SuperPolymexin Medium	46
V.III.2.2. ChroMagar Colapse	46
V.III.3. Biologie Moléculaire :	47
Chapitre VI : CONDUITE A TENIR EN CAS D'IDENTIFICATION ET D'ISOLEMENT D'UNE ENTEROBACTERIEMULTI-RESISTANTES	48
VI.I. Rôle du microbiologiste devant un cas de dépistage positif à EMR :	49
VI.II. Conduite à tenir devant l'identification d'un porteur d'EMR au sein du service d'hospitalisation:	50
VI.II.1. Maîtrise de la diffusion et la transmission des entérobactéries multi-résistantes :	50
VI.II.1.1. Définition des précautions standards :	51
VI.II.1.2. Définition des précautions complémentaires :	51
VI.II.1.2.1. Précautions complémentaires contact :	51
VI.II.1.2.2. Précautions complémentaires gouttelettes :	51
VI.II.1.2.3. Précautions complémentaires air :	51
VI.II.2. La chimio-décontamination des porteurs d'EMR :	52
VI.II.2.1. La chimio-décontamination digestive :	52
VI.II.2.1.1. Les indications de la décontamination digestives des EMR :	52
VI.II.2.1.2. Comment ?	52
VI.II.2.2. La décontamination cutanée :	53
VI.II.2.3. Les limites de la décontamination :	53
PARTIE PRATIQUE	54
PRESENTATION DE L'ETUDE	55
I. PRESENTATION DE L'ETUDE:	56
I.I. Présentation de l'étude la première étude:	56
I.I.1. Type et période de l'étude :	56
I.I.1.1. Critère d'inclusion :	56
I.I.1.2. Critères d'exclusions :	56
I.I.2. Objectifs :	56
I.I.2.1. Principal :	56
I.I.2.2. Secondaire :	56

I.I.2.3.Optionnel :	56
I.II.Présentation de la seconde étude :	57
I.II.1.Type et durée de l'étude :	57
I.II.2.Critères d'inclusion :	57
I.II.3.Critères d'exclusion :	57
MATERIELS ET METHODES.....	58
II.I.Matériels :	59
II.I.1Matériels biologique :	59
II.I.2.Matériels non biologiques :	59
II.I.3.Appareillages :	59
II.II.Méthode appliquée :	59
II.II.1.Description de la technique :	59
II.II.1.1Préparation de l'inoculum pour antibiogramme :	61
II.II.1.2.Ensemencement :	61
II.II.2.Présentation de la galerie API 20 ^E :	61
II.II.2.1Préparation de l'inoculum :	62
II.II.2.2.Ensemencement de la galerie :	62
II.II.2.3.Interprétation :	63
II.II.2.4.Interprétation de la galerie API 20 ^E :	63
RÉSULTATS ET DISCUSSION	66
III.I. Résultatset discussion de la 1ere étude :	67
III.I.1.Prélèvements :	67
III.I.2. Résultats de la recherche du portage d'EMR :	67
III.I.2.1.Répartition selon la nature du prélèvement :	67
III.I.3.Résultats de culture des prélèvements de dépistage :	68
III.I.3.1.Répartition des entérobactéries multi-résistantes isolées selon le mécanisme de résistance :	69
III.I.3.2.Répartition des entérobactéries multi-résistantes isolées selon la nature du prélèvement :	71
III.II. Résultat de la 2eme étude :	74
ÉTUDE 3 : ÉLABORATION ET ÉVALUATION D'UN MILIEU DE CULTURE ADDITIONNE D'ANTIBIOTIQUE.....	76
IV.I.Objectif :	77
IV.II.Matériels et Méthode:	77
IV.II.1.Souches résistantes :	78
IV.III.Moyen à valider :	78
IV.III.1.Préparation de la solution mère d'antibiotiques :	78
IV.III.2.Préparation du mélange : milieu MacConkey et ATB :	78
IV.III.3.Contrôle qualité :	79
IV.III.4.Test de stabilité :	80
IV.III.5.Expérimentation du milieu :	82
IV.III.6. Résultats et discussion de la comparaison entre les deux méthodes :	83
CONCLUSION	88
BIBLIOGRAPHIE.....	90
Annexes.....	103

INTRODUCTION :

La découverte des antibiotiques a longtemps fait croire que la bataille contre les infections d'origine bactérienne était gagnée. Malheureusement, le génie adaptatif des bactéries leur a permis de développer des résistances, favorisées par le mésusage des antibiotiques.

Les entérobactéries sont des commensales du tube digestif de l'homme et de l'animal d'où leur appellation et elles présentent plus de 80% des germes isolés en laboratoire : *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Serratia*, *Morganella*, *Salmonella*, *Shigella* ; Sont les germes bactériens les plus souvent retrouvés.

Les entérobactéries sont retrouvées à la tête des bactéries responsables d'infections communautaire et nosocomiales, notamment les infections urinaires, les infections respiratoires. [1]

Les infections à entérobactéries sont traitées généralement par les beta-lactamines, à savoir : les pénicillines, les céphalosporines avec leur différentes générations, les carbapénèmes (meropénème, imipénème et ertapénème) et les polymyxines (colistine), mais ces deux dernières décennies, on fait face à une augmentation de résistance à ces antibiotiques par différents mécanismes. [2]

En effet on est confronté à une forte prévalence d'infections à entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération surtout en milieu hospitalier et à l'émergence de souches résistantes aux carbapénèmes par production de carbapénémases fortement épidémiogène [3]; essentiellement au niveau de service de la réanimation et en onco-hématologie. [4] [5]

La colistine paraissait le dernier rempart thérapeutique face aux infections à entérobactéries productrices de carbapénémases mais des souches résistantes à la colistine sont de plus en plus décrites dans le monde et même en Algérie. [6] [7]

Devant la course entre le développement d'antibiotiques et l'émergence de résistance, les mesures de prévention de l'infection apparaissent comme un moyen de lutte déterminant pour préserver l'antibiothérapie. Ceci n'étant envisageable qu'avec la mise en place d'une stratégie de dépistage efficace s'appuyant sur une identification rapide des personnes porteuses de ces entérobactéries multi-résistantes (EMR) afin d'informer le clinicien et de mettre en œuvre les précautions requises (précautions standards pour tout patient et précautions particulières pour ceux identifiés comme infectés ou colonisés) permettant de limiter la transmission croisée et de garder de faibles taux d'infections à EMR. [8][9]

L'objectif du présent travail est la définition des stratégies de dépistage des bactéries multi et hautement et toto-résistantes aux antibiotiques, l'intérêt qu'elles pourraient offrir et les enjeux qu'elles représentent.

CHAPITRE I : LES ENTEROBACTERIES (RAPPEL BACTERIOLOGIQUE)

I.I. Définition des entérobactéries:

La famille des entérobactéries est une très vaste famille qui représente près des trois quarts des isollements d'un laboratoire de bactériologie médical [10]

Elle se définit par les caractères communs suivants :

- Bacille à gram négatif (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large)
- Immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche
- Aero-anaérobies facultatifs
- Poussant sur milieux de culture ordinaires (non exigeant)
- Oxydase négative
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz
- Réduisant les nitrates en nitrites

I.I.1. Classification des entérobactéries :

La taxonomie des entérobactéries est la suivante :

1. **Règne:** Bacteria
2. **Embranchement :** Proteobacteria
3. **Classe :** Gammaproteobacteria
4. **Ordre :** enterobacterales
5. **Famille :** enterobacteriaceae

Pour les genres de la famille des Enterobactériaceae, on retrouve plus d'une quarantaine, les plus importants et les plus isolés en microbiologie clinique sont : *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Shigella*, *Salmonella* [11]

I.II. Caractères bactériologiques:

I.II.1. Caractères morphologiques :

Les entérobactéries répondent aux caractères morphologiques suivants : [12]

- Ce sont des bacilles Gram négatifs
- Elles ont une longueur de 1,0 à 6,0 µm et un diamètre de 0,3 à 1,0 µm
- Elles ont une ciliature péritriche pour les formes mobiles
- Non sporulées, parfois on rencontre des formes capsulées (*Klebsiella spp*)

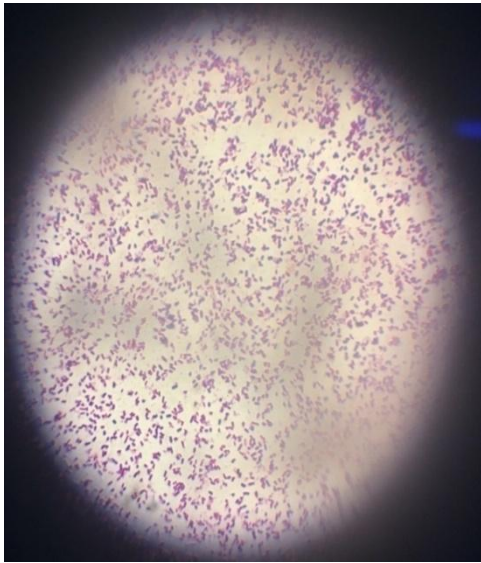


Figure 1: coloration de gram *Escherichia coli* vue par microscope optique, G*100 [originale]



Figure 2 : Aspect microscopique d'*Escherichia coli* sous microscope électronique [13]

I.II.2.Caractères cultureux :

L'ensemble de ces bactéries pousse habituellement très aisément sur milieux ordinaires, la température optimale de croissance est généralement de 35° à 37°C à l'exception des *Yersinia* (30° à 37°C), des *Pantoea* et des *Erwinia* (27° à 30°C).

Elles sont toutes aéro-anaérobies facultatives encore que certaines *Erwinia* puissent donner une culture plus lente en anaérobiose

L'aspect général des colonies de ces bactéries sur gélose nutritive est florissant : colonie de 1 à 3mm de diamètre généralement bombées, lisses et brillantes (de nombreuses exceptions existent) [14]

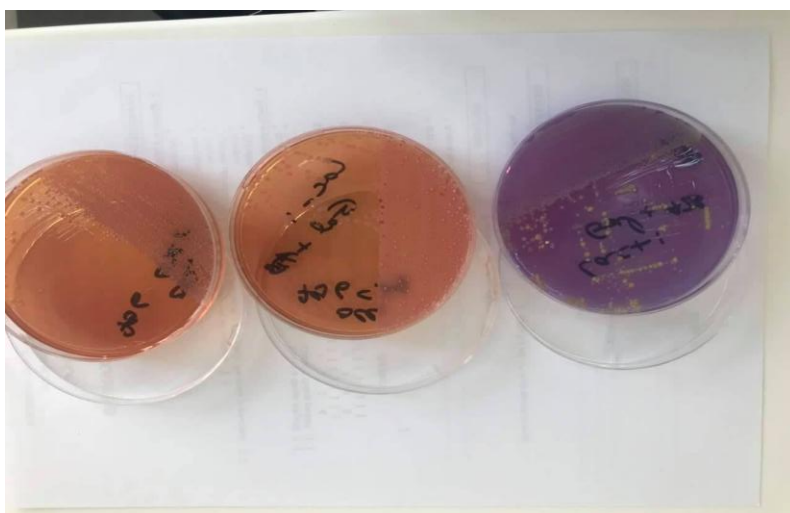


Figure 3: Aspect des entérobactéries sur gélose spécifique, (BCP à droite: colonie: jaune lac+, colonie incolore: lac-; MacConkey à gauche) [originale]



Figure 4: Aspect des entérobactéries sur Hektoen [originale]

I.II.3.Caractères biochimiques et identification des entérobactéries :

Malgré leur diversité enzymatique, les entérobactéries possèdent en commun les caractères biochimiques suivants: [12]

- Oxydase négative
- catalase positive
- nitrate réductase positive
- Fermentation du glucose avec ou sans gaz (glucose +)

L'identification par des techniques de biologie moléculaire n'est pas encore à la portée de tous les laboratoires. La recherche des caractères généraux de la famille et la recherche des caractères biochimiques demeurent les moyens d'identification couramment mis en œuvre. C'est dans le domaine des Enterobactériaceae que l'évolution technologique a été la plus importante en bactériologie médicale. L'ère des galeries d'identification en tubes est quasi révolue en pratiques quotidienne pour faire place à celle des galeries miniaturisées (système API)



Figure 5 : galerie API 20E bioMérieux, [originale]



Figure 6 : aspect de la galerie API 20E après l'ajout de la suspension bactérienne (avant incubation) [photo originale]

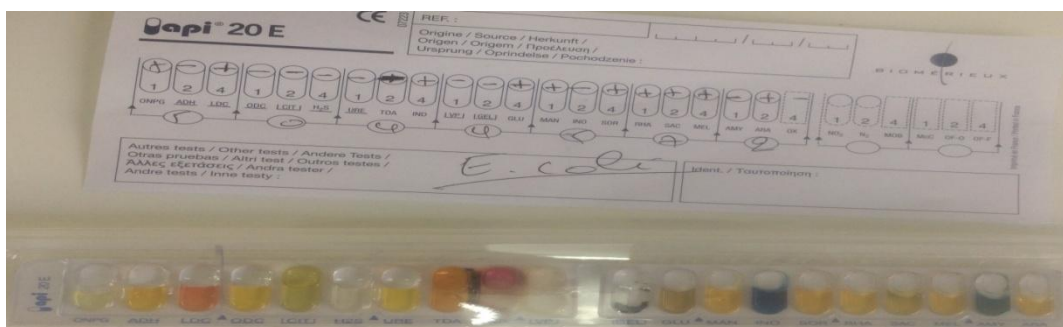


Figure 7 : aspect de la galerie après incubation, Escherichia coli détectée [originale]

I.II.4.Caractère antigéniques :

L'identification biochimique doit être complétée pour certains genres (*Salmonella*, *Shigella*) par la sérotypie. Celles-ci n'ont de sens qu'une fois le genre ou l'espèce déterminé, car les communautés antigéniques inter-espèces et inter-genres sont nombreuses. Les entérobactéries possèdent plusieurs types d'antigènes différents : [14]

- Antigène de kunitz ou Enterobacteriaceae Common Antigen ECA constitué d'un glycophospholipide spécifique des enterobactéries
- Antigènes O : antigène de paroi constitué de LPS thermostable, perdu chez les souches R (colonies rugueuses) qui deviennent auto-agglutinables en eau distillée
- Antigène H : antigène flagellaire (bactéries mobiles) constitué de flagelline thermolabile
- Antigène K : antigène capsulaire (*Klebsiella* et certaines souches d'*E.Coli*, *Shigella*, *Citrobacter* et *Salmonella* <antigène V> constitué de couches externes des polysaccharides qui peuvent masquer l'Ag O
- Antigènes d'adhésines (pili, fimbriae)

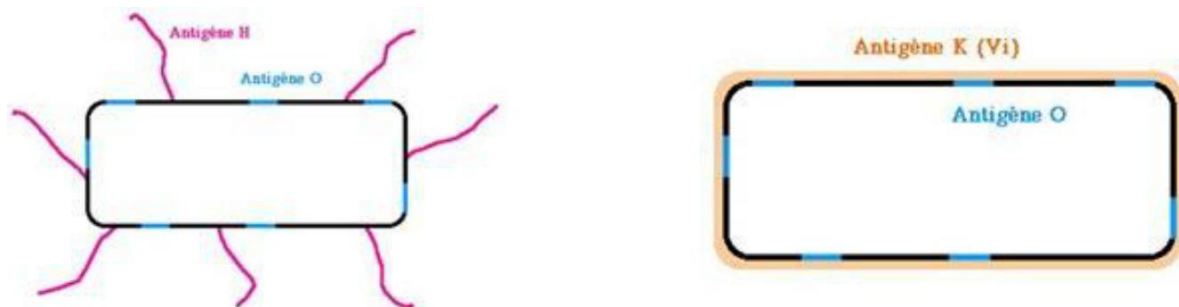


Figure 8: localisation des antigènes O, H et K sur la paroi des entérobactéries [17]

I.III.Habitat:

Les entérobactéries sont des commensales du tube digestif de l'homme et de l'animal d'où leur appellation mais elles sont aussi très répandues dans l'environnement [16]

Au niveau de l'intestin, les entérobactéries représentent une fraction importante de la flore aérobie de l'intestin, elles se retrouvent en grand nombre au niveau du colon (du caecum au rectum).

L'espèce *Escherichia coli* joue un rôle important en raison de sa présence constante et dominante sur les autres espèces, elle constitue 80% de la flore aérobie avec une concentration avoisinant les 10^8 *E.coli*/g de selles, d'autres espèces ont une présence moins marquée tel les *Proteus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Providencia* et *Enterobacter*. [17]

I.IV.Pouvoir pathogène:

Les entérobactéries sont responsables de deux grands types de manifestations pathologiques:

- Pathologie spécifique : par exemple : la typhoïde avec *Salmonella typhi*
- Pathologie opportuniste : principalement dans le cadre d'infections associées aux soins

Les classes les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres : *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia*.

D'autres genres peuvent être isolés rarement ou exceptionnellement chez l'homme : *Cedecea*, *Ewingella*, *Erwinia*, etc. [14]

Il est à savoir que les pathologies (infections) opportunistes peuvent revêtir plusieurs aspects cliniques à savoir :

- Infections urinaires
- Infections génitales
- Septicémies
- Méningites
- Suppurations et abcès.

I.V.Transmission et acquisition des entérobactéries et des entérobactéries multi-résistantes :

La transmission des entérobactéries et plus particulièrement des EMR peut se faire selon plusieurs modalités.

L'utilisation des antibiotiques favorisant une pression de sélection et le manque d'hygiène au niveau hospitalier facilitent leur transmission.

Tout d'abord, l'acquisition des EMR, peut-être :

- Endogène dite <<verticale>> : elle se fait par sélection d'un mutant résistant au sein de la flore bactérienne commensale. Cette sélection se fait à la faveur d'un facteur favorisant, principalement les antibiotiques qui sélectionnent les souches résistantes au sein de cette flore, de par une pression dite : pression de sélection.
- Exogène dite <<horizontale>>, c'est-à-dire par transmission croisée entre le réservoir et l'hôte, soit :

- Directement
- Indirectement : par l'intermédiaire d'un vecteur (manuportée, aérien...)

L'intensité de cette transmission croisée est dépendante de la pression de colonisation (importance quantitative du réservoir) chez l'hôte et son environnement, mais aussi de la durée d'exposition au pathogène, de facteurs liés à l'hôte, et des efforts et dispositions mis en place pour la diminuer.

Le risque de transmission est accru en présence de diarrhée, incontinence, présence de dispositifs invasifs et plaie avec écoulement. [18]

La pression de sélection croissante et la transmission croisée sont les principales explications de l'émergence et de la dissémination des EMR.

La transmission croisée des EMR dans l'environnement est très importante du fait de l'importance de leur réservoir à savoir : le tube digestif, notamment en lien avec le péril fécal[19]

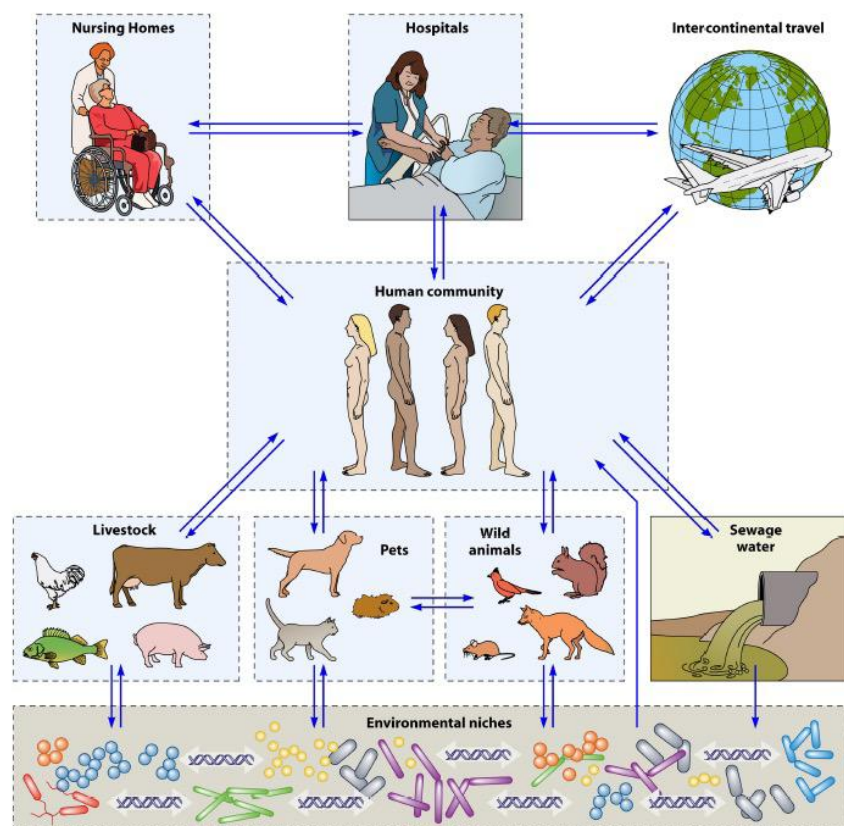


Figure 9: mode de transmission des entérobactéries [18]

CHAPITRE II : LA RESISTANCE DES ENTEROBACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques

Les entérobactéries présentent un grand nombre de résistances naturelles, elles acquièrent très aisément de nouveaux mécanismes d'antibio-résistance, le cumul de ces résistances naturelles et acquises mènera aux situations de multi-résistance des entérobactéries, d'ultra-résistance voir même de toto résistance. [20]

II.1. Résistance naturelle :

Le comportement des entérobactéries vis-à-vis des différents antibiotiques a permis de définir la résistance naturelle, caractérisée par la stabilité au sein du même genre et définissant ainsi le phénotype sauvage.

La résistance naturelle est aussi d'une grande aide à la démarche d'indentification des Enterobactériaceae. Toute divergence entre d'identification biochimique et le phénotype de résistance doit interpeller le biologiste et l'amener à vérifier l'identification du germe.

Par exemple les membres de la tribu des Proteae sont naturellement résistants aux nitrofuranes et à la colistine

Le comportement des entérobactéries vis-à-vis des beta-lactamines (Annexe N°2) (famille d'antibiotiques de choix pour le traitement des infections dues aux entérobactéries) a permis de décrire 4 classes de beta-lactamases en 1980 :

- Celles qui ne produisent pas naturellement de beta-lactamases (sensible) comme *Salmonella* et *Proteus Mirabilis*, ou produisent une céphalosporinase à très bas niveau comme *Escherichia coli* et *Shigella* (classe 1)
- Celles qui produisent naturellement une pénicillinase comme *Klebsiella*, *Citrobacter diversus* etc (classe 2)
- Celles (les plus nombreuses) qui produisent naturellement une céphalosporinase (classe 3)
- Celles qui produisent à la fois une pénicillinase et une céphalosporinase à la fois comme *Yersinia enterocolitica* (classe 4) [13]

Actuellement, jusqu'à sept phénotypes de résistance naturelle allant de G0 à G6 (groupe 0 au groupe 6) ont été identifiés chez certains espèces des entérobactéries.

Tableau1: Entérobactéries et ATB : phénotypes de résistance naturelle R, résistant ; R*, résistance hétérogène observée dans plusieurs sous-groupes phylogénétiques.[21]

ESPECES	AMP	AMC	TIC/ PIP	C1G	FOX	CXM	GEN	TOB	TET	TIG	COL	NIT
<i>C. freundii</i> , <i>C. braakii</i> , <i>C. murliniae</i> , <i>C. werkmanii</i> , <i>C. youngae</i>	R	R		R	R							
<i>C. amalonaticus</i> , <i>C. sedlakii</i> , <i>C. farmeri</i> , <i>C. rodentium</i>	R		R	R		R						
<i>E. aerogenes</i>	R	R		R	R							
<i>E. cloacaecomplex</i>	R	R		R	R						R	
<i>E. hermannii</i>	R		R									
<i>H. alvei</i> , <i>H. paraalvei</i>	R	R		R							R*	

<i>Klebsiella</i> spp., <i>Raoultella</i> spp., <i>C. koseri</i>	R		R						
<i>M. morganii</i>	R	R		R			R	R	R
<i>P. mirabilis</i>							R	R	R
<i>P. vulgaris</i> , <i>P. penneri</i>	R			R	R		R	R	R
<i>P. rettgeri</i>	R	R		R	R		R	R	R
<i>P. stuartii</i>	R	R		R	R	R	R	R	R
<i>S. marcescens</i>	R	R		R	R	R	R	R	
<i>Y. enterocolitica</i>	R	R	R	R	R				

Tableau 2 : groupes d'entérobactéries selon la résistance aux beta-lactamines [original]

^aS/I : sensible ou intermédiaire (résultat en fonction de l'espèce et de l'isolat) ^bR/I/S : résistante ou intermédiaire ou sensible (résultat en fonction de l'espèce et de l'isolat) ^cS→I : tous les résultats sensibles interprétés intermédiaires ^dS→I : tous les résultats sensibles interprétés intermédiaires si le test de synergie est positif pour au moins une C3G, une C4G, ou l'aztréonam.

Groupes	Gr 0	Gr 1	Gr 2	Gr 3	Gr 4	Gr5	Gr 6
Mécanisme de résistance	Sensible (case-)	Céphalosporines de classe C non inducible	Pénicillines de bas niveau	Céphalosporines de bas niveau	Céphalosporines de classe C et pénicillinase de classe A	Céphalosporines de classe A inducible = céfuroxime	BLSE chromosomique de bas niveau
Entérobactéries	<i>Salmonella</i> spp- <i>P.mirabilis</i>	<i>E.coli</i> <i>Shigella</i> spp	<i>K. pneumoniae</i> <i>K. oxytoca</i> <i>C. koseri</i> <i>C. amalonaticus</i> <i>E. hermani</i>	<i>E. cloacae</i> <i>E. acrogenes</i> <i>C. freundii</i> <i>M. morganii</i> <i>H. Alvei</i> <i>P. rettgeri</i> <i>P. agglomerans</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Serratia Fonticola</i>	<i>P. Vulgaris</i> <i>P. penneri</i>	<i>K. ascorbans</i> <i>K. Cryocrescens</i> <i>K. Georgina</i> <i>R. Aqualitis</i> <i>C. Sedlakii</i> <i>E. persicina</i>
Peni A	S	S/I ^a	R	R	R	R	R/I→I
PeniA+Ac. Clavulanique	S	S/I ^a	S	R	R	S	S/I ^a
Ticarcilline	S	S	R	S	R	S	R/I→I
Ticarcilline+Ac. clavulanique	S	S	S	S	S	S	S
Pipéracilline	S	S	S→I ^c	S	S→I ^c	S	I/S ? I
Pipéracilline+t azobactame	S	S	S	S	S	S	S
C1G	S	S/I ^a	S	R	R	R	R/I
C2G	S	S	S	R/I/S ^b	S	R	R/I/I→I
Céfoxitine	S	S	S	R/I/S ^b	S	S	S
C3G	S	S	S	S	S	S	S→I ^d /I
C4G	S	S	S	S	S	S	S→I ^d /I
Carbapénèmes	S	S	S	S	S	S	S

II.2. Résistances acquises des entérobactéries :

Ce terme est utilisé pour désigner des processus permettant à des bactéries appartenant à une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques. Cette résistance acquise peut provenir par une mutation chromosomique (plutôt rare) [22], ou par l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides (plutôt fréquent), d'intégrons ou de transposons [23]

On parle de transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation.

Les entérobactéries utilisent différents mécanismes d'antibio-résistance, il peut s'agir de [24]:

- troubles de perméabilité pour les antibiotiques, ce qui empêche la pénétration de L'antibiotique dans la bactérie,
- systèmes d'efflux qui permettent d'évacuer les antibiotiques qui auraient pénétré dans la bactérie,
- modification de la cible bactérienne de l'antibiotique,
- Mais le plus souvent, il s'agit d'enzymes détruisant l'antibiotique. Exemple : les bêta-lactamines sont désactivés par les beta-lactamases.

II.1. Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération :

L'expansion de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3eme génération constitue probablement l'un des faits les plus marquants des deux dernières décennies en matière d'antibio-résistance humaine et animale.

Cette résistance est assurée principalement par :

- La production de beta-lactamase à spectre étendu (BLSE)
- Céphalosporinase hyper-produite (AmpC)

II.1.1. Par production de beta-lactamase à spectre étendu :

Les BLSE sont des enzymes à large spectre, appartenant en majorité aux **classes A de la classification d'Ambler et 2^{de} de Bush-Jacoby-Medeiros**. (Annexe N°1 :)

Certains auteurs considèrent également les bêta-lactamases des classes D et 2^{de} (de type OXA) comme des BLSE. [25]

Les BLSE confèrent une résistance à toutes les pénicillines, aux céphalosporines de 1^{ere}, 2^{eme} et 3^{eme} génération et à certaine céphalosporine de 4^{eme} génération (céfépime ou ceftépime), elles sont inhibées par l'acide clavulanique, tazobactam et le sulbactam.

A l'inverse, les entérobactéries productrices de BLSE restent habituellement sensibles aux céphamycines (cefoxitine) et aux carbapénèmes. Cependant, le phénotype de résistance varie avec la nature de la BLSE produite et selon leur niveau de production. [26]

Les souches d'entérobactéries productrices de BLSE sont, dans leur très grande majorité, aussi résistantes aux autres familles d'antibiotiques, notamment aux fluoroquinolones et au cotrimoxazole [27]

Les gènes codant pour ces enzymes sont principalement situés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons...), expliquant la rapidité de leur diffusion.[28]

Le premier isolat producteur de BLSE à transmission plasmidique a été observé en Allemagne en 1983 et rapidement après aux états unis [29].

Cette bêta-lactamase a été tout d'abord identifiée chez une souche de *Klebsiella pneumoniae*. Cette enzyme s'est rapidement et facilement transmise aux autres espèces dont *l'Escherichia coli*. Par la suite, l'augmentation spectaculaire de la résistance des bactéries aux β -lactamines a été largement associée à la propagation des BLSE. [30] [31] [32]

II.1.2.Par production de céphalosporinase hyper-produite (AmpC) :

Entérobactéries productrices de céphalosporinases chromosomiques de haut niveau (ou β -lactamases de type AmpC).

Un certain nombre d'entérobactéries sont naturellement résistantes à l'amoxicilline, à l'augmentin (association amoxicilline - acide clavulanique) et à la céfalotine (+/- certaines céphalosporines de 2^{ème} génération) par sécrétion d'une céphalosporinase chromosomique.

L'expression de cette céphalosporinase est médiée par le gène Amp-C. Plus de 20 bêta-lactamases de type Amp-C différentes ont été retrouvées. L'hyper-sécrétion de l'AmpC entraîne une résistance de haut niveau aux lactamines

Seule la sensibilité à la céfépime (**qui est une céphalosporine de 4^{ème} génération**) et aux carbapénèmes est maintenue.

La production de cette enzyme est sous le contrôle d'un système régulateur inductible codé principalement par deux gènes : *ampD*, *ampR* ;

Le niveau d'expression du gène *ampC* est contrôlé par le gène *ampR* (répresseur).

A l'état normal, le niveau d'expression de la céphalosporinase est faible.

Une augmentation transitoire et réversible de la production de la céphalosporinase peut être observée en présence d'antibiotiques inducteurs comme la céfoxitine ou l'imipénème.

AmpD a un effet inhibiteur sur AmpR. Des mutations dans la protéine AmpD aboutissent à l'hyperproduction constitutive d'AmpC par levée de l'inhibition du répresseur AmpR. Cette sécrétion peut être augmentée alors d'un facteur d'environ 1000. [28][33]

A l'inverse des E-BLSE, qui sont inhibés par : l'acide clavulanique, tazobactam et le sulbactam, les céphalosporinases AmpC ne sont pas inhibés par ces inhibiteurs. [34]

II.II. Entérobactéries productrices de carbapénémases :

Les carbapénémases produites par les entérobactéries appartiennent aux trois classes connues de bêta-lactamases (**classe A, B et D de la classification de Ambler**). (Annexe N°1)

Dont les différences ont non seulement un intérêt génétique et biochimique, mais aussi clinique, car le profil de résistance et l'épidémiologie de ces souches diffèrent. [35]

Actuellement, les carbapénémases les plus importantes en microbiologie clinique sont : [36]

- les carbapénémases de type KPC (*Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémases) (classe A)
- les métallobêta-lactamases (classe B) de type : VIM (Verona Intégron Métallo – lactamase)
- IMP (imipénémase)
- plus récemment NDM (New Delhi métallobêta-lactamase)
- et les oxacillinases (classe D) de type OXA-48

La plupart des carbapénémases hydrolysent les bêta-lactamines et les céphalosporines, mais aussi les monobactames et les carbapénèmes [37]

- **Beta-lactamase de classe A**

Chromosomique ou plasmidique Caractère épidémiogène > hyperCase Différents types
niveaux de résistance ≠ NmcA, Sme-1..., IMI-1..., SFC-1 GES (*K. pneumoniae*, *E. coli*)
Hydrolysent faiblement les carbapénèmes KPC (*Klebsiella pneumoniae*)
Hydrolyse toutes les bêta-lactamines

- **Beta-lactamases de classe B**

Métallo-bêta-lactamases Résistances portées par plasmides, transposons, intégrons
IMP, VIM, GIM, KHM, NDM Hydrolysent fortement toutes les bêta-lactamines (sauf
aztreonam)

- **Beta-lactamases de classe D**

Oxacillinase : spectre restreint Sauf OXA : hydrolyse fortement les carbapénèmes, mais pas
les C3G

II.III. Entérobactéries résistantes à la colistine :**II.III.1. Rappel sur la Colistine :**

Les polymyxines sont des antibiotiques naturellement produits par différentes espèces de *Paenibacillus*. Il existe cinq classes de polymyxines mais seulement deux sont utilisées en thérapeutique : la polymyxine B et la polymyxine E (colistine) [38]

La colistine est un polypeptide de la famille des polymyxines du groupe E, produit par *Bacillus polymyxa* subspecies *colistinus*, découverte en 1947 par le chercheur japonais Yasuhiro Koyama [39]

Puis à partir des années cinquante qu'elle a été introduite pour le traitement des infections à bacilles Gram négatif [40]

La colistine agit en se liant aux lipopolysaccharides (LPS), composant de la membrane externe, uniquement présente chez les bacilles à Gram négatif. Son mécanisme d'action, non totalement élucidé, peut être expliqué par trois modes distincts et concomitants :

- lyse des membranes bactériennes (mode principal),

Le lipide A (présent au niveau de la membrane externe de la bactérie) joue un rôle majeur dans le mode d'action de la colistine.

En effet, les chaînes d'acides gras du lipide A (chargé négativement) permettent l'ancrage de l'antibiotique dans la membrane externe de la bactérie. De plus, il interagit avec des cations divalents (Ca^{2+} et Mg^{2+}) présents à la surface de la membrane externe.

Ses cations divalents forment alors des ponts entre les molécules de LPS permettant ainsi la stabilisation globale de la membrane externe.

L'affinité du LPS pour la colistine étant supérieure à celle du LPS pour les cations divalents (Ca^{2+} et Mg^{2+}), une interaction électrostatique a lieu dans un premier temps entre le LPS, chargé négativement, et l'antibiotique chargé positivement.

La colistine est donc capable de déplacer les cations de leur site de liaison déstabilisant la structure de la membrane externe. Après cette étape initiale d'interaction électrostatique, les molécules d'antibiotiques s'insèrent dans la membrane externe à proximité du lipide A via leur chaîne d'acides gras N-terminale.

Les brèches ainsi formées permettent le passage de molécules hydrophobes, de petites protéines et facilitent également l'insertion d'autres molécules d'antibiotique, il en résulte la formation de zones membranaires très déstabilisées au travers desquelles quelques molécules de colistine peuvent traverser la membrane externe.

La colistine est alors capable de lyser la membrane cytoplasmique de la bactérie, induisant sa mort (effet bactéricide).

- contact « vésicule-vésicule » :

La membrane externe est composée d'un feuillet interne uniquement phospholipidique et d'un feuillet externe contenant essentiellement le LPS, des protéines et des lipoprotéines. Après avoir franchi la membrane externe, les polymyxines se retrouvent dans l'espace inter-membranaire où elles sont capables de se lier aux phospholipides anioniques composant à la fois le feuillet interne de la membrane externe et le feuillet externe de la membrane interne (ou membrane cytoplasmique) de la bactérie. L'échange de lipides entre les deux membranes

(externe et interne) induit une perte de spécificité dans la composition des membranes. Ceci aboutirait à un déséquilibre osmotique responsable de la lyse de la bactérie.

- formation de radicaux libres :

La colistine peut induire un stress oxydatif entraînant la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) tels que des ions superoxydes (O_2^-), du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des radicaux hydroxyles (OH).

Les ions O_2^- seraient produits lors de la traversée de la membrane externe et interne par la colistine avant d'être transformés en H_2O_2 par la superoxyde dismutase (SOD) de la bactérie.

Le H_2O_2 oxyde alors les ions ferreux (Fe^{2+}) en ions ferriques (Fe^{3+}), induisant la formation de radicaux (OH).

Des taux élevés d'OH sont alors responsables de dommages au niveau de l'ADN (cassure), des protéines (oxydation) et de lipides (oxydation), aboutissant à la mort de la bactérie

Ces trois mécanismes aboutissent à la mort de la bactérie [38]

La colistine a été utilisée jusqu'aux années quatre vingt par la suite a été écartée des protocoles thérapeutiques du fait de l'apparition de nouvelles molécules telles que les céphalosporines de troisième génération mais surtout en raison de sa toxicité rénale. [41]

Son utilisation est restée exceptionnelle chez les patients atteints de mucoviscidose pour contrôler les complications infectieuses [42]

Depuis l'émergence de bactéries multi-résistantes dont *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes et l'absence de nouveaux antibiotiques efficaces contre ces bactéries, un regain d'intérêt de l'utilisation de la colistine a été observé. [43]

En 2012, elle est redevenue l'antibiotique prescrit pour le traitement d'infections humaines sévères liées à des bactéries résistantes à toutes les autres options thérapeutiques. [44]

Malheureusement, des dernières années, des souches résistantes à la colistine ont fait leur apparition, ce phénomène semble être fortement lié à une utilisation excessive de la molécule et à des doses non optimales favorisant ainsi, la pression de sélection. [45] [46] [47] [38].

Cette résistance, a émergé principalement dans les pays où la prévalence des entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) est importante, ainsi, où la consommation de la colistine est élevée. [48] [49]

II.III.2. La résistance des entérobactéries aux polymyxines :

La résistance acquise des entérobactéries aux polymyxines et plus précisément à la colistine, peut être :

- Soit une résistance chromosomique
- Soit une résistance plasmidique

II.III.2.1. Résistance chromosomique

Cette résistance est essentiellement liée à des altérations chromosomiques touchant divers gènes.

Ces altérations ont pour principal objectif de conduire à des modifications de charge du LPS ou à une perte du LPS, ce qui va empêcher la fixation de la colistine.

Chez les entérobactéries, les modifications du LPS sont régulées par deux systèmes appelés PhoP/PhoQ (lui-même régulé par la protéine transmembranaire MgrB) et PmrA/PmrB.

L'apparition de mutations, délétions ou insertions sur ces gènes est responsable de l'antibio-résistance. [38] [50]

II.III.2.2. Résistance plasmidique :

En 2015, le premier mécanisme de résistance plasmidique à la colistine a été décrit en Chine chez l'animal (le porc) sur une souche d'*Escherichia coli*. Ensuite a été décrit la présence de ce gène aussi chez l'homme et dans l'alimentation.

Ceci implique un risque de diffusion par transfert horizontal, de plus, taux de transfert des plasmides portant mcr-1 a une valeur élevée, de l'ordre de 10^{-1} à 10^{-3} .

Le gène correspondant, mcr-1, code pour une phosphoéthanolamine transférase plasmidique, qui catalyse l'addition de phosphoéthanolamine sur le lipide A conférant un bas niveau de résistance à la colistine (concentration minimale inhibitrice (CMI) comprises entre 4 mg/L et 8 mg/L). [51]

Il est recommandée de tester la résistance à la colistine et de rechercher, en cas de résistance, la présence des gènes mcr chez toute souche d'EPC isolée soit lors d'un dépistage ou soit dans un prélèvement à visée diagnostique [52]

II.IV. Les entérobactéries multi-résistantes :**II.IV.1.Définition des entérobactéries multi-résistantes :**

Une entérobactérie est considérée comme multi-résistante [Multi Drug Resistant] : si elle est résistante à 3 ou 4 des 6 groupes d'antibiotiques mentionnés ci-dessous [53] :

- Tobramycine ou gentamycine
- Ciprofloxacine
- Céfotaxime ou ceftriaxone ou ceftazidime
- Triméthoprime/ sulfaméthoxazole
- Imipénème ou méropénème
- Pipéraciline-tazobactam

II.IV.2.Définition des Entérobactéries ultra-résistantes :

Quant aux entérobactéries dites ultra-résistantes appelés aussi extensively Drug Resistant XDR, ce sont celles qui présentent une résistance à 5 ou 6 groupes des antibiotiques énumérés ci-dessus. [53]

II.IV.3.Définition des Bactéries Hautement Résistantes émergente :

Ce sont des bactéries apparues y'a quelques années, et qui sont responsables d'infections nosocomiales, elles comprennent :

- Entérocoques résistantes aux glycopeptides (ERG) par mécanisme de type van A ou van B
- Entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC), actuellement les principales sont : *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* et *Citrobacter freundii*

Des conditions ont été mises en place afin de classer les bactéries comme BHRe:

- Commensale du tube digestif
- Résistante à de nombreux antibiotiques
- Mécanisme de résistance transférable entre bactéries
- Emergente selon l'épidémiologie connue, n'ayant diffusé que sur des modes sporadiques ou épidémiques limitées [54]

II.IV.4.La toto-résistance des Entérobactéries :

Ce sont des souches d'entérobactéries appelées pan-résistantes {PDREB Pan Drug Resistant enterobacteriaceae} car résistantes à toutes les molécules antibiotiques disponibles y compris la molécule considérée comme celle du dernier recours à savoir la colistine. [55]

**CHAPITRE III
PORTAGE DES
ENTEROBACTERIESMULTI-
RESISTANTES**

La formidable plasticité bactérienne conjuguée à la pression de sélection antibiotique, et un respect insuffisant des précautions standard d'hygiène ou encore la prise en charge de patients très fragilisés ou hospitalisés au long cours ont contribué ces dernières années à l'émergence de souches bactériennes à fort pouvoir de diffusion, notamment des souches classées comme bactéries multi résistantes (BMR) dont les EMR.

Il paraît impossible de les éradiquer, mais il faut néanmoins essayer de contrôler au mieux leur diffusion.

De plus, ces bactéries possèdent un pouvoir « épidémiogène » particulièrement important qui peut avoir des conséquences redoutables, tant à titre individuel qu'à titre collectif, avec des retombées financières et politico-médiatiques majeures.

La politique de mise en œuvre de dépistage dans chaque établissement permettrait un meilleur contrôle de ces EMR, et qui dépend du risque de transmission et de l'épidémiologie locale. Elle s'appuie sur l'incidence de chaque EMR dans les prélèvements à visée diagnostic et sur l'identification de cas groupés [56].

À ce titre, le laboratoire de microbiologie doit être en première ligne pour identifier les patients porteurs de ces EMR et alerter le clinicien et l'équipe soignante qui mettront alors en œuvre les mesures ad hoc de contrôle d'une épidémie potentielle : rappel des précautions standards, mise en œuvre de précautions complémentaires de type contact, isolement géographique des patients, cohorting, surveillance et décontamination environnementales éventuelles, etc.

III.I.Objectifs et importance du dépistage :

Il est important de connaître le statut des patients vis-à-vis des EMR afin de :

- Mettre en œuvre les précautions complémentaires de type <<contact>> en complément des précautions standard (dépistage d'entrée)
- Identifier rapidement une transmission au sein d'un secteur de soin (dépistage d'intérêt itératifs) ou d'une communauté ; En contexte épidémique, l'objectif est de produire un résultat rapidement. L'efficacité du dispositif réside dans la rapidité de la mise en place des précautions complémentaires.
- Mesurer l'épidémiologie d'un secteur d'hospitalisation (dépistage à la sortie de l'unité de soin)
- Réaliser une décontamination cutanée ou digestive avant un geste invasif, par exemple en préopératoire.

L'évaluation de l'impact des mesures de dépistage dans la maîtrise du risque de transmission d'EMR est difficile et la littérature sur le sujet repose principalement sur les études de faible niveau de preuve et sur des recommandations d'experts.

III.II.Définition du portage des entérobactéries multi-résistantes :

Le portage des EMR est définie par : la présence, la croissance et la multiplication de ces EMR (entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération, entérobactéries productrices de carbapénèmases et entérobactéries résistantes à la colistine) chez une personne, sans observer aucun signe clinique et/ou symptôme de l'infection, la majorité des patients qui contractent une entérobactérie multi-résistantes sont plus colonisées qu'infectées [57].

III.III.Causes induisant le portage:

- **L'utilisation des antibiotiques :**

Impact des antibiotiques sur le portage des EMR est divisé en deux :

- Impact quantitatif : perte de diversité.

Les effets des antibiotiques sur le microbiote intestinal dépendent de la concentration des ATB au niveau du colon ou de ses métabolites actifs et de l'activité de ces ATB sur l'espèce bactérienne présente. Ainsi l'ATB agit sur les bactéries sensibles provoquant : soit leur mort (effet bactéricide), soit leur croissance sera bloquée (effet bactériostatique) ne laissant le système digestif colonisé que par les espèces résistantes à ces ATB. Ces dernières se trouveront seules, facilitant ainsi leur développement et multiplication. [58][59][60]

- Impact qualitatif : perte d'effet de barrière.

Aussi décrit dans la littérature, l'effet de la barrière intestinale est exercé principalement par les anaérobies, ainsi les ATB ayant une bonne activité sur les anaérobies tels que la clindamycine, peuvent affecter puissamment la capacité d'empêcher la colonisation par les bactéries multi-résistantes notamment les entérobactéries multi-résistantes ; dans une étude, un groupe a signalé que la densité des entérobactéries résistantes augmentait sous l'exposition à des antibiotiques actifs sur les anaérobies, dans ce cas les entérobactéries occupaient les niches qui semblaient être laissés par les anaérobies[61] [62] [63]

- **La transmission des entérobactéries :**

La transmission des entérobactéries multi-résistantes entre : les patients eux-mêmes, patient-personnel, patient-visiteur, environnement-patient, est favorisée par leur réservoir << système digestif >>, ce dernier participe au portage et à la dissémination des entérobactéries multi-résistantes qui est fait d'une manière rapide et facile.

- **La remarquable capacité d'adaptation des entérobactéries :**

L'intelligence bactérienne réside dans sa capacité à s'adapter aisément et d'une manière efficace lorsqu'elle est en contact d'un ATB, son génie adaptatif lui permet à travers : des plasmides, des transposons et des mutations de développer de nouvelles résistances non encore connues pour cette espèce décrivant ainsi une résistance acquise favorisant ainsi une toto-résistance et un échec thérapeutique [64]

III.IV. Les facteurs de risques de portage des entérobactéries multi-résistantes et les patients à prélever :

Selon la littérature et les différentes études microbiologiques portant sur la prévalence, le portage et l'acquisition des EMR, différents facteurs peuvent être incriminés dans la prévalence du portage des EMR, dont les principaux sont : [56][70] [71] [72]

- Un antécédent récent d'antibiothérapie longue ou utilisant plusieurs antibiotique
- Une antibiothérapie utilisant une céphalosporine de 3ème génération
- Une hospitalisation dans les services à haut risque d'acquisition d'EMR (service de la réanimation, onco-hématologie, EPAHD, etc.)
- Un voyage récent dans une zone connue à forte prévalence d'EMR
- Une hospitalisation à l'étranger (dans les 12 mois précédent)
- Un rapatriement sanitaire depuis l'étranger
- Un transfert inter-service dans le même établissement hospitalier
- Etre en contact d'une personne connue porteuse d'EMR
- Exposition à des dispositifs invasifs (cathéters veineux, tube endotrachéal ...)

III.V. Politique et Prélèvements de dépistage-portage des EMR

III.V.1. Quand prélever et dans quels services ?

Les services concernés par les prélèvements de dépistage sont présentés dans le tableau N°3.

La fréquence de prélèvement en cours d'une hospitalisation est fonction de la durée moyenne de séjour et de situation épidémiologique (toutes les semaines en réanimation et en onco-hématologie, par exemple)

En cas de situation épidémique, la fréquence de dépistage s'effectuera selon un rythme défini avec un dépistage de sortie qui doit, si possible, être poursuivi après transfert du patient dans un autre secteur d'hospitalisation ou dans un autre établissement

Il est recommandé de ne pas réaliser de dépistage systématique dans les secteurs à faible fréquence de BMR [14]

Le service d'onco-hématologie et le service de réanimation présentent un risque élevé d'acquérir les bactéries multi-résistantes notamment les entérobactéries multi-résistantes, à cause de l'utilisation trop importante des ATB induisant une pression de sélection, le dépistage pour ces deux services doit être systématique afin de déceler les porteurs d'EMR ou d'EPC ainsi mettre en place les précautions standards et complémentaires rapidement.

Soins de suite et de réadaptation –SSR- : il s'agit d'une unité qui accueille des personnes de plus de 60 ans nécessitant des soins de convalescences et rééducation, la durée de séjour dans ce type de structure est limitée à 30 jours, mais qui peut être renouvelé dans le besoin avec l'accord du médecin de la structure.

Soins de longue durée –SLD- : cette unité est conçue pour héberger de façon prolongée, des personnes âgées souffrant de pathologies multiples et évolutives ou des personnes présentant des risques importants et fréquents de rechute, par exemple : psychiatrie, les établissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes –EHPAD-, maison d'accueil spécialisée –MAS-.

Pour les deux unités SSR et SLD, le dépistage n'est pas indiqué de manière systemique mais seulement en cas d'épidémie déjà installée ou récente, en cas d'identification de porteurs d'EMR ou d'EPC, les précautions d'hygiène adaptées au projet de soins et à la rééducation mais aussi à la nécessité d'une vie sociale.

Soins de courts séjours (hors réanimation) : par exemple, le service de gynécologie-obstétrique, service de chirurgie, etc. le dépistage est indiqué de façon ponctuelle ou en situation épidémique à cause des particularités que ce genre de services présente, on cite : transfert interne, transfert entre établissement de santé médicaux et sociaux.[68] [69]

Tableau 3 : Les services concernés par le dépistage [58]

	Réanimation et onco-hématologie	Court séjours (hors réanimation)	Soins de suite et réadaptation – SSR-	Soins de longue durée – SLD-
A l'admission	Patients à risque (SARM, BHRe) En situation épidémique installée ou récente			Non
En cours d'hospitalisation	Uniquement si dépistage à l'entrée	Non	Non	Non
A la sortie de l'unité	Non	Uniquement en situation épidémique installée ou récente	Non	Non

III.V.2.Quels sites prélever pour le dépistage des EMR ?

Le meilleur site anatomique pour la recherche des entérobactéries multi-résistantes est l'écouvillon rectal ou anal, du fait que le système digestif constitue le réservoir des entérobactéries, le prélèvement de selle peut être lancé aussi pour la recherche des EMR, mais il ne possède pas un rendement supérieur aux écouvillonnages rectaux des lors que ces derniers sont réalisés correctement

Il est possible d'exploiter d'autres sites anatomiques pour la recherche des EMR afin d'augmenter la sensibilité du dépistage en augmentant le nombre de sites prélevés. On peut exploiter un prélèvement d'urine, prélèvement de gorge, prélèvement buccal.

Cependant, la multiplication des sites de prélèvement augmente la charge en soin et de travail au laboratoire. L'adaptation de la stratégie doit donc être au préalable mesurée. Elle dépend de la situation épidémiologique. [54][70][71][72][73][75]

III.V.3. Comment prélever ?

Prélever avant toute toilette ou antisepsie, à l'aide d'un écouvillon stérile ; pour le prélèvement anal ; L'écouvillonnage peut se faire de la manière suivante : humidifier l'écouvillon dans un

milieu de transport stérile, l'introduire dans le sphincter rectal sur 2 à 3 cm (1-1,5 pouces), tourner et retirer, Vérifier la présence de traces de matières fécales sur l'écouvillon visibles à l'œil nu, dans le cas contraire, il convient de demander un nouveau prélèvement.

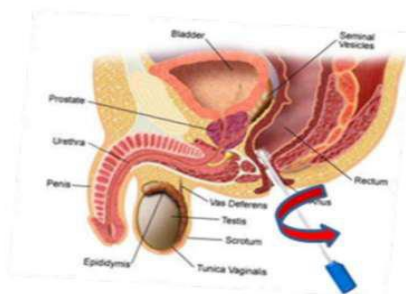


Figure 10 : technique de prélèvement [75]



Figure 11 : écouvillon anal [originale]

Ce prélèvement peut être fait par le patient lui-même. L'infirmière vérifiera alors la présence de matières fécales sur l'écouvillon. Ce prélèvement peut aussi être remplacé par un prélèvement de selles. [76]

Les écouvillons avec milieux de transport doivent être privilégiés, Le milieu de transport de Cary-Blair peut être utilisé pour le transport de nombreux pathogènes entériques, par exemple : *Escherichia coli*.

Sa consistance semi-solide permet un transport facile et le milieu de Cary-Blair est stable et peut être stocké après préparation, à température ambiante pendant une durée maximale de un an dans des récipients fermés hermétiquement. [77]

Les milieux Amies et Stuart sont d'autres milieux similaires à celui Cary-Blair. Ces deux milieux de transport sont acceptables pour le transport des entérobactéries mais ils ne sont pas aussi bons que le milieu Cary-Blair. [77]

Les délais de conservation des échantillons avant analyse dépendent fortement de l'utilisation ou non de tels écouvillons.

III.V.4. Combien de temps prélever un porteur ?

La durée de portage d'EMR est régie par plusieurs critères à savoir :

- Le genre et l'espèce de la bactérie
- Son caractère commensale ou saprophyte,
- Le site de portage,
- Les conditions favorisant un portage prolongé,
- Le nombre de sites de portage et de dépistages,
- La persistance d'une exposition à des patients porteurs,
- La sensibilité de la technique du prélèvement de dépistage.

La décision d'arrêt de dépistage d'un porteur est prise par le microbiologiste après confirmation de la négativation de prélèvement de dépistage-portage. Il est recommandé pour les EPC d'obtenir au minimum trois dépistage négatifs à un intervalle d'une semaine, dont au mieux l'un sous ou au décours d'une antibiothérapie. [54]

Les critères pour aider à affirmer une négativation :

- L'existence de plusieurs prélèvements de dépistage négatifs, prélevés à plus d'une semaine d'intervalle
- Un dépistage négatif chez un patient recevant des antibiotiques sélectionnant dans les flores commensales
- La qualité du prélèvement et sa négativité après enrichissement par culture en milieu liquide en présence d'antibiotique.

Les critères de négativation seront d'autant plus prudents que l'EMRen cause est associée à une situation d'épidémie récente et limitée (au contraire d'une épidémie installée ou d'une endémie), et d'un enjeu épidémiologique local ou national important.[14]

CHAPITRE IV : EPIDEMIOLOGIE DU PORTAGE DES ENTEROBACTERIES MULTI- RESISTANTES

La prévalence du portage des entérobactéries multi-résistantes notamment les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération soit par production de beta-lactamases à spectre élargi ou céphalosporinase hyper-produite, les entérobactéries productrices de carbapénèmases, ainsi que les entérobactéries résistantes à la colistine est variable selon plusieurs paramètres à savoir :

- Le pays, la ville, l'hôpital
- Le service d'hospitalisation : on note une prévalence élevée au niveau du service de réanimation et l'onco-hématologie par rapport à d'autres services tels : EPAHD, service de soin de courte durée, service de gynécologie, etc.

IV.I. Epidémiologie du Portage des entérobactéries multi-résistantes en oncologie-hématologie:

IV.I.1. Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération :

IV.I.1.1. En Amérique:

Une étude réalisée à Chicago, menée de 2000 à 2005, où 17872 patients hospitalisés dans des unités désignées à haut risque (unité de soins intensives et service d'onco-hématologie) ont bénéficiés d'un prélèvement à visée de dépistage des entérobactéries productrices de beta-lactamases à spectre élargi.

Cette étude la plus longue jamais faite au niveau des Etats-Unis a montré que le taux de colonisation par les entérobactéries productrices de BLSE a doublé au cours de la période d'étude (6 ans), passant de 1,33% des patients à risque élevé en 2000 à 3,21% en 2005.[78]

IV.I.1.2. En Asie :

Une étude comparative portant sur le portage des E-BLSE chez des sujets sains non hospitalisés et des sujets hospitalisés au niveau du service de l'oncologie, a été menée au département de microbiologie à l'institut des sciences médicales Amrita (Kochi, Inde) à partir du novembre 2011 jusqu'à juillet 2013.

Des échantillons de selles consécutifs non répétitifs d'adultes âgés de 18 ans ont été collectés après avoir obtenu le consentement éclairé et ont été traités dans les 24 heures suivant le prélèvement. Parmi les 480 échantillons analysés, 260 provenaient de personnes en bonne santé venues subir un bilan de santé complet et 220 de patients hospitalisés pendant plus de 72 heures à l'hôpital,

Le résultat de cette étude a montré une prévalence nettement supérieure chez les sujets hospitalisés que pour les sujets sains non hospitalisés.

Le taux global du portage des E-BLSE était de 62,7 % (138/220) parmi les patients hospitalisés et 33,8% (88/260) parmi les personnes sains non hospitalisés.

La caractérisation génotypique d'isolats représentatifs de E-BLSE (51 de personnes en bonne santé et 53 de patients hospitalisés) ont révélé une prédominance des gènes CTX-M (77–88%), par rapport aux autres gènes de BLSE (TEM, SHV).

La présence des trois gènes de BLSE a été plus souvent observée chez *Klebsiella spp* comparé à *Escherichia coli*.^[79]

IV.I.1.3. En Europe:

République Tchèque:

Une étude d'une durée de 3 mois (1 novembre 2012 - 31 janvier 2013) a été réalisée au département d'hémo-oncologie, Université Hôpital Olomouc, République Tchèque. Des prélèvements rectaux ont été effectués chez tous les patients traités dans ce dernier.

Au cours de la période d'étude, 71 patients retrouvés, un total de 15 patients (21,1%) ont été retrouvés porteurs d'entérobactéries produisant des bêta-lactamases à large spectre. Des entérobactéries BLSE et AmpC-positives ont été trouvées dans 8 (11,3%) et 7 (9,8%) patients, respectivement.

Parmi les 15 patients avec le GIT colonisé par producteurs de bêta-lactamases à large spectre, un seul a été hospitalisé pour la première fois. La longueur moyenne de la durée d'hospitalisation était de 25 jours (extrêmes: 3-70 jours). Treize patients (86,7%) avaient été hospitalisés au département hémo-oncologie au cours des six mois précédents (séjours antérieurs allant de 3 à 58 jours; une moyenne de 21 jours).

Les 8 cas d'entérobactéries BLSE-positives comprenaient des souches de *Klebsiella pneumoniae* (75,0%), *Escherichia coli* (12,5%) et *Enterobacter aerogenes* (12,5%). Les bactéries positives pour AmpC étaient *Citrobacter freundii* (42,8%), *Enterobacter cloacae* (28,6%), *Escherichia coli* (14,3%) et *Klebsiella pneumoniae* (14,3%).

La PCR a révélé la présence d'un gène pour la bêta-lactamase du groupe analogue à CTX-M-1 dans 7 cas de BLSE-positifs, le gène blaSHV a été détecté dans 6 cas, et le gène blaTEM a été noté dans tous les isolats positifs pour ESBL.

Les isolats produisant de l'AmpC codés pour les gènes des enzymes CIT (3/7), DHA (2/7) et Groupes EBC (3/7), deux isolats contenaient deux gènes simultanément.^[80]

Les tableaux (5 et 6) résument les entérobactéries isolées et leurs gènes de résistances.

Tableau 4: les entérobactéries BLSE isolées et leur gènes impliqués

Espece	Nombre isolés	Type de beta-lactamase
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	CTX-M-1 LIKE, SHV, TEM
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	SHV, TEM
<i>Escherichia coli</i>	1	CTX-M-1-LIKE, TEM
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	CTX-M-1-LIKE, TEM

Tableau 5: les entérobactéries isolées AmpC et les gènes impliqués

Espece	Nombre des isolats	Type de beta-lactamase
<i>Citrobacterfreundii</i>	2	CIT
<i>Citrobacterfreundii</i>	1	CIT, DHA
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	EBC
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	EBC, DHA
<i>Escherichia coli</i>	1	CIT
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	DHA

IV.I.1.4.En Algérie

Une étude a été réalisée de février 2012 à mai 2013 dans l'unité d'oncologie pédiatrique de l'hôpital Beni-Messous. L'unité avait une capacité de 12 chambres et 36 lits.

La population de l'étude comprenait 171 enfants avec différents cancers; un questionnaire a été rempli pour chaque participant en ce qui concerne l'âge, le sexe, l'admission précédente, l'utilisation récente d'antibiotiques et le type de cancer. Sur les 171 enfants atteints de cancer inclus dans cette étude, 93 (54%) étaient des porteurs d'E-BLSE.

Parmi les 93/171 patients, 103 E-BLSE ont été isolés, dont 49 *Klebsiellapneumoniae*, 38 *Escherichia coli*, 12 *Enterobacter cloacae*, 3 *Klebsiella oxytoca* et 1 *Citrobacterbraakii*.

Amplification PCR a confirmé que toutes les souches étaient des producteurs de BLSE. Les gènes de BLSE identifiés étaient blaCTX-M-15 (n = 91/103; 88%), blaCTX-M-14 (n = 6/103; 6%) et blaCTX-M-3 (n = 6/103; 6%). Aucun gène codant pour la carbapénémase ont été détectés par la PCR multiplex. [81]

Tableau 6: les entérobactéries isolées et leur gène de résistance.

	<i>K.pneumoniae</i> n= 49	<i>Escherichia coli</i> n=38	<i>E .cloacae</i> n= 12	<i>K.oxytoca</i> n= 3	<i>Citrobacterbraakii</i> n=1
CTX-M-15 n=91	46 (94)	32 (84)	10 (83)	2 (67)	1 (100)
CTX-M-14 n=6	1 (2)	5 (13)	0	0	0
CTX-M-3 n=6	2 (4)	1 (3)	2 (17)	1 (33)	0

IV.I.2.Les entérobactéries productrices de carbapénémase :

IV.I.2.1.En Amérique :

Actuellement, la carbapénémase la plus répandue aux États-Unis est la *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase (KPC). Cette carbapénémase à médiation plasmidique se trouve le plus souvent dans *Klebsiella spp* et *Escherichia coli*, mais se rencontre également chez d'autres espèces d'Enterobacteriaceae. En 2009, les premières Enterobacteriaceae productrices de KPC ont été détectées dans le Minnesota. En 2010, deux carbapénémases connues sous le nom de métallobactamases (MBL) ont été isolées pour la première fois.

Aux États-Unis: New Delhi MBL (NDM) et Verona codé par intégroVerona (VIM) ont été détectés où le Centers for disease control and prevention (CDC) rapporte des antécédents d'exposition aux soins de santé en Inde ou au Pakistan chez les patients dont leur isolat était positif à NDM. [82]

IV.I.2.2. En Asie :

Chine :

Une étude a été menée à la Fujian Medical University Union Hôpital de Fuzhou, dans la province du Fujian, de novembre 2011 à Janvier 2013. Un total de 303 patients admis en service d'oncologie était inclus dans l'étude, le portage des EPC a été estimé à un taux de 6,6% ce qui représente 20/303, les gènes de carbapénémase isolés étaient : KPC-2, IMP-4, KPC-2 et NDM-1.

IV.I.2.3. Europe :

Espagne :

Une étude comparative effectuée sur deux périodes 2006 et 2009-2010, entre une population de personnes saines non hospitalisée et une population de patients admise en oncologie à l'hôpital de Madrid.

Pour la 1ère étude allant du 01 janvier au 31 avril 2006, un nombre total de 600 échantillons ont été récoltés de 569 patients {114 patients hospitalisés (20%) et 455 personnes non hospitalisés (80%)}

Pour la 2ème période d'étude, un nombre total de 500 échantillons ont été récoltés à partir de 474 patients {166 patients hospitalisés (35%) et 308 patients hospitalisés (65%)}

Sur le nombre total des patients (1100) dépistés pour le portage des EPC, 294 étaient porteurs de carbapénémase qui représente un pourcentage total de 26,72% {196/294 (66,66%) étaient le groupe des patients hospitalisés, le reste 98/294 (33,34%) appartenait au groupe des patients sains non hospitalisés.

Les gènes de carbapénémases isolés sont : OXA-48 (42,42%), KPC (12,32%), VIM (20,62%), IMP (14,13%) et NDM (5, 51%) [83]

IV.I.2.4. Au Maghreb :

Au Maroc, une étude réalisée à l'hôpital de Meknes dans le but de déterminer la prévalence de portage des EPC pour les patients admis en service d'hématologie, sur les 93 patients admis, 81 ont bénéficié d'un prélèvement rectal maximum 48h après leur admission, sur les 81 prélèvements 22 étaient porteurs d'EPC (27,16%), le gène OXA-48 était le prédominant suivi de KPC. [84]

IV.I.2.5. En Algérie :

En Algérie, OXA-58 a été décrite pour la 1ère fois à Tlemcen, depuis nous assistons à l'émergence des autres gènes OXA-24, OXA-72.

Le portage des EPC en Algérie est inconnu à cause d'absence d'études faites sur ce sujet, les rares études faites en Algérie sur les EPC concernent la prévalence et l'incidence des EPC dans les infections.

Selon le rapport publié en 2017 par le réseau algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques (AARN) portant sur la prévalence des EPC par secteur de soins, nous retrouvons 11/343 dans plusieurs services (y compris onco-hématologie) ce qui vaut à un pourcentage de 3,21%. [85]

IV.II. Epidémiologie des entérobactéries multi-résistantes en réanimation :

IV.II.1. les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération :

IV.II.1.1. Aux états unis :

Selon une étude menée à l'hôpital Johns Hopkins à Baltimore, portant sur la prévalence et l'épidémiologie de la colonisation par les entérobactéries multi-résistantes chez des enfants admis en service de soins intensifs sur une durée allant du 16 juillet 2014 au 15 janvier 2016. Un nombre total de 854 prélèvements rectaux a été collecté à partir de 859 enfants. La prévalence des Enterobactériaceae multi-résistantes isolées (E-BLSE et AmpC) à partir de prélèvements d'admission était de 7,6% (n = 65). Les BLSE et les AmpC ont été identifiées respectivement, chez 2,8% (n = 24) et 4,4% (n = 38) des enfants. Les Enterobactériaceae multi-résistantes identifiées comprenaient les espèces *E. coli* (n = 29), *Enterobacter cloacae* (n = 17), *Citrobacter spp* (n = 11), *K. pneumoniae* (n = 5), *Proteus mirabilis* (n = 2) et *Morganella morganii* (n = 1) [86]

IV.II.1.2. En Asie :

Inde :

Une étude descriptive réalisée au niveau du département de microbiologie pour une période de 2 mois (juin 2016 à août 2016). 60 prélèvements rectaux ont été prélevés chez les patients admis à l'unité de soin intensive après une période de 48 h. 39/60 (65%) ont montré un résultat positif. Sur ce nombre : 22/39 (56%) étaient des *Escherichia coli* productrices de BLSE et 17/39 (43%) des *Klebsiella spp*. Vingt-trois (38%) des patients examinés infectés par des organismes producteurs de BLSE ont développé une infection à entérobactérie BLSE. [87]

IV.II.1.3. En France :

Plusieurs études réalisées en France depuis 2006, dans le but d'estimer la prévalence du portage des E-BLSE à l'admission en service de réanimation.

Les taux des prévalences retrouvées varient entre 3,7% (hôpital de Dijon) et 15,4% (hôpital de Créteil). Une évolution de la prévalence du portage au niveau des hôpitaux de Paris, de 8% en 2011 à 14,1% sur la même période a été remarquée. [88]

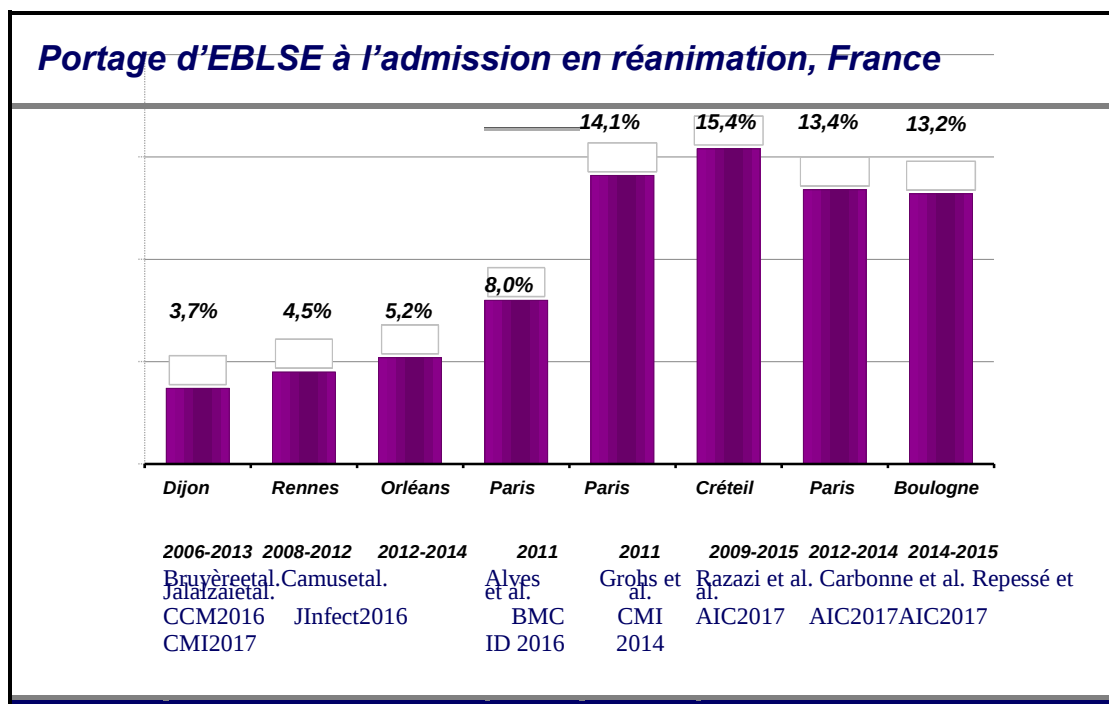


Figure 12 : L'évolution du portage des E-BLSE chez les admis en réanimation en France. [88]

IV.II.1.4. Au Maghreb :

Au Maroc Au niveau de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech, durant l'année 2015 et 2016. Les principaux résultats obtenus sont : Sur les 9042 prélèvements bactériologiques analysés, 1356 prélèvements bactériologiques étaient positifs dont 215 prélèvements concernaient les BMR, soit une prévalence globale de 16%. [89]

En Algérie :

Une étude réalisée dans le but d'évaluer le portage des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération admis en service de réanimation.

L'étude a été menée sur une période de 4 mois (09 Février 2014 au 15 Mai 2014) au sein du CHU de Bejaia Khellil Amrane. Un total de 70 prélèvements réalisés, 40 souches ont été isolées et identifiées dont 29/40 (72,5%) étaient productrices de BLSE. Les principales espèces isolées sont : *Escherichia coli* (n=17) *Enterobacter sp* (n=9) et *Citrobacter sp* (n=3). [90]

IV.II.2.les entérobactéries productrices de carbapénèmases :**IV.II.2.1.Aux états unis :**

La même étude qui avait été menée à l'hôpital Johns Hopkins à Baltimore portant sur la prévalence de la colonisation par les entérobactéries multi-résistantes chez les enfants admis en unité de soins intensives, a montré une prévalence faible de portage des EPC chez ces enfants, qui égale à 0,4% (n = 3). Les EPC isolées appartenaient au genre : *Klebsiella pneumoniae*, (KPC) [91].

IV.II.2.2.En Asie :

Une étude avait été menée afin d'estimer la prévalence du portage des EPC, chez des patients admis en service de réanimation. L'étude avait été conduite sur 3 hôpitaux universitaires à Seoul en Corée du sud, sur une durée de deux mois (de juin à août 2012), 347 patients ont été admis au service de réanimation des hôpitaux participants, où chacun d'eux a eu un prélèvement rectal à l'admission. La prévalence du portage des EPC était très basse 0,3% de la taille de l'échantillon, ce qui représente un seul patient colonisé par *Escherichia coli* productrice de carbapénémase. [92]

IV.II.2.3.En Afrique :**Algérie :**

Selon le rapport du réseau de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, établi en 2017, les EPC en réanimation était de 11/886 donnant un pourcentage de 1,24%.

Les EPC en Algérie, ont été isolés à partir de prélèvements à visée de diagnostic.

Egypte :

Une étude menée à l'hôpital du Caire –Egypte- portant sur la colonisation de l'intestin par des entérobactéries productrices de carbapénémase chez des enfants admis en unité de soins intensif, sur une période de 06 mois (du septembre 2015 au février 2016). 100 prélèvements rectaux correspondant à 100 enfants admis en USI ont été récoltés donnant comme résultat 413 souches d'entérobactéries ont été isolées.

100/413 souches isolées étaient des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, une prévalence de 24%, 80/100 des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (80%) présentaient un mécanisme enzymatique de résistance par production de carbapénémase. Les entérobactéries productrices de carbapénèmases appartenaient aux espèces suivantes : *Escherichia coli* (n=17), *Klebsiella pneumoniae* (n=60), *klebsiella oxytoca* (n=1), *Enterobacter cloacea* (n=2).

Avec une prédominance du gène bla-OXA-48 (80% des EPC isolés) [93]

IV.II.3.les entérobactéries résistantes à la colistine :

La résistance acquise des entérobactéries à la colistine, est une résistance de découverte récente, le 1^{er} isolat portant le gène de résistance à la colistine mcr-1 a été découverte en 2015b en Chine chez l'animal.

D'autres gènes sont été mis en évidence par la suite : mcr-2 en Belgique présent chez des entérobactéries des bovins et porcs, mcr-3 et mcr-4 identifiés récemment.[94] [95]

IV.II.3.1.En Amérique :

Au **Etat Unis** on noter une prévalence de 11 % des souches d'entérobactéries résistante à la colistine (naturelle et/ou acquise) **au Brésil** parmi les 4620 souches testées (isolées entre 2000 et 2016). Parmi ces souches, 16 (soit 0,3 %) possédaient une résistance plasmidique à la colistine de type mcr-1 **En Argentine**, la surveillance nationale de la résistance aux antibiotiques conduite par le WHONET-Argentina Network regroupant 90 laboratoires fait état d'une augmentation significative de la résistance à la colistine chez *Escherichia coli* passant de 0,4 % en 2012 à 0,8 % en 2014. [96]

IV.II.3.2.En Asie :

les souches d'entérobactéries résistantes à la colistine en asie représentent 13,5% des souches d'entérobactéries isolées, dont la moitié des souches résistante ont été isolées en Chine (75), suivi respectivement, de Taiwan, Laos, Malaise, Vietnam, Cambodge et Inde avec 14, 6, 2, 1, 1 et 1.[36]

IV.II.3.3.En Europe**France :**

19 cas de portage des entérobactéries résistantes à la colistine ont été signalé au centre national de référence de la résistance aux antibiotiques depuis 2016, sur les 19 cas de portage des entérobactéries résistantes à la colistine, 4 souches étaient aussi des entérobactéries productrices de carbapénémases avec un antécédent d'hospitalisation à l'étranger (Ile Maurice, Maroc, Cote d'ivoire et le Portugal).Le haut conseil français de la santé publique a déclaré en 2017, un cas de transmission secondaire du gène mcr-1 dans un établissement français.[97]

Pays-Bas :

Une étude hollandaise réalisée entre novembre 2014 et juillet 2015, dans le but d'estimer la prévalence du portage des entérobactéries résistantes à la colistine dans les fèces des patients admis en médecine interne, les salles d'opération ainsi que les patients fréquentant la clinique externe de greffe de rein du centre hospitalier universitaire de Leiden (LUMC) aux Pays-Bas. L'étude porte sur 621 échantillons de selles récoltés et testés pour le portage des gènes mcr par PCR en temps réel. Seulement 2 échantillons issus de 2 patients différents ont révélé la présence du gène mcr-1 indiquant une résistance à la colistine, donnant une prévalence faible de 0,32%

En Belgique :

La prévalence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries en médecine humaine est inconnue, cet antibiotique n'étant testé que par un nombre restreint de laboratoire et souvent en

2eme intention sur des souches d'entérobactéries présentant un caractère de multi-résistance et en milieu hospitalier seulement.

Dans le cadre de ses missions de centre de référence, le laboratoire de microbiologie CHU UCL Namur et centre de référence des bactéries gram négatif multi-résistantes a évalué la sensibilité in vitro à la colistine à partir d'un échantillonnage de 800 souches d'entérobactéries multi-résistantes et présentant pour la majorité d'entre elles une diminution de sensibilité ou une résistance aux carbapénèmes. Ces souches isolées à partir de prélèvements cliniques ou de frottis de dépistage dans plus de 90 laboratoires (hospitaliers et privés) belges ont été adressées en première intention pour confirmation d'EPC. Une résistance associée à la colistine a pu être mise en évidence pour 1% des souches d'*Escherichia coli* et pour 12% des *Klebsiella pneumoniae* testées. A noter qu'une augmentation significative de la résistance était observée au cours du temps (14% en fin 2015 vs. 8% au début 2015), particulièrement chez les souches de *K. pneumoniae* productrices de carbapénémase de type KPC (29/87 [33%] en 2015 vs. 10/72 [14%] en 2014) mais pas pour celles produisant d'autres types de carbapénémases. Cette dernière observation suggère fortement une augmentation de la résistance à la colistine liée à la diffusion épidémique régionale et interrégionale des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de carbapénémase KPC-3 retrouvées en Belgique et dont le caractère clonal est bien reconnu. [98]

Avant novembre 2015 : il a été noté une augmentation des *Klebsiella pneumoniae* résistante à la colistine **en Grèce** de 3.5% en 2008 => 20.8% en 2010 et **en Italie** de 22.4% en 2011 => 43% en 2013–2014 **Espagne** : 13.2% en 2010 => 31.70% en 2015. [99]

IV.II.3.4. Au Maghreb :

Une étude **tunisienne**, réalisée de façon rétrospective sur des souches isolées entre 2005 et 2010 dans la région de Safex a permis d'identifier des prévalences de résistance à la colistine respectivement de 0%, 1,2% et 1,4% pour les souches d'*Escherichia coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae*.

IV.II.3.5. En Algérie :

Le réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques a signalé la découverte récente de l'existence de souches d'*Escherichia coli* porteuse du gène mcr-1, le 28 novembre 2016 ; il s'agit de deux souches humaine et deux souches vétérinaires.

Le réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques révèle des taux faibles de résistance à la colistine chez les patients hospitalisés et les non hospitalisés dans le cadre des infections et aucune souche d'entérobactérie résistante à la colistine n'a été signalée dans le cadre du portage ; Les germes bactériens impliqués dans la résistance à la colistine sont :

Escherichia coli (33/1545 soit 2,14%), *Klebsiella pneumoniae* (15/586 soit 2,56%), *Entérobacter spp* (7/158 soit 4,43%) et *Enterobacter cloacae* (1/46 soit 2,17%)

**CHAPITRE V : ROLE DU
MICROBIOLOGISTE DANS LE
DEPISTAGE DES
ENTEROBACTERIESMULTI-
RESISTANTES**

Les microbiologistes ont un rôle crucial dans le dépistage des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération, des entérobactéries productrices de carbapénèmases et les entérobactéries résistantes à la colistine.

Ils possèdent dans leur trousse différentes méthodes, à savoir: les milieux chromogènes, les milieux spécifiques aux entérobactéries additionnés d'ATB et la biologie moléculaire (PCR en temps réel, etc.). Les industriels essayent de développer et de les performer pour un dépistage rapide et efficace.

Tableau 8 : récapitulatif des différentes méthodes de dépistage [original]

	Méthodes	Principe	Intérêts	Limites
Phénotypiques	Milieux sélectifs additionnés d'ATB	La méthode utilise deux avantages : – Utilisation de milieux sélectifs aux entérobactéries – Utilisation d'un ATB permettant la sélection du mécanisme de résistance recherché.	– Découverte de nouvelles résistances	Moins spécifiques
	Milieux chromogènes	Un substrat chromogène est dégradé par une enzyme caractéristiques de la bactérie cible en : un composé sucre et un chromogène, ce dernier en présence d'oxygène forme un dimère qui colore la colonie typique.	– Détection rapide – sensible – spécifique	– certains milieux ne détectent pas tous les mécanismes de résistance
génomiques		Il s'agit d'une amplification des gènes de résistances couplés plus ou moins à une identification d'espèce.	– Technique rapide – Sensible	– Cout élevé – Ne détectent que les gènes dont les amorces sont utilisées

V.I. Dépistage des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération:**V.I.1. Méthodes phénotypiques :****V.I.1.1.Culture sur milieux non chromogène additionné d'ATB :**

Ils sont à proscrire car moins spécifiques que les milieux chromogènes sélectifs du commerce. Par exemple, les milieux pour la détection des E-BLSE ont une sensibilité équivalente, mais une spécificité de 56 à 60% pour les milieux non chromogènes sélectifs contre 77-82% pour les milieux chromogènes sélectifs. Les milieux sélectifs non chromogènes peuvent cependant avoir un intérêt lors de la découverte d'une nouvelle résistance dans l'attente de la mise sur le marché de milieux chromogènes sélectifs adaptés [14]

V.I.1.1.1. La BD Drigalski lactose Agar avec ceftazidime :

La drigalski lactose agar est un milieu différentiel similaire à la MacConkey Agar et aux milieux à base de désoxycholate. Elle est utilisée comme milieu différentiel sélectifs pour les bacilles à gram négatifs (entérobactéries et certains non fermentaires), et inhibe les bactéries à gram positif.

Additionnée de ceftazidime (4mg/L) ou cefotaxime (2mg/L), deux céphalosporines à large spectre, la Drigalski a été utilisée pour isoler les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération

Pour plus de détail, voir Annexe N° 8.

V.I.1.2.Culture sur milieux gélosés chromogènes :

Ces milieux permettent d'obtenir simultanément une orientation de l'espèce et de la résistance. Ils peuvent parfois dès 24H donner un résultat avec une bonne valeur prédictive positive.

Ils permettent également une bonne visualisation des populations doubles ou multiples. Leur spécificité et leur sensibilité sont variables mais sont continuellement améliorées par les fabricants. Les milieux dédiés à l'isolement des E-BLSE contiennent en plus des antibiotiques qui inhibent la croissance des bactéries à Gram positif et des levures, une céphalosporine de 3ème génération qui assure la sélectivité du phénotype de résistance recherché. Lors d'un 1^{er} résultat positif, il est donc important de confirmer l'identification et la résistance par réalisation d'un antibiogramme, et éventuellement de CMI et d'autres tests complémentaires, conformément aux recommandations du CLSI, en effet les milieux sélectifs ne permettent pas d'objectiver le mécanisme de résistance. Par exemple une entérobactérie hyper-productrice de céphalosporinase peut être faussement identifiée une E-BLSE.

La sensibilité de la technique utilisant les milieux chromogènes s'accroît grâce à une phase de culture en milieu liquide en présence d'ATB mais au détriment de la rapidité de réponse.

Principe :

Milieu chromogénique sélectif contenant des substrats chromogènes permettant la coloration des colonies à la suite de sa dégradation par des enzymes bactériennes spécifiques et de la libération du chromophore, et des antibiotiques • → l'isolement et l'identification des micro-organismes sont cibles en une seule étape, ce qui permet de raccourcir le temps de rendu du résultat.

V.I.1.2.1. Gélase brillianceESBL :

La gélase Brilliance™ ESBL est une boîte chromogène de dépistage pour les organismes producteurs de β -lactamase à spectre étendu (BLSE). Le milieu permet une identification présomptive des *Escherichia coli* et du groupe Klebsiella, Enterobacter, Serratia et Citrobacter (KESC), producteurs de BLSE, directement à partir des échantillons cliniques [106][107]

- L'inclusion de cefpodoxime, un marqueur largement reconnu pour la résistance liée aux BLSE, permet d'inhiber la plupart des Enterobacteriaceae non-BLSE
- L'inhibition des AmpCs réduit l'incidence des résultats faussement positifs par rapport aux milieux de culture traditionnels, limitant ainsi l'emploi de tests de confirmation

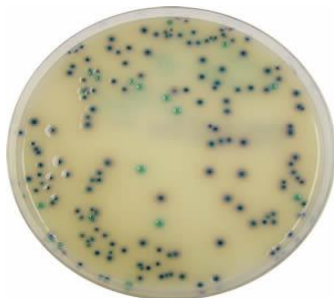


Figure 13 : Gélase Brilliance E-BLSE [108]

V.I.1.2.2. Gélase ChromIDESBL:

Le chromIDESBL est un tout nouveau et innovant milieu chromogène spécialement conçu pour la détection des entérobactéries productrices de BLSE.

L'isolement et la détection est basé sur l'utilisation au sein du milieu d'antibiotiques, tel que le cefpodoxime qui est reconnu comme étant le marqueur de choix pour ce mécanisme de résistance. [109]



Figure 14 : Gélase ChroMidESBL [110]

D'autres milieux chromogènes pour le dépistage des entérobactéries productrices de beta-lactamases a spectre élargi, sont disponibles et peuvent être aussi utilisés, à savoir :

- Gélose BLSE : développé par la société AES Chemunex.
- Gélose Chromagar E-BLSE : fournit par la société Chromagar.

Tableau 8 : caractéristiques des principaux milieux de dépistage des Entérobactéries BLSE [14]

milieux	Composition milieu ATB	Fournisseur	réactions enzymatique	remarques
BLSE Agar	boite à 2 compartiments Drigalski + CTX MacConkey + CAZ	AES Chemunex	/	incubations 18-24H milieu non chromogène
ChromiDESL	cefepodoxime	bioMerieux	beta-glucoronidase betla glucosidase desamine	incubation 18-24H jusqu'à 48h
CHROMagarESBL	NC	CHROMagar	NC	Incubation 18-24H preparation extemporanément le milieu
Brilliance ESB	cefepodoxime	Oxoid	galactosidase + glucuronidase galactosidase Desaminase	incubation 18-24H jusqu'à 48h

V.I.2.Méthodes moléculaires:

Les méthodes moléculaires détectent les gènes codant les BLSE y compris celles à bas niveau de résistance (qui peuvent passer inaperçues par les méthodes phénotypiques). Ces techniques sont même capables de détecter ces gènes de résistance directement à partir du prélèvement biologique sans passer par la culture bactérienne, ce qui permettra un gain de temps crucial pour le traitement des patients [111]

Cependant ces techniques moléculaires relèvent d'un laboratoire de référence ou de recherche et sont utilisées plus à visée épidémiologique que diagnostique. L'identification moléculaire communément utilisée pour la détection des BLSE de type TEM et SHV est basée sur l'amplification des gènes blaTEM et blaSHV suivie du séquençage.

V.I.2.1.Détection des gènes TEM et SHV :

Le séquençage est essentiel afin de différencier les enzymes parentales non-BLSE des différents variant BLSE de type TEM ou SHV. Plusieurs méthodes moléculaires qui ne nécessitent pas le séquençage, ont été développées pour caractériser les BLSE, telles que, la PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism), la PCR-SSCP (single strand conformational polymorphism) et la PCR en temps réel. Cependant, ces techniques

présentent des limites face à la diversité des mutations ponctuelles générant les BLSE de type TEM et SHV et par conséquent elles n'arrivent pas à couvrir tous les variants BLSE[112]

V.I.2.2.Détection des gènes CTX-M :

Contrairement au BLSE de type TEM et SHV, l'obtention d'un produit PCR par des amorces spécifiques du gène blaCTX-M sans passer par le séquençage, chez une souche productrice de BLSE, est souvent suffisant pour déduire que le gène blaCTX-M est responsable de ce phénotype. Différentes approches moléculaires ont été récemment décrites pour le dépistage rapide des bactéries productrices de BLSE de type CTX-M, telles que la PCR utilisant 4 couples d'amorces spécifiques de chaque groupe CTX-M, l'amplification d'un fragment d'ADN universel commun à la majorité des groupes de CTX-M, la PCR duplex, la PCR multiplex, la PCR en temps réel et le pyro-séquençage [112]

V.I.2.3.Technique micro-array :

Grâce à la nouvelle technologie du micro-array, qui permet de détecter un nombre illimité de gènes en une seule réaction, une nouvelle méthode de détection des BLSE a été récemment développée par Check-points. Elle permet la détection de la quasi-totalité des mutants TEM et SHV (en différenciant les variants BLSE des variants non BLSE), des CTX-M (en différenciant les CTX-M des différents groupes) et des carbapénèmases de type KPC, OXA-48, VIM, IMP et NDM-1

Cette méthode d'identification est basée sur le principe d'une amplification multiplex ligation-dépendante qui nécessite l'emploi d'une ADN ligase et d'un couple de sondes. L'une des deux sondes est courte et constituée d'une séquence cible et d'une amorce. La deuxième sonde est constituée d'une deuxième séquence cible et d'une deuxième amorce entre lesquelles se trouve le « Zip code » qui est une séquence complémentaire à un oligo-nucléotide unique (cZip) fixé dans le micro-array.

La ligature des deux sondes se fait après leur hybridation à la séquence d'ADN cible spécifique de chaque beta-lactamase générant une collection de molécules d'ADN qui seront amplifiées par PCR.

Seules les molécules d'ADN formées d'une paire de sondes réunies par la ligase peuvent être amplifiées car elles seules disposent des deux sites de fixation des amorces. Les produits PCR sont détectés par hybridation des « Zip codes » à leurs séquences complémentaires (cZip codes) immobilisées dans le micro-array. La détection est ensuite réalisée à la biotine incorporée à l'extrémité 5' de l'une des deux amorces. Finalement, cette technique repose sur l'utilisation d'une série de sondes ciblant des marqueurs d'ADN dont les séquences sont spécifiques à chaque enzyme et générant ainsi des profils d'hybridation micro-array permettant d'identifier et de distinguer les différentes beta-lactamases.

Cette technique a montré une spécificité et une sensibilité de 100 % pour la majorité des classes de beta-lactamases testées [113][114]

V.II.Dépistage des Entérobactéries productrices de carbapénèmases :**V.II.1.Milieux chromogènes :**

Ces dernières années, des milieux sélectifs ont été développés pour le dépistage des EPC. Parmi ces milieux, on distingue essentiellement 6 milieux commerciaux : [115] [116]

- CHROMagar™ KPC (CHROMagar)
- ChromIDRCarba (bioMerieux)
- BrillianceR CRE (Oxoid)
- ChromIDR OXA-48 (bioMerieux)
- mSuperCARBA™ (CHROMagar) ou SUPERCARBA medium « maison »
- ChromIDRCarba SMART (bioMerieux)

V.II.1.1.CHROMagar™ KPC

Ce milieu contient du méropénème à de fortes concentrations et des chromogènes facilitant l'identification rapide des espèces bactériennes. Il en résulte une détection médiocre des EPC présentant de bas niveaux de résistance aux carbapénèmes (notamment OXA-48).

En tenant compte de l'épidémiologie française des EPC, ce milieu n'est **PAS recommandé** pour le dépistage des EPC (gène OXA-48 retrouvé en France plus que KPC)

V.II.1.2.ChromIDRCarba (bioMerieux) et BrillianceR CRE (Oxoid)

Ces deux milieux contiennent un carbapénème et des chromogènes facilitant l'identification rapide des espèces bactériennes d'entérobactéries. Les études réalisées avec ces deux milieux ont montré de bonnes sensibilité et spécificité pour la détection des EPC, hormis pour certaines souches productrices d'OXA-48.



Figure 15 : Brilliance CRE (OXOID)

Remarque :

Ces deux milieux sont donc **recommandés** pour la détection des EPC **en complément d'un milieu additionnel possédant une meilleure sensibilité de détection des entérobactéries productrices d'OXA-48**

V.II.1.3.mSuperCARBA™ (CHROMagar) ou SUPERCARBA medium « maison »

Le *SUPERCARBA medium* a été mis au point par le CNR de la résistance aux antibiotiques spécifiquement pour la détection des EPC.

Ce milieu « maison » possède une très bonne sensibilité de détection vis-à-vis de tous les types d'EPC notamment les souches productrices d'OXA-48.

Il contient de l'ertapenème (0,25 mg/L), du sulfate de zinc (70 mg/L) et de la cloxacilline (250 mg/L) (39, 41).

Ce milieu « maison » a été adopté par la société CHROMagar qui y a incorporé des chromogènes. Jusqu'à récemment, ce milieu de culture devait être préparé par le laboratoire de bactériologie.

Depuis fin 2017, le milieu mSuperCARBA™ est vendu directement pré-coulé par la Société CHROMagar. [120]

V.II.1.4.ChromIDR OXA-48 (bioMérieux)

La gélose ChromIDROXA-48 est un milieu chromogène sélectif destiné au dépistage des entérobactéries productrices de carbapénémase de type OXA-48 (42). [120]

- **Avantage :**

- Milieu commercial chromogène possédant une bonne sensibilité pour la détection des souches productrices d'OXA-48.

- **Inconvénient :**

- Sensibilité médiocre pour la détection des EPC produisant une autre carbapénémase que OXA-48 (KPC, NDM, VIM ou IMP).

- Les souches productrices de carbapénémase OXA-244 peuvent ne pas pousser sur ce milieu.

Remarque :

Ce milieu est **recommandé** pour la détection des EPC **en complément d'un milieu additionnel possédant une bonne sensibilité de détection des entérobactéries productrices de carbapénémase autre que OXA-48** (ChromIDRCarba, BrillianceRCRE) ou **en cas de dépistage lors d'une épidémie connue avec une souche productrice d'une carbapénémase de type OXA-48.**

V.II.1.5.ChromIDR CARBA SMART (bioMérieux)

La gélose ChromIDRCARBA SMART est un milieu sélectif chromogène *bi-platé* destinée au dépistage de toutes les entérobactéries productrices de carbapénémase.

La moitié de la gélose correspond à la gélose ChromIDR-CARBA, l'autre moitié correspond à la gélose ChromIDR-OXA-48.



Figure 16 : ChroMidCarba

- **Avantage :**

Milieux commercial chromogène possédant une **bonne sensibilité** pour la détection des souches productrices de carbapénémase **quel que soit le type de carbapénémase**.

- **Inconvénient :**

Les souches productrices de carbapénémase OXA-244 peuvent ne pas cultiver sur ce milieu. [117]

V.II.2.Méthodes moléculaires :

Ces techniques reposent sur l'utilisation d'une technique PCR directement sur des échantillons cliniques (écouvillons rectaux).

De nombreuses techniques de biologie moléculaire ont été récemment commercialisées :

- XpertrCarba-R, (Cepheid)
- AmplidiagrCarbaR+VRE, AmplidiagrCarbaR+MCR (Mobidiag)
- Check Direct CPE on BD MAX™ (Check-Points)
- eazyplexR SuperBug CRE (OptiGene)
- CarbaplexR IVD PCR (Brucker)
- CREELITeMGBRKit (ELITech)

Généralement, les techniques moléculaires sont considérées comme possédant une meilleure sensibilité que les méthodes de dépistage basées sur la culture bactérienne.

Les méthodes moléculaires sont d'un grand intérêt par rapport à la culture pour le dépistage de certains variants d'OXA-48 (OXA-244), ne poussant pas ou mal sur les milieux de dépistage des OXA-48 du fait d'une faible activité d'hydrolyse vis-à-vis de la témocilline.[119]. Cependant, **des faux positifs ont également été décrits pour ces tests moléculaires** [117]

Pour les laboratoires réalisant des tests moléculaires directement sur les prélèvements rectaux, il est conseillé d'effectuer en parallèle un ensemencement sur un milieu de dépistage (ex : ChromIDCarba SMART).

Devant toute discordance entre les deux tests, on devra s'interroger sur la possibilité d'une **culture faussement négative** (ex : OXA-244 possédant une faible activité carbapénémase et ne poussant pas sur certains milieux sélectifs, patient faiblement colonisé) ou une **méthode moléculaire faussement positive**. Il existe également des faux négatifs avec les méthodes moléculaires

pourtant réputées plus sensibles que les méthodes utilisant la culture. Quoiqu'il en soit, devant toute discordance, il est conseillé de répéter les prélèvements.

- **Avantage :**

- Excellentes spécificité et sensibilité
- Permettent de déterminer le type de carbapénèmase

- **Inconvénients :**

- Cout élevé
- Ne détectent que les gènes recherchés
- Risque de faux positifs et de faux négatifs [118].

V.II.3. Intérêt d'une étape d'enrichissement dans le dépistage des entérobactéries productrices de carbapénèmases :

Bien qu'il ait été démontré qu'une étape d'enrichissement améliore la détection des entérobactéries productrices de carbapénèmase de type KPC, l'apport d'une telle étape dans la détection des autres EMR/EPC n'a pas été clairement établi. Le désavantage majeur de cette étape d'enrichissement est le délai additionnel qu'elle impose (18 h à 24 h) dans la confirmation ou l'infirmité de la détection d'une EMR dans les prélèvements de dépistage. A l'inverse, **en situation épidémique, cette étape d'enrichissement pourrait augmenter la sensibilité du dépistage** des patients colonisés. [119]

Recommandations :

- **Situation non épidémique :**

Ensemencement direct des prélèvements de dépistage sur milieux adéquats.

- **Situation épidémique :**

J0 : Ensemencement des prélèvements directement sur des géloses sélectives + ensemencement d'un bouillon liquide d'enrichissement (bouillon cœur-cerveau ou Trypticase soja)

J1 : Si absence de colonies sur les géloses sélectives, ensemencement des mêmes géloses sélectives à partir du bouillon d'enrichissement

La présence de certains types de résistance peut être confirmée par des tests enzymatiques (recherche de carbapénèmase par hydrolyse de l'imipénème), ou par des tests de biologie moléculaire (recherche du gène *mcr-1*, par exemple) [14]. Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'identifier ultérieurement une EMR.

V.III.Dépistage des entérobactéries résistantes à la colistine :**V.III.1.Milieux non chromogène additionné d'ATB:****V.III.1.1Milieu Hektoen additionné de 2µg de colistine.**

Le milieu Hektoen est un milieu spécifique utilisé pour l'isolement des entérobactéries, additionné de 2µg de colistine, considéré comme l'ATB le plus actif sur les bacilles gram négatif, il permet d'éliminer toutes les entérobactéries sensibles ne laissant pousser que les entérobactéries résistantes à la colistine. [120][121]

V.III.2.Milieu chromogènes:

Les milieux de culture bactériens sélectifs permettent de rapidement détecter et identifier les organismes résistants aux polymyxines.

V.III.2.1.SuperPolymexin Medium

SuperPolymyxin, un de ces milieux, utilise une éosine base de gélose au bleu de méthylène (EMB), avec sélection pour le PolymexinResistance (PR) bactéries à Gram négatif obtenues par l'ajout d'une faible concentration de colistine (3,5 µg ml), de daptomycine (10 µg ml) et l'amphotéricine B (5 µg ml) afin d'inhiber la croissance des bactéries gram-positive et des agents fongique. Ce médium a été évalué et il a été prouvé être sensible et spécifique dans la croissance sélective d'entérobactérie résistantes aux PN, soit à partir de cultures pures ou en utilisant des échantillons de selles à pointes [122]



Figure 17 : SuperPolymexin Medium [123]

V.III.2.2.ChroMagar Colapse

Conçu pour être sélectif dans l'isolement et la différenciation de toutes les souches d'Acinetobacter, Pseudomonas, Stenotrophomonas et Enterobacteriaceae avec mécanismes intrinsèques, acquis ou non caractérisés de la résistance. Un avantage potentiel par rapport à SuperPolymyxin serait la capacité de récupérer et de différencier le PR organismes Gram négatif non fermentatifs ainsi qu'entérobactéries [122]

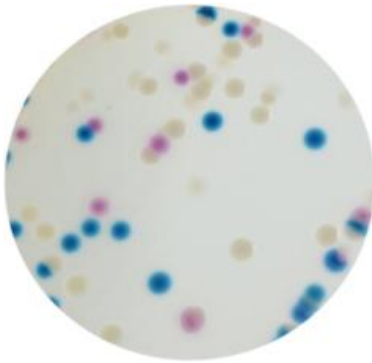


Figure 18: ChroMagarCOLAPSE [124]

V.III.3.Biologie Moléculaire :

Les techniques moléculaires sont capables de détecter la présence des gènes *mcr-1* et *mcr-2* responsables de la résistance plasmidique à la colistine. Dans une étude récente, une PCR permet en temps réel a été mise au point pour la détection du gène *mcr-1* directement à partir de selles [125]

Cependant, cette technique a été mise en point avant la découverte du gène *mcr-2* qui ne présente que 79% de similitude avec le gène *mcr-1*, malheureusement les amorces utilisées pour cette étude ne sont pas capables de détecter ce nouveau variant qui semble plus prévalant que le *mcr-1* surtout en Belgique. [126]

Y'a eu récemment, la mise en place d'une nouvelle PCR, et qui permet de détecter tous les gènes *mcr* (de 1 jusqu'à 5) ainsi que leur variant de manière rapide et efficace mais aussi de mieux les voir sur gel d'agarose. Il s'agit d'une technique PCR multiplex, l'utilisation de différents amorces pour chaque gène *mcr* a permis de pallier au problème rencontré dans les précédentes méthodes moléculaires utilisées pour la détection des gènes de résistance à la colistine.[126]

Chapitre VI : CONDUITE A TENIR EN CAS D'IDENTIFICATION ET D'ISOLEMENT D'UNE ENTEROBACTERIEMULTI- RESISTANTES

VI.I.Rôle du microbiologiste devant un cas de dépistage positif à EMR :

L'isolement d'une EMR, à partir d'un prélèvement à visée de dépistage, doit être systématiquement signalé au clinicien et à l'équipe soignante.

Le laboratoire de microbiologie doit donc mettre en évidence sur son compte-rendu de résultats la présence d'une EMR (tampon dédié, iconographie, feuille séparée, etc.), de façon à permettre la mise en œuvre rapide des mesures nécessaires ; L'information de l'ensemble de l'équipe soignante doivent permettre de limiter la diffusion des EMR. [127][128]

Des mesures supplémentaires concernant l'isolement des patients mais aussi le personnel peuvent être mises en œuvre. Il a été démontré que plus une épidémie est maîtrisée précocement, plus il est aisé de l'endiguer. Grâce à une information rapide du clinicien de la part du microbiologiste, ces derniers peuvent alors mettre au plu vite, en accord avec les services d'hygiène hospitalière et avec l'appui du CLIN, toutes les mesures supplémentaires ad hoc afin d'endiguer au plus vite la propagation de l'agent infectieux, à savoir:

- Investigation de la source,
- Traçabilité des patients et des germes,
- Désinfection des locaux,
- Sectorisation des porteurs et des contacts,
- Équipes dédiées,
- Cohorting

En contexte épidémiques, on s'attachera à produire rapidement un résultat afin de mettre en œuvre les précautions complémentaires de type contact le plus rapidement possible

Dans le compte-rendu bactériologique, il est important de spécifier les différentes EMR qui ont été recherchées et la méthode utilisée. La négativité du dépistage n'exclut pas la possibilité d'identifier une EMR ultérieurement (notamment après un traitement antibiotique) ni que la EMR soit présente en dessous du seuil de détection.

En cas de dépistage positif, il est nécessaire de préciser le ou les sites dans lesquels l'EMR a été isolée. Une indication spécifique doit également être rajoutée sur le compte-rendu de façon automatisée ou, à défaut, manuelle afin de notifier de façon évidente les porteurs d'EMR dans le service permettant aux soignants de mettre en œuvre rapidement les précautions complémentaires de type contact.[129][130][131][132][73][74][72]

VI.II. Conduite à tenir devant l'identification d'un porteur d'EMR au sein du service d'hospitalisation :

VI.II.1. Maîtrise de la diffusion et la transmission des entérobactéries multi-résistantes :

Afin de limiter la propagation des EMR dans les services et les unités de soins notamment dans les unités les plus sensibles telles : la réanimation, l'hématologie, etc., les organisations mondiales et internationales se sont mises d'accord sur les recommandations de maîtrise des bactéries multi-résistantes notamment les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération, les entérobactéries productrices de carbapénèmases et les entérobactéries résistantes à la colistine.

Ces recommandations reposent sur des précautions à mettre en place selon les situations qu'on divise en 3 parties :

Précautions standards qui concerne tout les patients, **précautions complémentaires** de types : contact et gouttelettes qui quant aux concernent les patients porteurs et/ou infectés par des Bactéries multi-résistantes BMR et a la fin on retrouve le dernier type de précautions : qui en plus des précautions complémentaires on ajoute des mesures spécifiques et une identification rigoureuse, ce dernier type **de précautions concerne les Bactéries Hautement Résistantes émergentes BHRe**, dans notre cas il s'agit des EPC. [132]

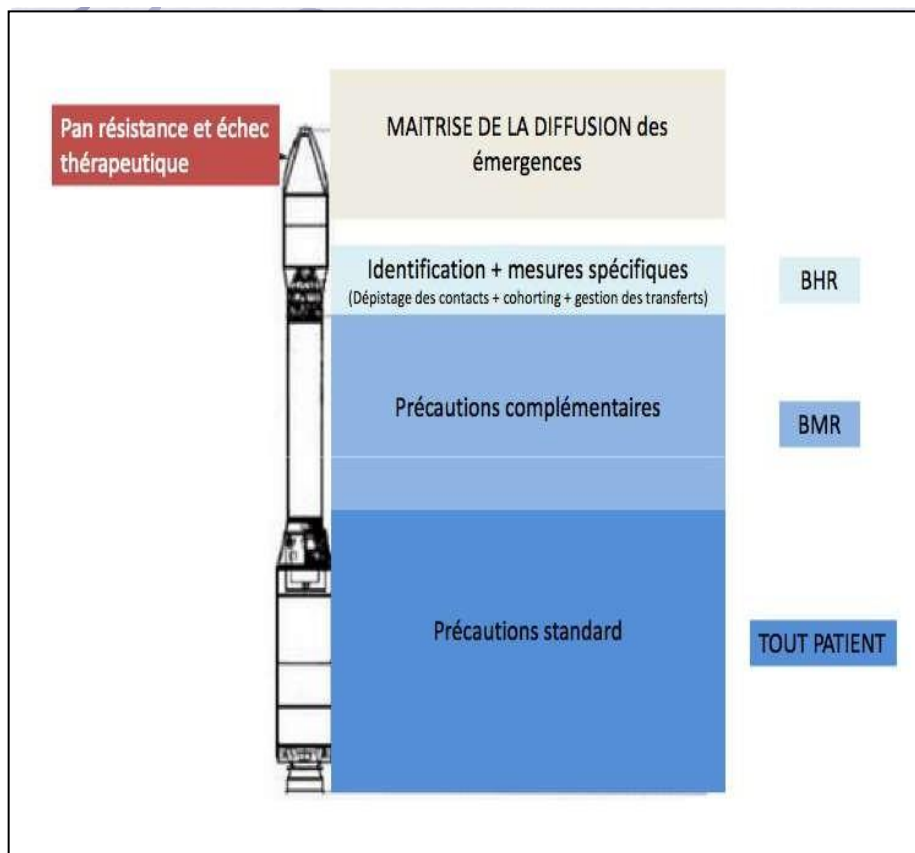


Figure 19 : les différents niveaux de précautions à appliquer pour la maîtrise de la diffusion des résistances bactériennes [132]

VI.II.1.1. Définition des précautions standards :

Pour la définition des précautions standards, se référer à l'annexe N°9.

VI.II.1.2. Définition des précautions complémentaires :

Les précautions complémentaires viennent toujours en aval des précautions standards, et sont divisées en 3 types en fonction du mode de transmission des bactéries, anciennement appelé : isolement technique, et reposent sur le principe : le patient peut sortir de sa chambre à condition que les mesures suivent.[138] [139]

VI.II.1.2.1.Précautions complémentaires contact :

Prévention de la transmission d'agents infectieux après contact physique entre un sujet colonisé ou infecté et un sujet réceptif (contact direct) ou par l'intermédiaire d'un vecteur présent dans l'environnement (contact indirect)

Principe : tout ce qui sort de la chambre est correctement décontaminé ou emballé
Les PCC sont indiqués pour le patient, le personnel de santé et tout visiteur entrant.

VI.II.1.2.2.Précautions complémentaires gouttelettes :

Prévention de la transmission, à courte distance (moins d'un mètre), d'agents infectieux par la production de gouttelettes contaminées, supérieures à 5µ, émises lors de la toux, des éternuements, de l'expression orale ou lors de certains soins.

VI.II.1.2.3Précautions complémentaires air :

Prévention de la transmission, au-delà d'un mètre, d'agents infectieux portés par des particules de moins de 5µ résultant de la dissémination dans l'air de gouttelettes de poussières contaminées.[139]

Tableau 10 : précautions complémentaires de contact et précautions complémentaires gouttelettes [original]

	Transmission par contact interhumain Précautions« contact » PCC	Transmission par lessécrétionsoro- trachéobronchiques Précautions« gouttelettes » PCG	Transmission AériennePrécautions« air » PCA
Hygiène des mains	SHA	SHA	SHA
Chambre individuelle	Recommandée (ou regroupement)	Recommandée (ou regroupement)	Chambreindividuelle Obligatoire
Masque Lunettes	Précautions Standard	Masque typechirurgical dans l'environnementimmédiat du patient (<1,5m)	Masqueobligatoire TypeFFP1
Gants	Si contact avec patient ou environnement	Précautions Standard	Précautions Standard
Sur-blouse	Si contact avec patient ou environnement	Précautions Standard	Précautions Standard

Matériel et linge	Précautions Standard	Précautions Standard	Précautions Standard
déplacement	A limiter	A limiter	A limiter +++

VI.II.2. La chimio-décontamination des porteurs d'EMR :

La chimio-décontamination a pour but de réduire, voire même éradiquer le portage de certains types de BMR, par exemple les entérobactéries multi-résistantes où on fait une décontamination digestive, afin de participer à limiter la dissémination de ces bactéries à partir des réservoirs humains

VI .II.2.1. La chimio-décontamination digestive :

VI.II.2.1.1.Les indications de la décontamination digestives des EMR :

➤ Dans les unités à risque élevé :

- cas unique ou situation épidémique limitée : décontamination de tout patient ayant un portage digestif authentifié de E-BLSE
- situation épidémique non contrôlée : l'efficacité de la décontamination digestive n'est pas reconnue

➤ Dans les autres unités : décontamination de tout patient non autonome (incontinent ou devant utiliser le bassin) ayant un portage digestif authentifié de EBLSE.

VI.II.2.1.2.Comment ?

Par l'administration de 2 antibiotiques des 3 mentionnés ci-après pendant au moins 3 semaines :

Colimycine : - adulte : 9 à 12 millions d'unités par jour en 3 à 4 prises

- enfant : 250 000 U/kg/jour en 4 prises
- nouveau-né : 90 000 U/kg/jour en 4 prises

Néomycine : - adulte : 2 grammes par jour en 4 prises

- enfant : 15 mg/kg/jour en 2 à 4 prises

Erythromycine base : - adulte : 2 grammes par jour en 2 prises

- enfant : 50 mg/kg/jour en 2 prises

D'autres schéma thérapeutique peuvent être utilisé, par exemple : la ciprofloxacine, la colistine, la polymyxine B, la néomycine et l'acide nalidixique

Le contrôle de l'efficacité de cette décontamination digestive repose sur une analyse hebdomadaire des écouvillons rectaux des patients ayant subi la décontamination. 3 écouvillons rectaux négatifs successifs permettent d'en conclure une négativité de portage. [140] [141] [142]

VI.II.2.2.La décontamination cutanée :

C'est une méthode utilisant un antiseptique, qui est la chlorhexidine à 2% et qui se résume à faire un nettoyage quotidien avec des lingettes dans le but de diminuer la charge bactérienne cutanée des patients hospitalisés dans les unités de soins intensives ou les patients d'onco-hématologie. La chlorhexidine est un antiseptique à large spectre actif sur les bactéries à gram positif mais aussi les bactéries à gram négatif, et cette méthode a montré une efficacité dans la réduction de la charge bactérienne de ces patients, mais elle présente quand même quelques inconvénients, on cite :

- Réaction allergique cutanée
- Développement de résistance des micro-organismes
- Hypersensibilité et anaphylaxie [143] [144]

VI.II.2.3.Les limites de la décontamination :

Comme toute thérapie utilisant des antibiotiques, la décontamination digestive présente des limites et des contre-indications ; on cite :

- L'utilisation prolongée des ATB lors de la décontamination peut être la cause de l'émergence de nouvelles résistances.
- L'utilisation de la vancomycine avec les autres ATB de la décontamination, peut être dangereux si une endémie de SARM et/ ou d'entérocoque est présente, on peut alors constater l'émergence de staphylocoque et/ ou d'entérocoque résistant à la vancomycine.
- L'utilisation de la décontamination n'est efficace et sans danger que si le portage des EMR et/ou des SARM est contrôlé au niveau communautaire, au niveau de l'hôpital et au niveau du service.
- La décontamination digestive n'est indiquée que dans les services à faible niveau de bactéries multi-résistantes.
- La décontamination peut être utile à certains patients, mais elle ne doit pas être considérée comme une stratégie thérapeutique permettant de contrôler l'écologie bactérienne d'un service de réanimation et/ ou d'onco-hématologie.
- La chimio-décontamination digestive doit être évitée en situation endémique car elle peut faciliter la sélection de souches multi-résistantes. [145] [146] [147]

PARTIE PRATIQUE

PRESENTATION DE L'ETUDE

I.PRESENTATION DE L'ETUDE:

Il s'agit de deux études réalisées au niveau de l'unité de bactériologie du laboratoire central, du CHU Blida, unité FRANTZ FANON.

I.I.Présentation de l'étude la première étude:**I.I.1.Type et période de l'étude :**

Il s'agit d'une étude rétro-prospective, et a été conduite sur une durée de 13 mois allant du 1^{er} Mars 2018 au 1^{er} Avril 2019 ;

Elle porte sur l'exploitation des résultats d'une étude de dépistage de portage des entérobactéries multi-résistantes, chez les patients admis au service d'onco-hématologie.

I.I.1.1.Critère d'inclusion :

- Patient : tout patient admis en onco-hématologie
- Prélèvement : tout prélèvement confondu, à visée de dépistage des patients admis en onco-hématologie
- Souche : toute souche d'entérobactérie présentant une multi-résistance.

I.I.1.2.Critères d'exclusions :

Ont été exclu :

- Les prélèvements reçus hors le service mentionné ci-dessus
- Les souches isolées chez le même patient, présentant le même profil antibiotique.

I.I.2.Objectifs :**I.I.2.1.Principal :**

Dépister parmi la population de l'étude les patients porteurs asymptomatiques d'Entérobactéries multi-résistantes (EMR).

I.I.2.2.Secondaire :

Définir les facteurs de risque de développement d'infection chez les sujets colonisés par ce type de bactérie.

I.I.2.3.Optionnel :

Mettre en place les précautions standards et les précautions complémentaires d'hygiène (PCH) requises afin de limiter la transmission croisée des EMR aux autres patients et le risque de diffusion épidémique

I.II.Présentation de la seconde étude :**I.II.1.Type et durée de l'étude :**

Il s'agit d'une enquête prospective réalisée au niveau de l'unité polyvalente du service des UMC du CHU Blida, unité FRANTZ FANON, suite à la découverte fortuite de deux cas de bactéries multi-résistantes appartenant à *Klebsiella pneumoniae*, l'enquête a été réalisée en une journée (le 07 mars 2019), où nous avons reçu au niveau de l'unité de bactériologie, les écouvillons rectaux des patients hospitalisé ce jour-là.

I.II.2.Critères d'inclusion :

- Tout patient hospitalisé au niveau de la réanimation le jour de l'étude
- Prélèvements rectaux des patients hospitalisés au niveau de la réanimation

I.II.3.Critères d'exclusion :

Ont été exclu :

- Les souches bactériennes présentant le même profil antibiotique isolées chez le même patient.

MATERIELS ET METHODES

II.I.Matériels :**II.I.1Matériels biologique :**

- Les souches d'entérobactéries isolées de différents types de prélèvements à visée de dépistage.
- Souche contrôle qualité : *E. coli* ATCC 25922.

II.I.2.Matériels non biologiques :

Eau physiologique, eau distillée, disque d'ATB, seringues, spatule, verreries, les milieux de cultures, écouvillons.

II.I.3.Appareillages :

Etuve, autoclave, pied à coulisse, densitomètre, bec benzène, microscope optique, réfrigérateur, pince, balance.

II.II.Méthode appliquée :

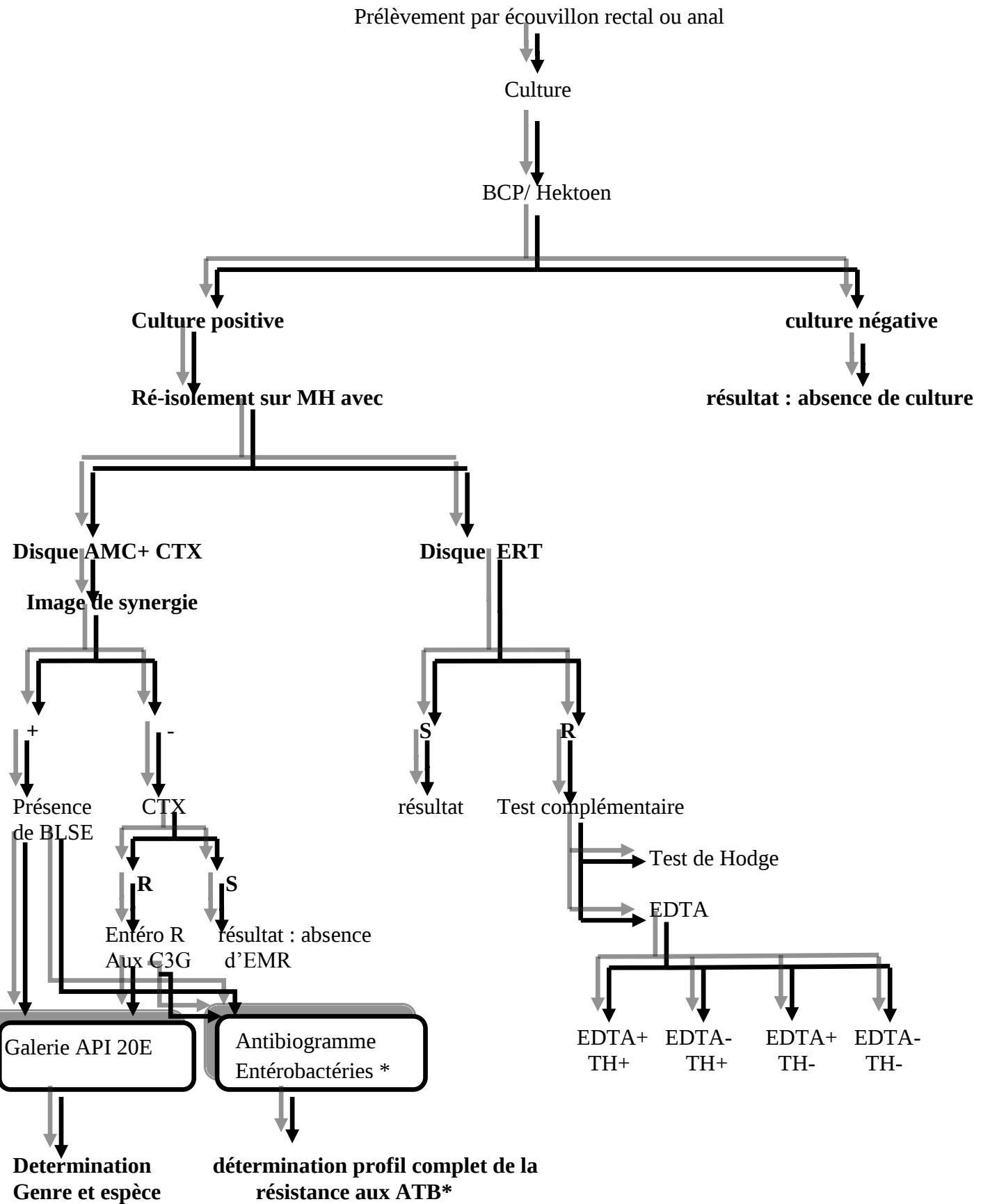
La même méthode de travail a été appliquée pour les deux études.

II.II.1.Description de la technique :

A la réception de l'échantillon (écouvillons de gites), on procède à son enregistrement sur le registre en lui attribuant un numéro d'ordre et en mentionnant toutes les informations relatives au patient, à savoir : nom, prénom, l'âge, type de prélèvement, service d'hospitalisation, ainsi que le résultat de l'étude de l'état frais du prélèvement.

Pour l'ensemencement, tout geste doit être fait a côté du bec benzène, la 1^{ère} étape consiste à humidifier l'écouvillon en ajoutant quelques gouttes du bouillon BGT (on peut utiliser le bouillon BHIB ou même de l'eau distillée lorsque les deux bouillons sont indisponibles), puis à l'aide de l'écouvillon humide, on décharge sur un 1^{er} cadran sur un milieu spécifique à l'isolement des entérobactéries à savoir : milieu hecktoen ou milieu BCP, puis à l'aide d'une pipette pasteur qu'on stérilise au bec benzène, on fait des ré-isolement sur 4 cadrans, on incube la boîte de pétri, couvercle en bas, dans l'étuve à 37°C +/- 1 pendant 18 à 24H.

Après incubation, on vérifie la poussée de bactéries ou non ; absence de culture, on délivre le résultat : absence de culture. Si la poussée bactérienne était positive, on réalise des tests de sensibilités aux antibiotiques (AMC, CTX et ETP sur milieu Mueller Hinton (MH)).



* : Annexe N3

Figure 20: logigramme du protocole suivi durant notre étude.

II.II.1.1 Préparation de l'inoculum pour antibiogramme :

- À partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine ou pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse ou la pipette dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

II.II.1.2. Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.
- Application des disques d'antibiotiques :
 - Tester les antibiotiques : amoxicilline+ acide clavulanique (AMC), amoxicilline (AM), céfotaxime (CTX)
 - Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application. On incube les boîtes à 37°C pendant 18 à 24h, toujours le couvercle en bas.

Toutes souches suspectes BLSE et/ou carbapénémase, feront l'objet d'une identification biochimique grâce à la galerie API 20^E et un antibiogramme.

II.II.2. Présentation de la galerie API 20^E

Galerie de 20 micro-tubes prêts à l'emploi permettant de réaliser 23 tests biochimiques afin d'identifier des bacilles Gram – appartenant à la famille des enterobacteriaceae.

II.II.2.1 Préparation de l'inoculum :

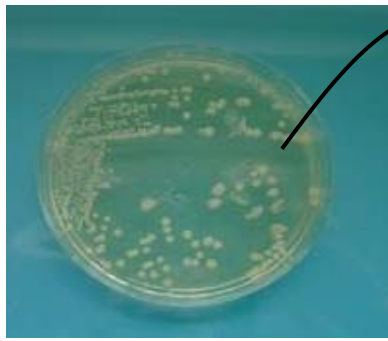
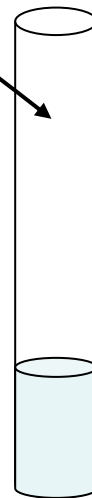


Figure 21: prélèvement souche pure [originale]



5ml d'eau distillée stérile

Suspension d'opacité de 0,5 MF

II.II.2.2. Ensemencement de la galerie :

Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles.



Figure 22: galerie API 20E [photo originale]

Pour certains caractères :



Figure 23: paramètres à remplir complètement [original]

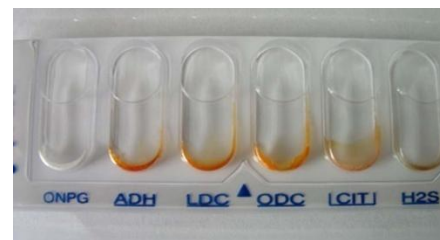


Figure 24: paramètre nécessitant une atmosphère anaérobie par l'ajout de la vaseline [original]

Remplir de suspension le tube la cupule : VP, GEL, CIT.

remplir le tube de suspension et ajouter de la et Vaseline LDC, ODC, ADH, H2S et UREE

On incube la galerie dans l'étuve, 37°C +/- 2° pendant 18 à 24 heures.

II.II.2.3. Interprétation :

Après incubation :

Une souche BLSE positive est déclarée par l'apparition d'une image de synergie (bouchon de champagne) entre les disques d'AMC et de CTX.

Une souche productrice de carbapénémase présentera un diamètre d'inhibition autour du disque d'ERT inférieur à 18mm. *

* : selon les recommandations de la standardisation des tests d'ATB, 7eme édition 2014

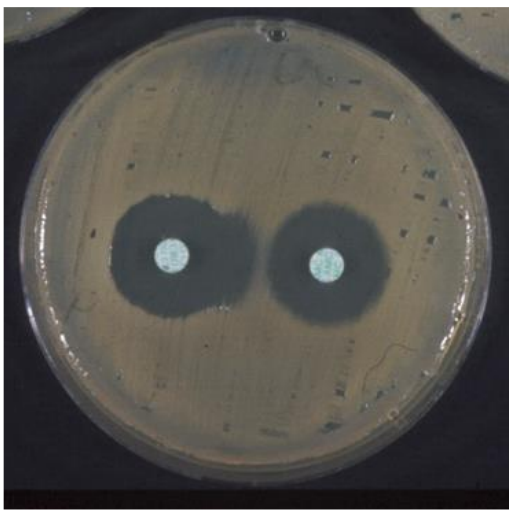


Figure 25 : apparition d'image de synergie: bouchon de champagne ; [originale]

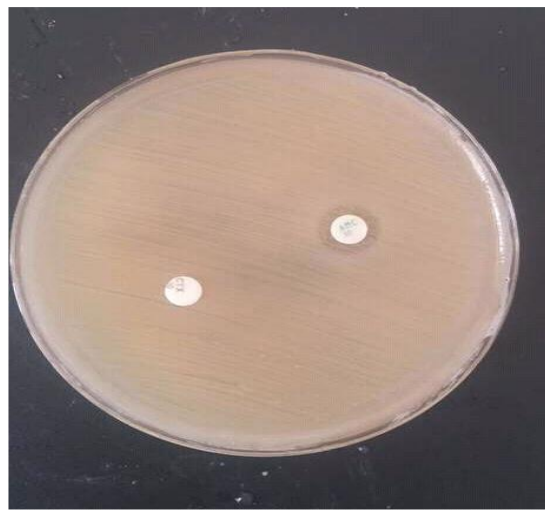


Figure 26: absence d'image de synergie [originale]

II.II.2.4. Interprétation de la galerie API 20^E :

➤ Les 10 premiers tests :

Test négatifs :



Figure 27 : les 10 premiers tests de la galerie API 20E négatifs [originale]

Test positifs :



Figure 28: les 10 premiers tests de la galerie API 20E positifs [originale]

➤ Les 10 derniers tests :

Test négatifs :

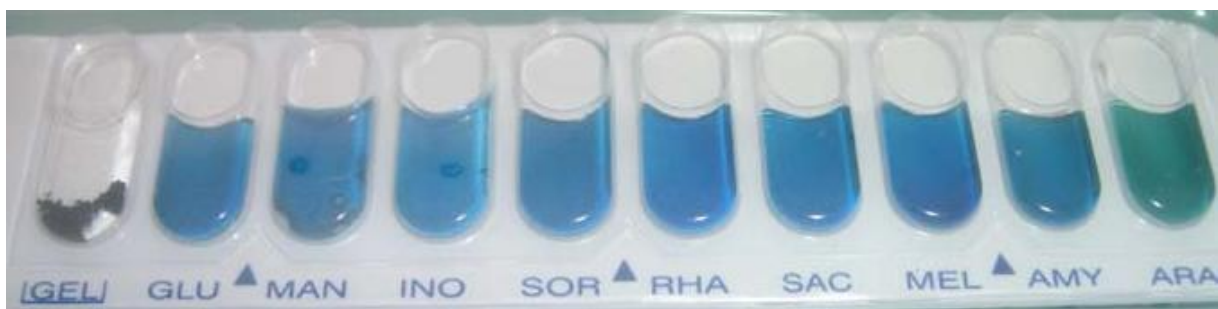


Figure 29: les 10 derniers tests de la galerie API 20E négatifs [originale]

Test positifs :



Figure 30 : les 10 derniers tests de la galerie API 20E positifs [originale]

II.2.2.5. Identification de la souche :

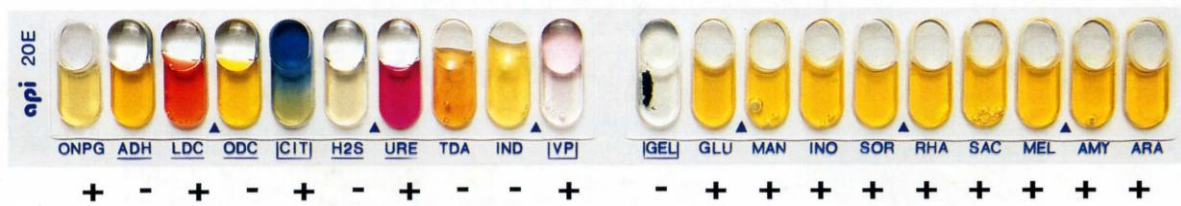


Figure 31 :galerie API 20E après une nuit d'incubation et ajout de réactifs[original]

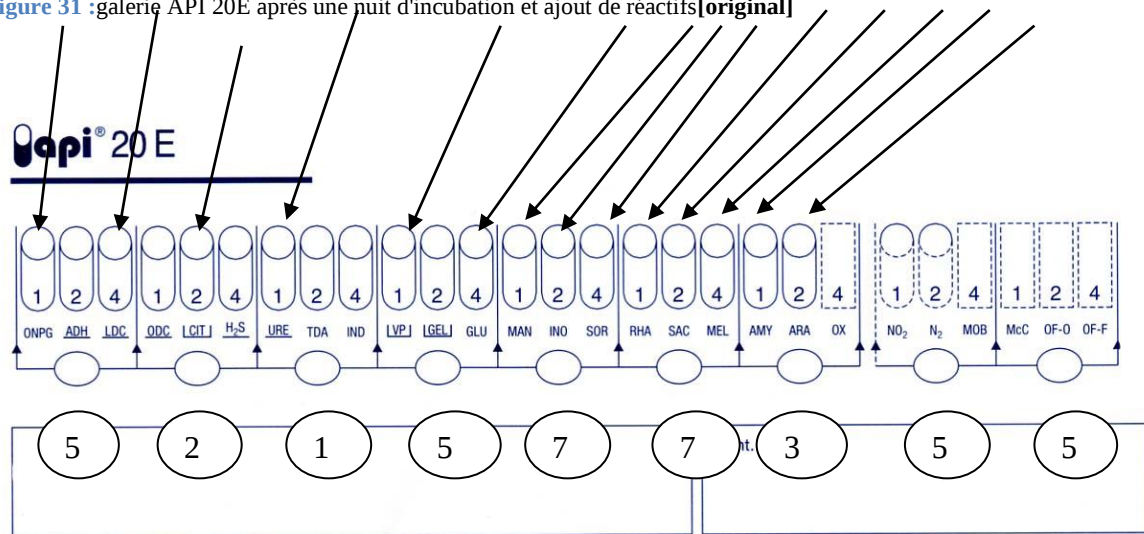


Figure32: fiche d'identification de la galerie API 20E [originale]

Puis à l'aide du logiciel APIword, on reporte le code obtenu et on note la souche qui correspond à ce code avec un pourcentage de l'identification.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.I. Résultatset discussion de la 1ere étude :**III.I.1.Prélèvements :**

Durant la période de l'étude ,170 patients atteints d'hémopathie maligne ont bénéficié d'un prélèvement de dépistage, 376 prélèvements de gites à visée de dépistage ont été effectués (buccal, nasal, vaginal, anal, auriculaire, oculaire et gorge).

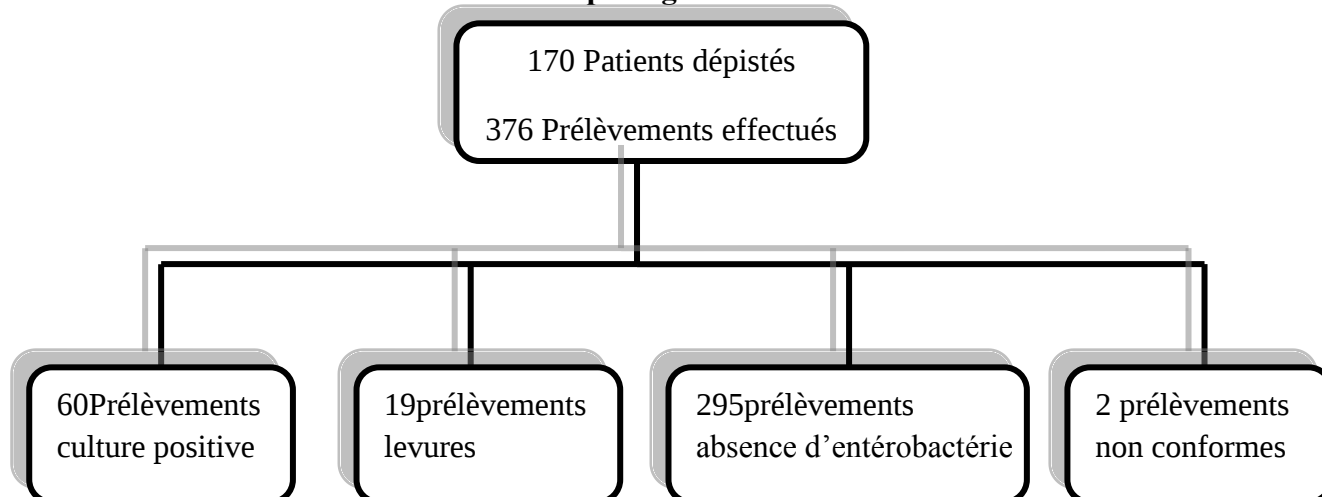
III.I.2. Résultats de la recherche du portage d'EMR :

Figure 33 : schéma simplifié de la répartition des résultats de dépistage

III.I.1.2.1.Répartition selon la nature du prélèvement :

Tableau11 : répartition des prélèvements selon leur nature

prélèvement	buccal	Anal	nasal	Gorge	auriculaire	vaginal	oculaire
nombre	97	97	93	37	34	18	1

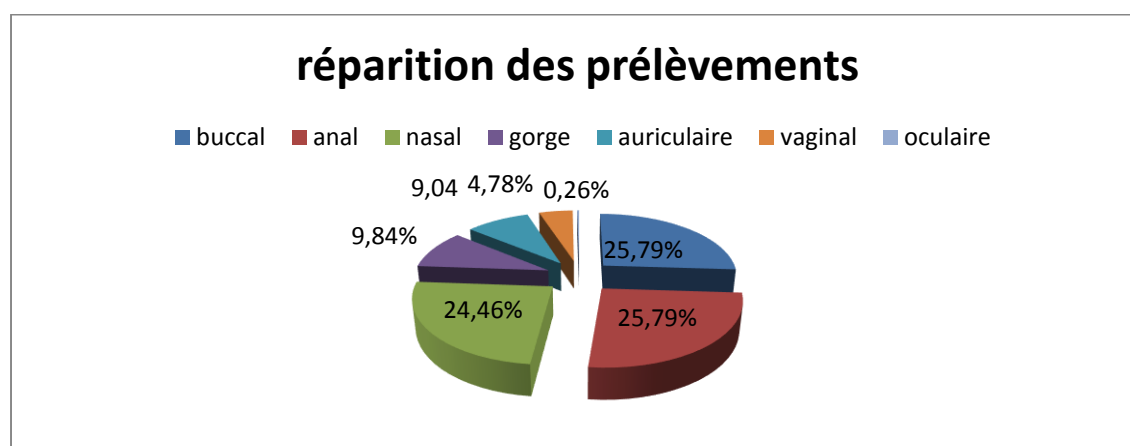


Figure 34: répartition des prélèvements reçus

On constate que les prélèvements les plus fréquemment effectués dans le cadre de dépistage sont les prélèvements buccaux et anaux, suivi des prélèvements nasaux.

On constate par ailleurs que pour 73 (170-97) patients, ces prélèvements (anaux et buccaux) n'ont pas été effectués, ce qui pourrait décélérer le taux d'isolement d'entérobactéries multi-résistantes constaté dans notre étude moindre.

III.I.3. Résultats de culture des prélèvements de dépistage :

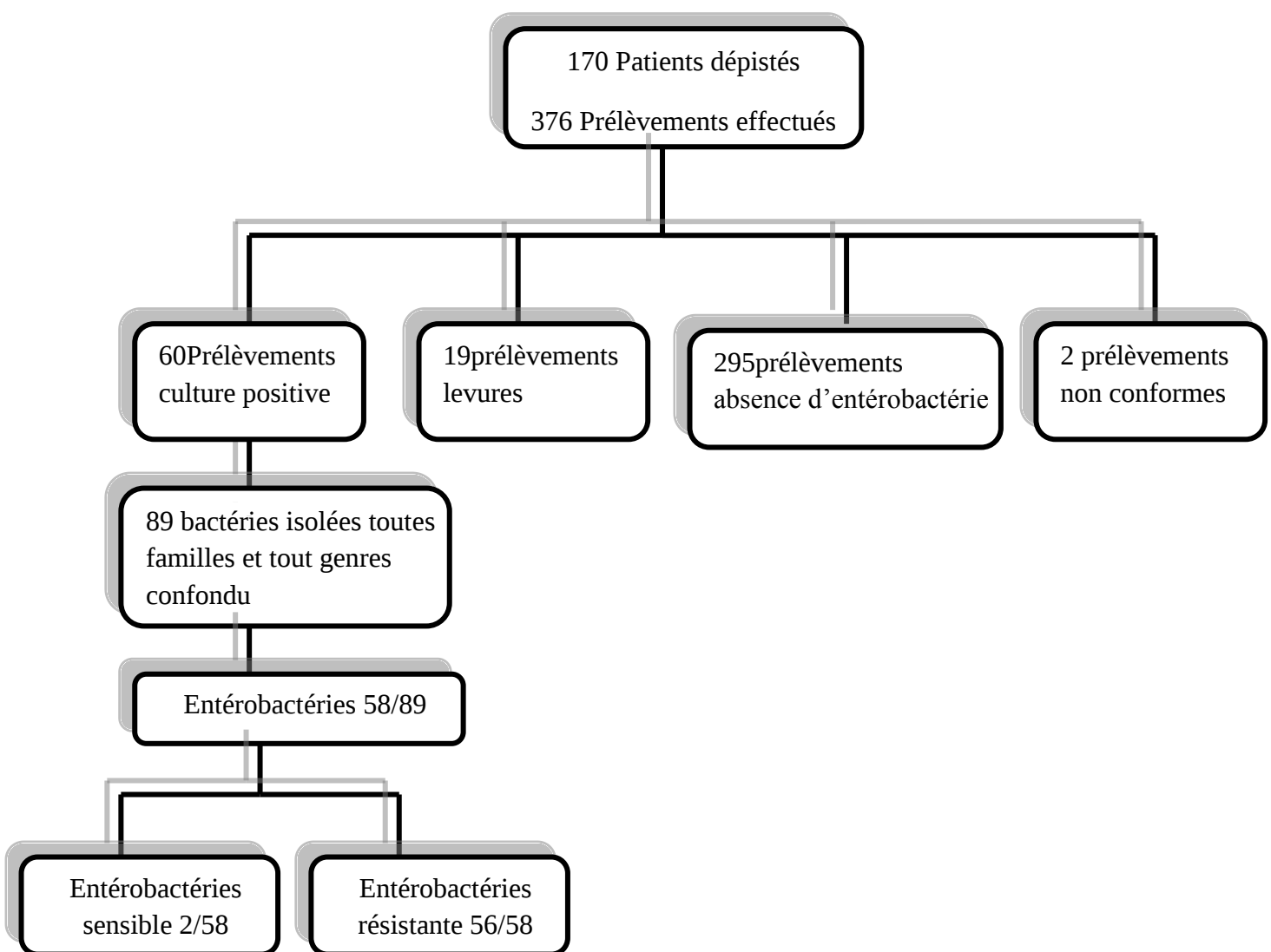


Figure 35 : schéma simplifié de la répartition des résultats de dépistage

III.I.1.2. Répartition des entérobactéries multi-résistantes selon l'espèce :

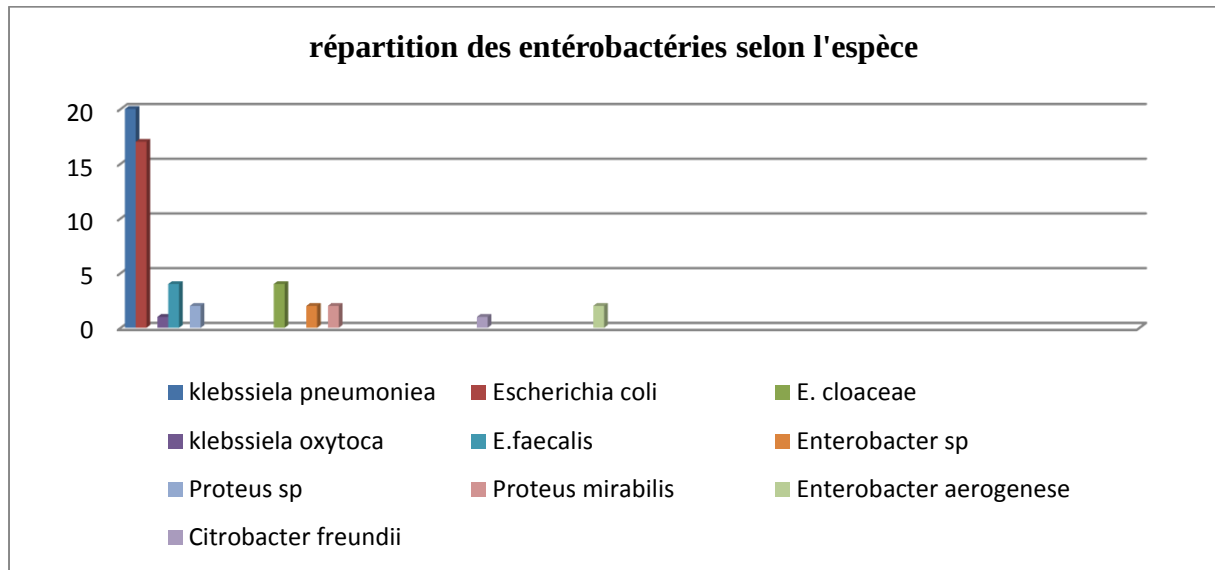


Figure 36 : répartition des entérobactéries multi-résistantes selon l'espèce bactérienne

III.I.1.3. Répartition des entérobactéries multi-résistantes isolées selon le mécanisme de résistance :

56/58 souches d'entérobactéries isolées étaient résistantes, et présentant deux mécanismes de résistances (production d'une BLSE et un mécanisme de résistance aux C3G), répartis comme suit :

- 16 souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de beta-lactamases à spectre élargi.
- 6 souches de *Klebsiella pneumoniae* présentant un mécanisme de résistance aux C3G
- 7 souches d'*Escherichia coli* productrices de beta-lactamases à spectre élargi.
- 9 souches d'*Escherichia coli* présentant un mécanisme de résistance aux C3G
- 4 souches d'*E. faecalis* résistante aux C3G
- 1 souche d'*Enterobacter aerogenes* productrices de beta-lactamases à spectre élargi.
- 1 souche d'*Enterobacter aerogenes* résistante aux C3G
- 1 souche *Proteus* productrice de BLSE
- 1 souche *Proteus* résistante aux C3G
- 2 souches *Proteus mirabilis* non productrices de BLSE
- 4 souches d'*Enterobacter cloacae* résistantes aux C3G
- 1 souche de *Klebsiella oxytoca* résistante aux C3G
- 1 souche d'*Enterobacter* productrice de BLSE
- 1 souche d'*Enterobacter* résistante aux C3G
- 1 souche de *Citrobacter freundii* résistante aux C3G

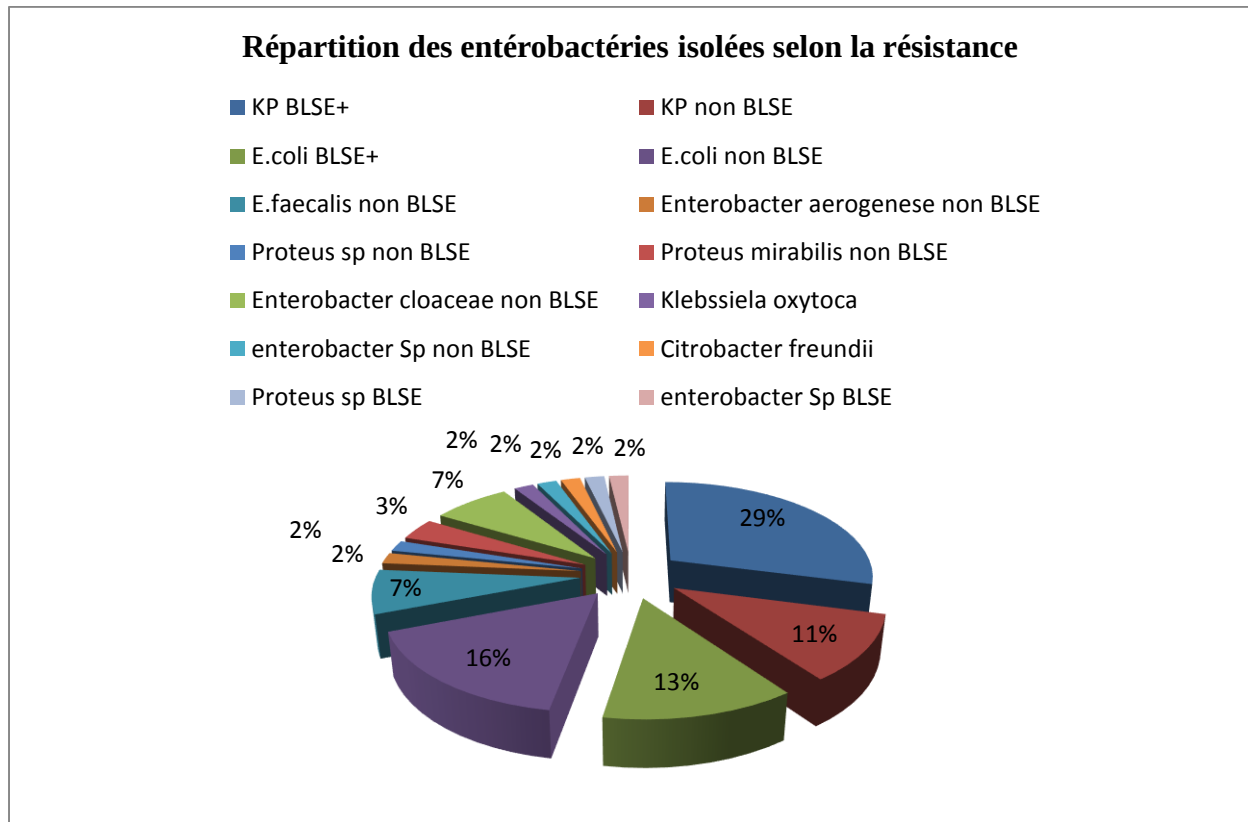


Figure37 : répartition des entérobactéries isolées selon le mécanisme de résistance

De l'ensemble des prélèvements : 89 étiologies bactériennes ont été isolées à partir de 376 prélèvements donnant un taux de positivité de 23,67% chez les sujets admis en onco-hématologie atteints d'hémopathie maligne.

56 souches d'entérobactéries multi-résistantes (sujet de notre thèse) ont été isolées, soit un taux de 14,97%, aucun cas de résistance aux carbapénèmes ou à la colistine n'a été isolé.

Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération isolées, présentaient deux mécanismes de résistance : une production de beta-lactamase à spectre élargi retrouvé chez 26/56 (46,42%) et 30/56 (53,57%) présentaient un mécanisme de résistance aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) autre que la production de BLSE.

De similaires résultats déjà trouvés chez plusieurs études notamment : celle de Benamara M et al qui a révélé que sur une période de 08 ans (allant du 1^{er} janvier 2011 au 31 décembre 2018) un taux de 20,45% d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération chez les sujets admis en onco-hématologie, aussi l'étude réalisée en République Tchèque, qui sur une période de 3 mois (allant du 01 Novembre 2012 au 31 Janvier 2013) a révélé un taux de 20,1% (15/71) d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération, avec 8 souches productrices de beta-lactamase à spectre élargi (11,3%) et 7 souches productrices de céphalosporinases hyper-produite AmpC (9,8%), une autre étude réalisée en Côte-d'Ivoire a montré une prévalence de portage d'entérobactéries productrices de BLSE de 27%. Ces souches avaient été détectées dans les fèces d'individus sains vivant dans un village (Albrechtova *et al.*, 2014).

On constate que souvent des taux élevés d'entérobactéries multi-résistantes sont isolées chez les patients admis en onco-hématologie, atteints d'hémopathie maligne.

En effet, l'hémopathie maligne représente à ce jour l'une des pathologies, les plus à risque d'acquisition de BMR notamment les EMR, secondaire à de multiples facteurs de risque cumulés, incluant : la présence de dispositifs invasifs, la lourdeur thérapeutique et la myélosuppression ; cette dernière engendre un état de neutropénie profonde voir l'aplasie, qui affaiblit les patients sur le plan immunitaire et les expose à un risque important d'infections à EMR. L'utilisation empirique d'ATB et notamment les beta-lactamines dans la prise en charge des infections à entérobactéries a induit l'émergence de souches multi-résistantes. Cette émergence est la conséquence de la pression de sélection des antibiotiques [148] [149] [150] [151][152]

III.I.1.4.Répartition des entérobactéries multi-résistantes isolées selon la nature du prélèvement :

Les entérobactéries multi-résistantes ont été isolées à partir des prélèvements initiaux suivants : anal, buccal, vaginal, nasal et gorge, en proportion suivante :

Tableau 12 : répartition des espèces d'entérobactéries isolées selon la nature du prélèvement

prélèvement espèce	Anal	Buccal	Nasal	Vaginal	Gorge
KPBLSE+	12		2	1	1
KP non BLSE	5			1	
E.coliBLSE+	7				
E.coli non BLSE	8				1
E.faecalis non BLSE	4				
Enterobacter aerogenes non BLSE	1				
Enterobacter aerogenesBLSE			1		
Proteus sp non BLSE	1				
Proteus mirabilis non BLSE	1		1		
Enterobacter cloacae non BLSE	2			1	1
Enterobacter spBLSE	1				

Enterobacter sp nonBLSE	1				
Citrobacterfreundii non BLSE	1				
Klebsiellaoxytoca non BLSE	1				
Proteus spBLSE	1				
Total par prélèvement	45	1	4	3	3

On constate que le prélèvement anal, est le prélèvement le plus rentable dans le dépistage des entérobactéries multi-résistantes,

Cette constatation est faite suite à l'isolement de 45 souches d'entérobactéries multi-résistantes ce qui représente un taux de 80,35% des souches isolées tout prélèvement confondu (45/56), à partir du prélèvement anal, ce qui est en parfait accord avec la littérature, ceci est expliqué par le réservoir des entérobactéries (système digestif). Suivi du prélèvement nasal (4 souches d'EMR ont été isolées à partir de 93 prélèvements).

On constate aussi que malgré le nombre élevé de prélèvements buccaux effectués (97 prélèvements), le taux d'isolement d'entérobactérie multi-résistante est très faible (1 souche sur 56) par rapport au prélèvement nasal et anal.

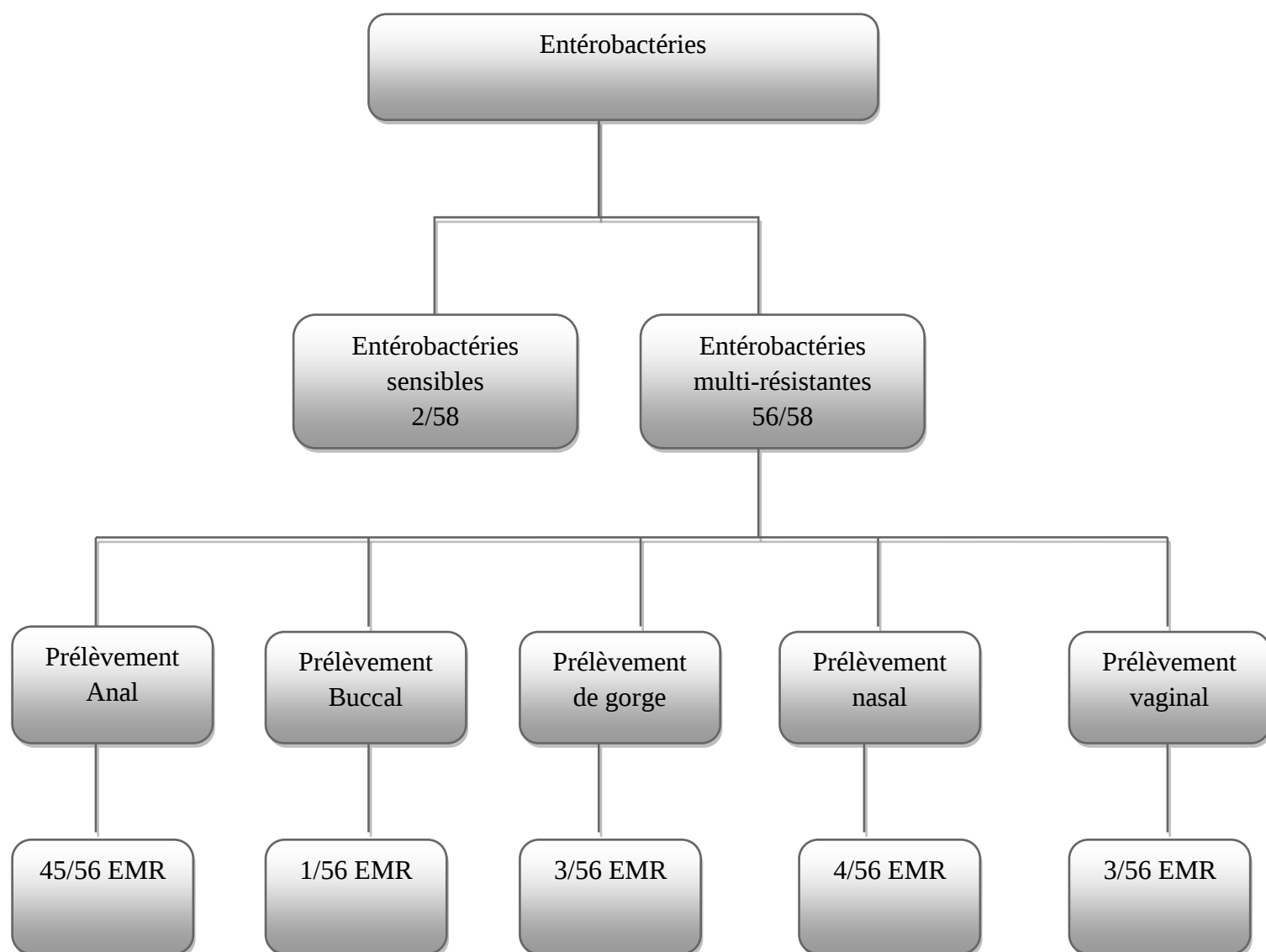


Figure 38 : résumé de la répartition des entérobactéries multi-résistantes selon la nature du prélèvement

III.II. Résultat de la 2eme étude :

La 2eme étude a été menée sur une journée, suite à la découverte fortuite de deux souches de *klebsiellapneumoniae* ultra-résistantes metallo-carbapénèmase, ne restant sensible qu'à la colistine, isolée à partir d'un prélèvement distal protégé (PDP) ; au niveau du service de la réanimation, ou nous avons reçu :

9 prélèvements rectaux des patients hospitalisés ce jour-là, et leur résultat est présenté dans le tableau suivant :

Tableau 13: résultat de l'enquête de dépistage faite au niveau du service de la réanimation

Numero prélèvement	CULTURE BACTERIEN NE	RESULTAT	RESISTANCE
1	NON	Absence de culture bactérienne	/
2	OUI	Absence d'entérobactéries multi ou ultra-résistante	CTX :S, Cs :S, ETP :S
3	NON	Absence de culture bactérienne	/
4	OUI	Entérobactérie résistantes aux céphalosporines de 3eme génération	AMC: R, CTX : R ETP : S, Cs : S
5	OUI	Absence d'entérobactéries multi ou ultra-résistante	ETP : S , AMC : S, CTX: S
		Absence d'entérobactéries multi ou ultra-résistante	AMC: R, CTX: S,ETP : S
6	OUI	Absence d'entérobactérie multi-résistante	/
7	NON	Absence de culture bactérienne	/
8	OUI	Entérobactérie résistantes aux céphalosporines de 3eme génération	CTX :R, Cs :S, ETP :S
9	NON	Absence de culture bactérienne	/

5 prélèvements sur 9 avaient une culture bactérienne positive, dont 2/5 présentaient un mécanisme de résistance aux céphalosporines de 3eme génération.

Le patient dont la souche de *Klebsiella pneumoniae* ultra-résistante a été isolée n'était pas inclu dans la population de notre enquête suite à son transfert vers un autre service.

On note que la souche ultra-résistante de *Klebsiella pneumoniae*, qui est à l'origine de l'enquête de dépistage n'a pas diffusé chez les autres patient, donc il s'agit d'une souche de la flore du patient qui est devenue résistante suite à l'utilisation prolongée des ATB et à l'exposition aux dispositifs invasifs (le patient était sous ventilation respiratoire et sous entrapénème) ; Utilisation d'ATB et de dispositifs invasifs étaient toujours liée à une forte prévalence et présentant toujours un facteur de risque élevée d'acquisition d'entérobactéries multi-résistantes notamment en service de réanimation, constatations ayant déjà été mentionnée

dans d'autres études, notamment l'étude réalisée en Inde dans le cadre de dépistage des entérobactéries multi-résistantes en réanimation.. [87]

**ÉTUDE 3 : ÉLABORATION ET
ÉVALUATION D'UN MILIEU DE
CULTURE ADDITIONNE
D'ANTIBIOTIQUE**

L'un des moyens les plus efficaces pour freiner la dissémination des entérobactéries multi, ultra et toto-résistantes reste : le dépistage précoce des porteurs de ces EMR que ce soit en milieu hospitalier et/ou communautaire. Le dépistage permet non seulement d'identifier les porteurs asymptomatiques des EMR mais aussi d'instaurer de manière précoce les précautions standards et/ou complémentaires afin de lutter contre la propagation et la dissémination des entérobactéries multi-résistantes.

C'est dans ce cadre, que nous avons souhaité améliorer les techniques de dépistage appliquées au laboratoire par l'élaboration d'un milieu de culture spécifique aux entérobactéries additionné d'antibiotiques dans le but de sélectionner les résistances recherchées.

Nous avons utilisé l'agar MacConkey comme milieu sélectif pour les entérobactéries, et nous y avons ajouté de :

- De la ceftazidime (qui est une céphalosporine de 3eme génération) afin de dépister les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération.
- De l'ertapénème (qui est une carbapénème) dans le but de dépister les entérobactéries productrices de carbapénémases.

IV.I.Objectif :

L'objectif de cette étude est d'expérimenter :

- Le milieu de dépistage MacConkey additionné de ceftazidime à une concentration de 2mg/l.
- Le milieu MacConkey additionné d'ertapénème a une concentration de 2mg/l

pour le dépistage en un temps raisonnable (moins de 24h) la présence d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération et les entérobactéries productrices de carbapénémases respectivement dans les prélèvements de dépistage au niveau des unités à haut risque d'EMR ou dans des situations d'épidémies.

- Tester la stabilité du milieu élaboré.

Pour le protocole adopté pour notre étude, il est inspiré d'une étude faite en juillet 2014 intitulé : Evaluation of Drigalski agar supplemented with ceftazidime (2 mg/L) for selective isolation of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae, et publié dans le journal africain de la microbiologie et de la recherche.

IV.II.Matériels et Méthode:

IV.II.1.Souches de références :

Pour notre étude, nous avons utilisé les souches de références suivantes :

- *Escherichia coli* ATCC 25922 : sensible aux ATB
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27583 : sensible aux ATB

IV.II.1.Souches résistantes :

Des souches résistantes à la ceftazidime et à l'ertapénème connues ont été utilisées.

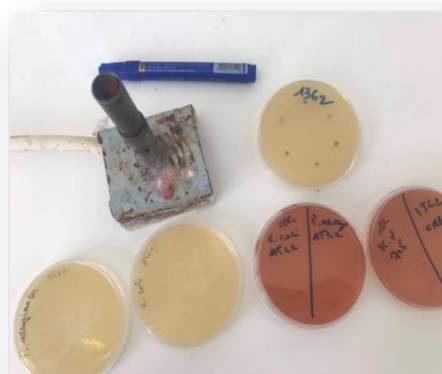


Figure39:souches ATCC *E.coli* et *P. aeruginosa* [originale]



Figure40:les différentes souches utilisées sur gélose nutritive [originale]

IV.III.Moyen à valider :

L'agar MacConkey, fournit par l'institut pasteur d'Alger –IPA- additionné de ceftazidime d'un côté et ertapénème d'un autre à 2mg/l est comparée à la méthode classique adoptée par le personnel de l'unité bactériologie (méthode expliquée en détails lors de la 1ere partie pratique : dépistage des patients admis en réanimation et en onco-hématologie, page :64).

IV.III.1.Préparation de la solution mère d'antibiotiques :

Une quantité de 2 mg de : ceftazidime et ertapénème est pesée ensuite ajoutée à 5ml d'eau distillée stérile, nous obtenons ainsi une concentration initiale de 0,4mg/l de chaque ATB.

IV.III.2.Préparation du mélange : milieu MacConkey et ATB :

Le milieu MacConkey fournit par l'IPA et il est prêt à l'emploi, il suffit juste de le faire fondre à l'autoclave. liquide, nous remplissons des flacons stériles avec 20 ml, nous prenons les flacons stériles remplis de gélose et on les met dans un bain mari à 80°C pendant 5mins Le volume (Vi) de la solution mère d'antibiotique à ajouter aux flacons de gélose de 20 ml est déterminé par la relation suivante :

$$C_i V_i = C_f V_f \dots\dots\dots(1)$$

Ci : concentration initiale de la solution d'antibiotique (0,4 mg/ml)

Vi : volume de la solution d'antibiotique à ajouter (?)

Cf : concentration finale du milieu MacConkey additionné d'ATB (2mg/l)

Vf : volume finale de la gélose (20ml)

En utilisant les données ci-dessus ainsi que l'équation(1), nous trouvons que le volume Vi de la solution d'antibiotique à ajouter au 20 ml de la gélose est égal à 100µl

Après 5mins, on retire les flacons de la gélose du bain main mari, on laisse refroidir sur la paillasse, après on incorpore 100µl de l'antibiotique (ceftazidime ou ertapénème), après homogénéisation du mélange, le contenu de chaque flacon est versé dans des boîtes de pétri de 90mm.



Figure41:balance avec un poids de 0,2mg d'ATB [originale]



Figure42:gélose MacConkey en flacon fournit prêt à l'emploi [originla]

IV.III .3.Contrôle qualité :

Le milieu est contrôlé par les souches sensibles, *Escherichia coli* ATCC et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC et les souches sensibles de *Klebsiella pneumoniae* afin de s'assurer de sa qualité de milieu de dépistage des entérobactéries multi-résistantes.

IV.III .4. Test de stabilité :

Ce test est performé dans le but de voir la stabilité du milieu, sachant qu'un antibiotique en poudre, une fois en solution à une stabilité médiocre. Pour ce faire ; on utilise les souches de références ATCC ainsi que les souches bactériennes connues déjà résistantes à l'ertapénème et à la ceftazidime.

– MacConkey additionné de ceftazidime :

Ce milieu est élaboré dans un but de dépistage des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération, on a testé deux souches sensibles (ATCC *Escherchia coli* et ATCC *Pseudomonas aeruginosa*) ainsi que deux souches résistantes (*Klebsiella pneumoniae* 7063, et *Klebsiella pneumoniae* 7062). A partir des souches de conservations, on ré-isole sur milieu gélose nutritive, dans le but de tester la stabilité avec des colonies de 24H. Les images suivantes montrent le résultat obtenu :

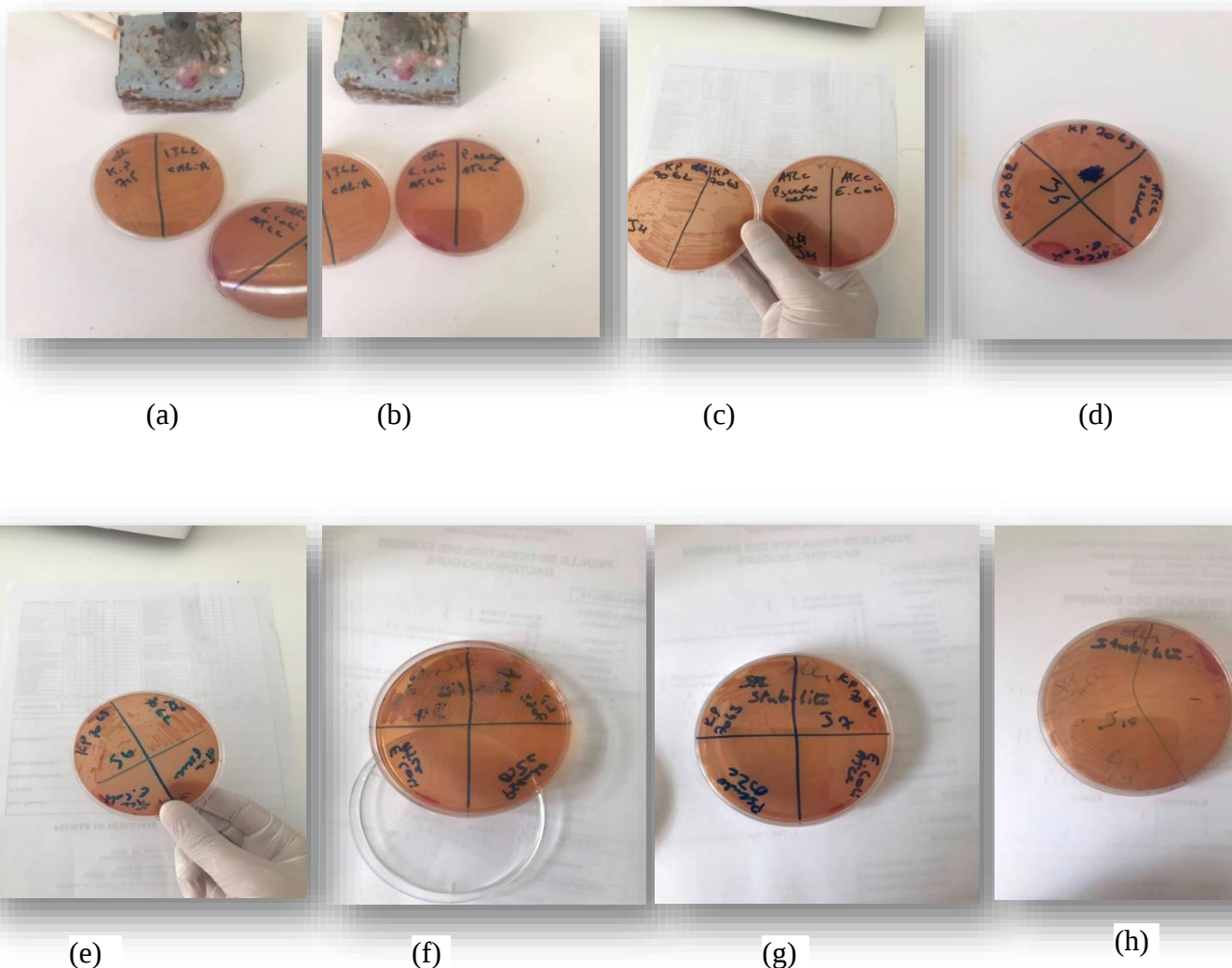


Figure 43: test de stabilité pour la gélose MacConkey additionné de 2mg/l de ceftazidime sur 10 jours [photo originale]

- (a) J0 souche de *Klebsiella pneumoniae* résistante à la ceftazidime
- (b) J0 souche d'ATCC *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa*
- (c) Ensemencement J4 des 4 souches
- (d) Ensemencement J5 des 4 souches
- (e) Ensemencement J6 des 4 souches
- (f) Ensemencement J7 des 4 souches image frontales de la boîte
- (g) Ensemencement J7 des 4 souches
- (h) Ensemencement J10 des 4 souches

– MacConkey additionnée d'ertapénème :

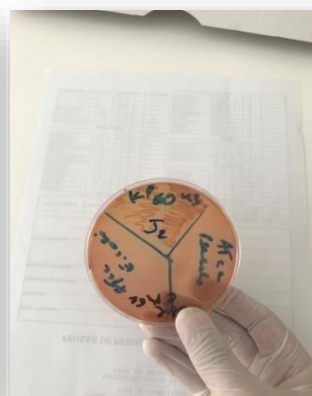
Ce milieu est développé dans le but de dépister et de rendre une réponse rapide quant à la présence d'une entérobactérie productrice de carbapénémases. Pour le test de la stabilité, on a utilisé les mêmes souches ATCC sensibles (*E.coli* et *P.aeruginosa*), pour la souche résistante, on a opté pour une souche de *Klebsiella pneumoniae* : EDTA +, test de hodge +. Les suivantes montrent le résultat obtenu :



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)

Figure 44: test de stabilité pour la gélose MacConkey additionné de 2mg/l d'ertapénème [originale]

- (a) ensemencement J0 des 3 souches
- (b) ensemencement J1 des 3 souches
- (c) ensemencement J2 des 3 souches
- (e) ensemencement J3 des 3 souches
- (f) ensemencement J10 des 3 souches
- (g) ensemencement J10 des 3 souches : image frontale

On remarque dans les deux cas, qu'on a de très bons résultats :

- Les souches ATCC sont sensibles aux ATB et par la suite elles ne devraient pas pousser sur la gélose MacConkey, c'est ce que nous avons trouvé dans les deux cas (MacConkey+ ceftazidime et MacConkey+ ertapénème)
- Les souches résistantes doivent pousser sur la gélose malgré l'existence des ATB, et c'est ce que nous avons obtenu comme résultat.
- Pour le milieu MacConkey additionné de ceftazidime, on a obtenu un résultat identique entre J10 et J0.
- Pour le milieu MacConkey additionné d'ertapénème, on a obtenu un résultat identique entre J10 et J0.

IV.III.5. Expérimentation du milieu :

Dans le but de valider le milieu et de s'assurer de son efficacité, on a lancé les prélèvements des malades reçus à notre niveau en deux méthodes :

1. Méthode classique (utilisant gélose BCP)
2. Méthode nouvelle (MacConkey + ATB)

Les prélèvements testés étaient :

- 3 prélèvements Prélèvement Distal Protégé (PDP), appartenant à 3 patients différents admis en réanimation
- 3 prélèvements de gites d'un seul patient : (prélèvement anal, buccal et nasal)
- 6 prélèvements de gites d'une seule personne : (prélèvement buccal, nasal, anal, retro-auriculaire, plaie inguinale et plaie axillaire)
- 9 prélèvements correspondant à 9 patients différents effectués au niveau du service de la réanimation pour un objectif double : comparer la nouvelle méthode à la méthode classique, et faire un dépistage pour les 9 patients admis en réanimation le lundi 20 mai 2019.

IV.III .6. Résultats et discussion de la comparaison entre les deux méthodes :

- Pour les 3 PDP :

On a obtenu exactement le même résultat entre les deux méthodes :

Tableau 14 : bactéries isolées à partir des 3 PDP

Numéro prélèvement	Méthode classique	Méthode nouvelle
743	<i>Enterobacter cloacae</i> sensible	Absence de culture
744	Un seul type de colonie correspondant à <i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
745	Deux types de colonies : <i>klebsiellapneumoniae</i> KPC résistantes a toutes les ATB <i>Acinetobacter baumannii</i> multi-résistantes	Deux types de colonies : <i>Klebsiella pneumoniae</i> KPC résistantes a toutes les ATB <i>Acinetobacter baumannii</i> multi-résistantes

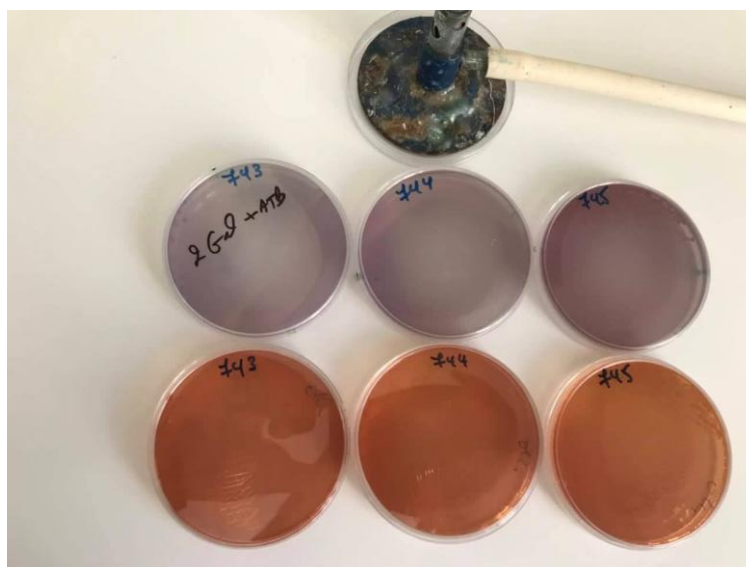


Figure45:culture sur BCP et sur MacConley additionné de 2mg/l ceftazidime [originale]

On y voit : absence de culture sur la boîte de MacConkey 743, par contre on voit une poussée bactérienne sur toutes les autres boîtes, une galerie API est lancée à partir des colonies des différentes boîtes afin de déterminer l'espèce bactérienne ainsi qu'un antibiogramme complet entérobactérie est pratiqué afin de rendre une réponse complète au clinicien mais aussi pour détecter la résistance par moyen de disque d'ATB par diffusion en milieu solide.

- Pour les prélèvements de gites (anal, buccal, nasal, rétro-auriculaire, plaie inguinale et plaie axillaire)

Les 6 prélèvements appartenaient au même patient, et enregistré sous le numéro 766 sur le registre.

- Sur les boîtes de MacConkey additionné de ceftazidime, aucune entérobactérie n'a poussé après une incubation de 24h
- Par contre sur la boîte BCP et pour le prélèvement anal, y'avait une poussé de deux types de bactéries, après avoir testé : 3 antibiotiques (AMC, CAZ et IMP) sur gélose MH, on a trouvé que les deux bactéries étaient sensibles, ce qui explique l'absence de culture sur la boîte de MacConkey.

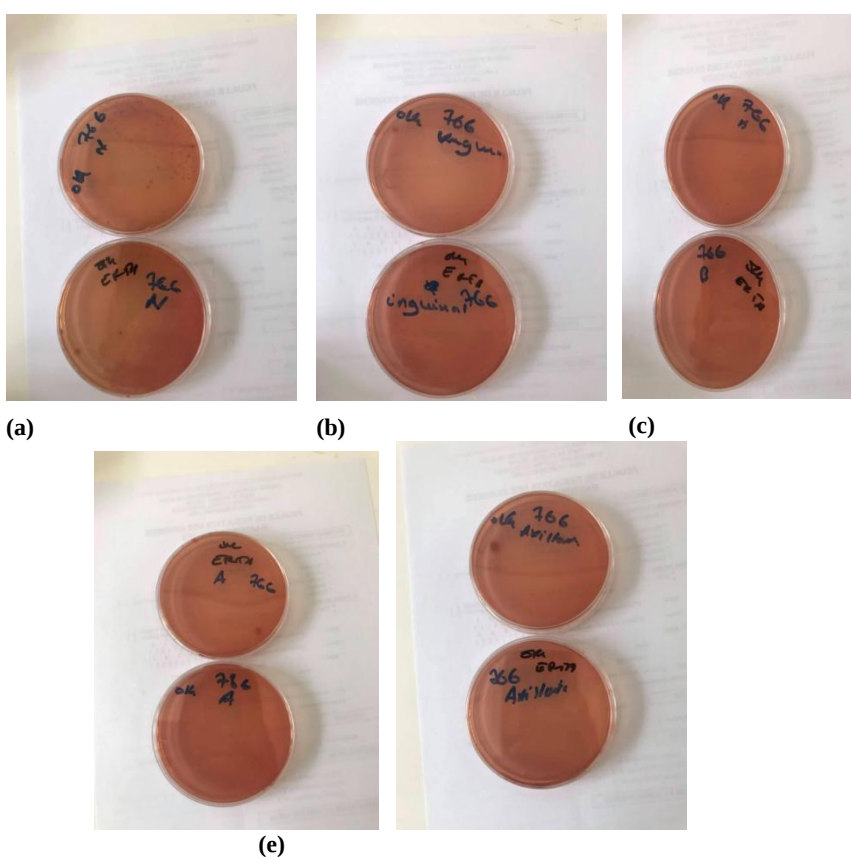


Figure46 : les prélèvements de gites cultivés sur milieux MacConkey + ceftazidime ou ertapénème. [Originales]

- (a) Prélèvement nasal cultivé sur les deux MacConkey
- (b) Prélèvement de plaie inguinale cultivé sur les deux MacConkey
- (c) Prélèvement buccal cultivé sur les deux MacConkey
- (d) Prélèvement anal cultivé sur les deux MacConkey
- (e) Prélèvement de plaie axillaire cultivé sur les deux MacConkey

- Pour les prélèvements de gites (anal, buccal et nasal) prélevés chez le même patient et enregistré sous le numéro de 772 sur le registre, on a trouvé :
 - Sur les boîtes de BCP on a eu la poussée de deux types de colonies d'entérobactéries pour le prélèvement anal.
 - Sur les boîtes de MacConkey, on a eu la poussée des deux types de colonies retrouvées sur la gélose BCP,
 - Absence de culture sur les boîtes de MacConkey additionnés des deux ATB, de même pour les boîtes de BCP (pour le prélèvement nasal et buccal).

Après avoir testé:AMC, CAZ et IMP pour la boîte positive de BCP, et après avoir fait l'antibiogramme complet pour les deux types de colonies isolés sur MacConkey, on a trouvé qu'il s'agit de : *Klebsiella pneumoniae* BLSE + et *Escherichia coli* résistantes aux céphalosporines de 3ème génération.

- Pour l'enquête de dépistage réalisé au niveau de la réanimation le 20 Mai 2019, le résultat obtenu est présenté dans le tableau suivant :

Tableau15: résultat du dépistage effectué le 20.05.19 au niveau de la réanimation

Numéro d'enregistrement	CULTURE BACTERIENNE		RESULTAT	RESISTANCE
	BCP	Mac Conkey		
790	OUI	OUI	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>	BLSE + R aux C3G R aux C3G
791	OUI	NON	Absence d'EMR	/
792	OUI	NON	Absence d'EMR	/
793	OUI	OUI	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	EPC, TH+, EDTA+ BLSE+ R aux C3G
794	OUI	OUI	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	Multi-résistante R aux C3G
795	OUI	OUI	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus vulgaris</i>	BLSE+ EPC, TH+ et EDTA + R aux C3G
796	OUI	OUI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	EPC, TH+, EDTA+
797	OUI	OUI	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus mirabilis</i>	EPC, TH+, EDTA +
798	NON	OUI	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Citrobacter freundii</i>	EPC, TH+, EDTA+

Sur les deux milieux utilisés, on a trouvé les mêmes types de colonies, à l'occurrence des prélèvements N 791 et 792, où on a eu seulement une poussée sur milieu BCP, et après avoir testé : AMC, CAZ et IMP, on a trouvé que c'était une bactérie sensible ce qui explique l'absence de culture sur le milieu MacConkey additionné d'ertapénème, et de ceftazidime.

Et pour le prélèvement N 790, y'avait pas de culture bactérienne sur la boîte de MacConkey additionné d'ertapénème, ce qui est en accord parfait avec les bactéries isolées à partir de ce prélèvement.

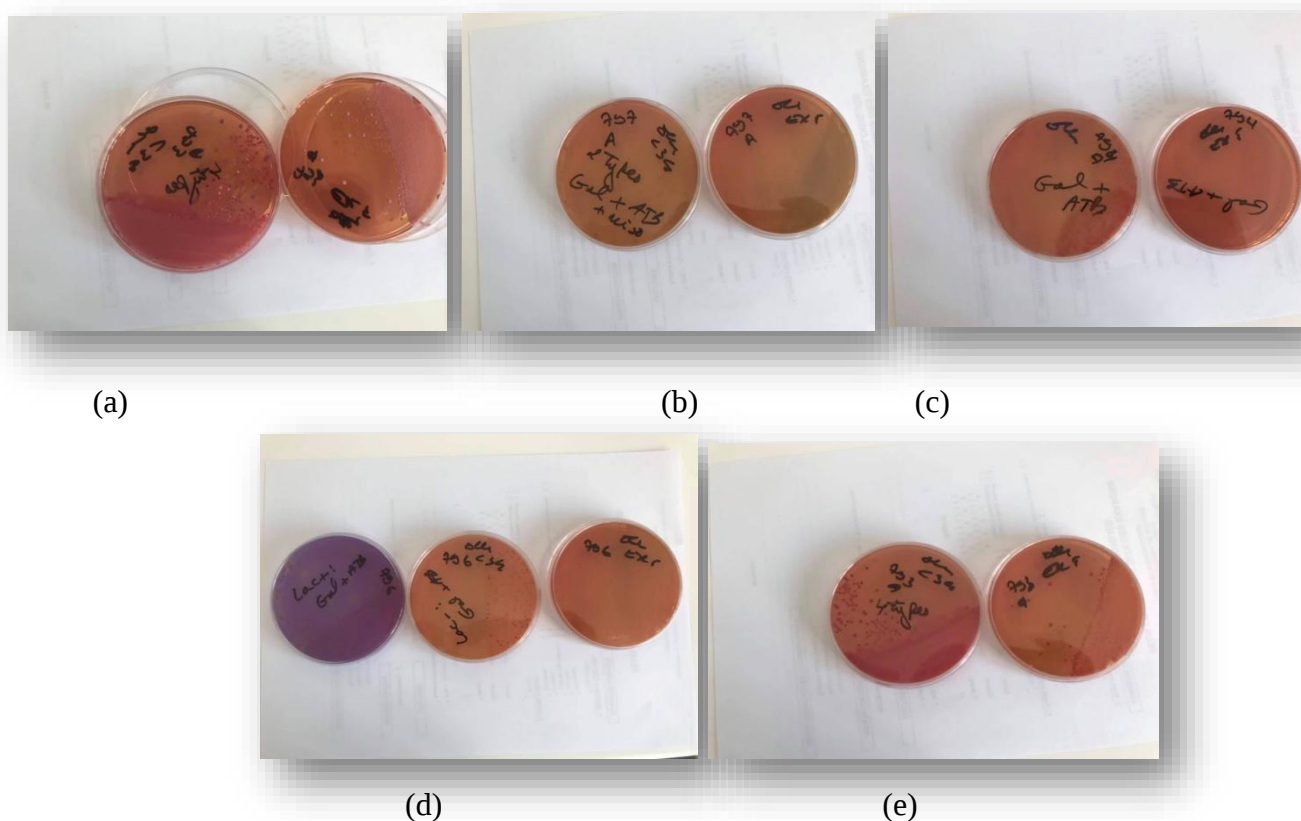


Figure 47 : Exemples de prélèvements de gites de l'enquête de dépistage cultivés sur milieux MacConkey + ceftazidime ou ertapénème. [Originales]

- (a) la culture du prélèvement N 795 sur MacConkey
- (b) la culture du prélèvement N 797 sur MacConkey
- (c) la culture du prélèvement N 794 sur MacConkey
- (d) la culture du prélèvement N 796 sur MacConkey et BCP
- (e) la culture du prélèvement N 793 sur MacConkey

Sur la totalité des prélèvements testés par les deux méthodes (classique et la nouvelle utilisant l'ATB), on a obtenu des résultats similaires en termes d'efficacité mais avec des avantages importants pour la nouvelle méthode de dépistage utilisant l'ATB.

- Concernant les avantages de la nouvelle méthode par rapport à la méthode classique ; rapidité de dépistage : la nouvelle méthode peut économiser un temps allant jusqu'à 48h si la culture est polymorphe et nécessite un ré-isolément des colonies
- Utilisation moins de disques d'antibiotiques, permettant de réduire le cout de la méthode (ceci est dit une étude financière comparative entre les deux méthodes est souhaitable afin de choisir la meilleure méthode en terme d'efficacité et cout)
- L'étude de stabilité du milieu MacConkeyaditionné d'antibiotique a montré une grande stabilité, le milieu peut être préparé et conservé dans un réfrigérateur a une température de 4°C pendant au minimum 10 jours, ce présente un avantage remarquable pour ce milieu.

Ceci dit la nouvelle méthode présente quelques inconvénients, notamment le manque de spécificité, ce qui amène à dire que les milieux chromogènes et les méthodes moléculaires restent les méthodes de choix pour le dépistage des bactéries multi ultra et toto-résistantes à cause de leur spécificité et sélectivité élevées.

CONCLUSION

La diffusion des souches multi-résistantes, d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3eme génération, et l'émergence de souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases, en milieu hospitalier, présentent un risque majeur et constitue une menace de santé publique, réduisant de manière trop importante l'arsenal thérapeutique pour faire face aux infections dues à ces souches bactériennes provoquant une mortalité élevée dans les services à haut risque d'acquisition d'EMR.

Pour faire face, à cette menace, un proverbe prend place :

Mieux vaut prévenir que guérir

Un dépistage précoce et efficace permet d'identifier des patients à risque ; associé à une mise en place rigoureuse des précautions complémentaires d'hygiène permettent de mieux contenir la diffusion des bactéries multi-résistantes essentiellement les entérobactéries multi, ultra et toto-résistantes, et de mieux adapter l'antibiothérapie prophylactique pour les patients atteints d'hémopathie maligne, permettant ainsi de garder l'efficacité des antibiotiques.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] : Five years follow-up of infections with extended-spectrum beta-lactamase producing enterobacteriae M. Fouquet , V. Morange , F. Bruyère, Service d'urologie, hôpital Bretonneau, CHRU de Tours, 2, boulevard Tonnellé, 37044 Tours cedex 9, France
- [2]: ROBINA .F, GIBOLDA. L, BONNETA. R, 2012. Résistances naturelles et acquises aux b-lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? : REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - SEPTEMBRE-OCTOBRE 2012 - N° 445 : Elsevier Masson SAS
- [3]: Université de Birmingham : Multi-Drug Resistant Gram negativ Bacteria, Hawkey, Peter, 10.1016/j.jhin.2015.01.008
- [4]: Extended spectrum β -lactamases mediated bacterial resistance: Implications for the intensivist H. Rodriguez-Villalobos *, M.-J. Struelens
- [5]: Mikulska M, Viscoli C, Orasch C, Livermore DM, Averbuch D, Cordonnier C, et al. Aetiology and resistance in bacteremias among adult and paediatric haematology and cancer patients. J infect. 2014; 68:321-31.
- [6]: Colodner R, Rock W, Chazan B, Keller N, Guy N, Sakran W, et al. Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2004;23:163-7
- [7]: Emergence of *mcr-1* plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from seawater, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.387>
- [8] : Revue francophone des laboratoires –juin 2013- N°459
- [9] : Maîtrise de la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques (Entretien avec le Dr Franck Bruyère, CHU de Tours)
- [10] CONNIE R. MAHON, DONALD C. LEHMAN, GEORGE MANUSELIS, 2011. Textbook of diagnostic microbiology, fifth edition.
- [11] Classification of enterobacteriaceae family, May 2014, Health and medicine technology
- [12] Classification of enterobacteriaceae family, May, 14, 2014; Health and medicine technology.
- [13] FRENEY. J ; GIRARDO. P ; FREYDIERE .A ; RENAUD. F; 2007 les entérobactéries : Elsevier SAS, 2007
- [14] American Society of Microbiology
- [15] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Enterobacteriaceae#Habitat>

- [18] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Systematic review of the effectiveness of infection control measures to prevent the transmission of carbapenemases-producing *Enterobacteriaceae* through cross-border transfer of patients. ECDC Technical Report 2014, 63
- [19] Réanimation; Faut-il isoler les patients porteurs de BMR ? May 2016, Volume 25, Issue 3, pp 318–327
- [20] BELLINI. C a et Troillet. N b ; Résistance aux antibiotiques : état des lieux en Europe et en Suisse et impact pour le praticien *Rev Med Suisse* 2016 ; 12 : 1699-702
- [21] PHILIPPON. A, ARLET. G ; 2012. *Pathologie Biologie* 60 (2012) ; pages 112-126. Elsevier Masson SAS Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie ; recommandation septembre 2018 V2.0
- [22] Chopra, I., O'Neill, A., and Miller, K. 2003. The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bacteria. *Drug Resist Updates*. 6: 137-145.
- [23] Davies, J. 1997. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. 207:15-27
- [24] VORA. S et AUCKENTHALER. R ; 2009. Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique ? : *Revue Médicale Suisse* 2009; 5 : 1991-4
- [25] Vodovara. D, Marcadeb. G, Raskineb. L, Malissina. I, Megarbane. B ; Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : Épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention, *La Revue de médecine interne* 34 (2013) 687–693
- [26] CSS– Conseil Supérieur de la Santé : Recommandations en matière de prévention, maîtrise et prise en charge des patients porteurs de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (MDRO) dans les institutions de soins. CSS : 2017, Avis N°9277
- [27] Nicolas-Chanoine. M-H ; Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : où sont les dangers ? *Réanimation* (2012) 21:260-267 © SRLF et Springer-Verlag
- [28] Baba Ahmed-KaziTani. Z, Arlet. G ; Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie *News of antibiotic resistance among Gram-négative bacilli in Algeria / Pathologie Biologie* 62 (2014) 169–178 ; Publié par Elsevier Masson SAS.
- [29] Dellit TH, Owens RC, McGowan JE Jr., GerdingDN, Weinstein RA, Burke JP et coll. Infectious diseases society of America and the society for healthcare epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clin Infect Dis* 2007;44:159-77 .
- [30] Pitout JD, Hanson ND, Church DL, Laupland KB. Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended-spectrum $\beta\beta$ -lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M Genes. *Clin Infect Dis* 2004;38:1736-41

- [31] Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for $\beta\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1211-33.
- [32] Dubois SK, Marriott MS, Amyes SGB. TEM and SHV-derived extended spectrum β -lactamases: relationship between selection, structure, and function. *J Antimicrob Chemother* 1995;35:7-32
- [33] Ahmad M, Urban C, Mariano N, Bradford PA, Calgani E, Projan JS et coll. Clinical characteristics and molecular epidemiology associated with imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 1999;29:352-5
- [34] Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:657–86.
- [35] classification de Ambler. (P. Nordmann et A. Carrer. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Overview of a major public health challenge. *Med Mal Infect* (2013),
- [36] DORTET. L, POIREL. L, NORDMANN. P ; Épidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénémases ; feuillets de Biologie VOL LIV N° 312 ; 05/2013
- [37] Nordmann P. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Overview of a major public health challenge. *Med Mal Infect* (2013)
- [38] Dortet L, Bonnin R, Jousset A, Gauthier L, Naas T. Émergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance ! *J Anti-Infect.* déc 2016;18(4):139-59
- [39] Suzuki T, Inouye H, Fujikawa K, Suketa Y. Studies on the chemical structure of colistin. I. Fractionation, molecular weight determination, amino acid and fatty acid composition. *J Biochem (Tokyo)*. juill 1963;54:25-33.
- [40] Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents.* janv 2005;25(1):11-25.
- [41] Stein A, Raoult D. Colistin: an antimicrobial for the 21st century? *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 oct 2002;35(7):901-2.
- [42] Beringer P. The clinical use of colistin in patients with cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.* nov 2001;7(6):434-40. 77.
- [43] Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis.* sept 2006;6(9):589-601
- [44] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). RAPID RISK ASSESSMENT - Plasmid-mediated colistin resistance in Enterobacteriaceae. 2016. [Internet]. Disponible sur : <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/enterobacteriaceae-risk-assessment-diseases-caused-by-antimicrobial-resistant-microorganisms-europe-june-2016.pdf>

- [45] Hanulík V, Suchánková H, Urbánek K, Imwensi P, HtoutouSedláková M, Vojtová V, et al. [Effect of colistin consumption and prevalence of colistin-resistant bacteria]. *KlinMikrobiolInfekcniLek.* juin 2013;19(2):52-5.
- [46] MezghaniMaalej S, Rekik Meziou M, Mahjoubi F, Hammami A. Epidemiological study of Enterobacteriaceae resistance to colistin in Sfax (Tunisia).
- [47] Médecine Mal Infect. juin 2012;42(6):256-63 . Les résistances observées ces cinq dernières années concernent principalement *K. pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*
- [48]Mammina C, Bonura C, Di Bernardo F, Aleo A, Fasciana T, Sodano C, et al. Ongoing spread of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* in different wards of an acute general hospital, Italy, June to December 2011. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal TransmEur Commun Dis Bull.* 16 août 2012;17
- [49]Johansen HK, Moskowitz SM, Ciofu O, Pressler T, Høiby N. Spread of colistin resistant non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* among chronically infected Danish cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc.* sept 2008;7(5):391-7.
- [50] Olaitan AO, Morand S, Rolain J-M. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol.* 2014.
- [51]Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* févr 2016;16(2):161-8
- [52] Société française d'hygiène hospitalière (SFHH). Recommandations 2009 « Prévention de la transmission croisée : Précautions complémentaires contact
- [53] German GJ, Gilmour M, Tipples G, Adam HJ, Almohri H, Bullard J, Dingle T, Farrell D, Girouard G, Haldane D, Hoang L, LevettPN, Melano R, Minion J, Needle R, Patel SN, Rennie R, Reyes RC, Longtin J, Mulvey MR. Énoncé canadien définissant la multi-résistance et l'ultra-résistance chez les souches d'entérobactéries, d'*Acinetobacter* spp. et de *Pseudomonas aeruginosa* pour les laboratoires médicaux. *Relevé des maladies transmissibles au Canada.* 2018;44(1):32-7
- [54] Gazin M, Paasch F, Goosens H and Malhotra-Kumar S, on behalf of the teams, Current Trends in culture-based and molecular detection of BLSE and CRE *J Clin Microbiol* 2012;50: 1140-1146
- [55] Entérobactéries résistantes à la colistine porteuses du gène *mcr-1* ; HCSP; Avis relatif aux mesures à prendre en lien avec l'émergence d'une résistance plasmidique à la colistine (*mcr-1*) chez les entérobactéries 27 septembre 2016
- [56]remicédition 2018

- [57] Wiener-Well Y, Rudensky B, Yinnon AM, Kopuit P, Schlesinger Y, Broide E, *et al.* Carriage rate of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospitalized patients during a national outbreak. *J Hosp Infect* 2010;74:344-9
- [58] Dethlefsen, L., Huse, S., Sogin, M. L., and Relman, D. A. (2008). The pervasive effects of an antibiotic on the human gut *microbiota*, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol.* 6:e280. doi: 10.1371/journal.pbio.0060280
- [59] Antonopoulos, D. A., Huse, S. M., Morrison, H. G., Schmidt, T. M., Sogin, M. L., and Young, V. B. (2009). Reproducible community dynamics of the gastrointestinal *microbiota* following antibiotic perturbation. *Infect. Immun.* 77, 2367–2375.
- [60] Taur, Y., Xavier, J. B., Lipuma, L., Ubeda, C., Goldberg, J., Gobourne, A., *et al.* (2012). Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin. Infect. Dis.* 55, 905–914
- [61] Vollaard, E. J., and Clasener, H. A. (1994). Colonization resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38, 409–414
- [62] van der Waaij, D., Berghuis-De Vries, J. M., and Lekkerkerk, L.-V. (2005). Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. *J. Hyg. (Lond.)* 69, 405–411.
- [63] Bhalla, A., Pultz, N. J., Ray, A. J., Huyen, C. K., Eckstein, E. C., and Donskey, C. J. (2003). Antianaerobic antibiotic therapy promotes overgrowth of antibiotic-resistant, gram-negative bacilli and vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 24, 644–649
- [64] LES BACTÉRIES MULTI-RÉSISTANTES EN 2015 : DU SARM AUX BLSE ET EPC, EPIDÉMIOLOGIE, CAUSES ET CONSÉQUENCES, Prof. Céline Pulcini (Nancy) DESC MIT Octobre 2015
- [65] Extended spectrum β -lactamases mediated bacterial resistance: Implications for the intensivist H. Rodriguez-Villalobos *, M.-J. Struelens
- [66] November 2012, Volume 38, Issue 11, pp 1769–1778| Cite as, Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria in the intensive care unit
- [67] Factors Associated to Prevalence and Incidence of Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* Fecal Carriage: A Cohort Study in a Mexican Tertiary Care Hospital, Pedro Torres-Gonzalez,¹ Miguel Enrique Cervera-Hernandez,¹ María Dolores Niembro-Ortega,¹ Francisco Leal-Vega,¹ Luis Pablo Cruz-Hervet,² Lourdes García-García,² Arturo Galindo-Fraga,³ Areli Martínez-Gamboa,¹ Miriam Bobadilla-del Valle,¹ Jose Sifuentes-Osornio,⁴ and Alfredo Ponce-de-Leon
- [68] Centre hospitalier Jean Marcel Brignoles, description des services juin 2009

- [69] guide pratique de la maitrise des bactérie multi-résistantes aux ATB, inter clin des hauts Cantons de l'Hérault 2009
- [70]AntimicrobialSusceptibilityTesting; Twenty-Sixthedition. January 2016. Clinical And Laboratory Standards Institute document M100-S26.
- [71]Viau R et al. Intestinal Carriage of Carbapenemase-ProducingOrganisms: CurrentStatus of Surveillance Methods. 2016;29:1
- [72]Willems E, Cartuyvels R, Magerman K., Verhaegen J. Evaluation of 3 E-BLSE from samples. Diagn Microbiol Infect Dis 2013. 76: 16-19
- [73]QueenanAM, BushK. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases:Clin microbial Rev 2007.20 :440-458.
- [74]Tacconelli E, De Angelis G, de Waure C Cataldo MA, LA Torre G, Cauda R rapid screening for MRSA hospital admission : systematic review and meta-analysis Lancet Infect Dis 2009, 9 : 546-554
- [75] Hygiène, prevention et controle de l'infection, technique du prélèvement.08/17
- [76]Carmeli Y, Akova M, Cornaglia G, Daikos GL, Garau J, Harbarth S, et al. Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram-negatives: therapeutic approach and infection control. Clin Microbiol Infect. 2010 Feb;16(2):102-11
- [77] Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for the collection of laboratory specimens associated with outbreaks of gastroenteritis. MMWR1990 ; 39 (No. RR-14). Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory methods for the diagnosis of Vibrio cholerae. Atlanta, Georgie : CDC, 1994
- [78] Screening for Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae among High-Risk Patients and Rates of Subsequent Bacteremia
- [79] Faecal carriage rate of extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospitalised patients and healthy asymptomatic individuals coming for health check-up Rachana Babu a , Anil Kumar a , *, Shamsul Karim a , Sruthi Warriar b , Suresh G. Nair c , Sanjeev K. Singh d , Raja Biswas b P. Reddy M. Malczynski A. Obias S. Reiner N. Jin J. Huang G. A. NoskinT. Zembower
- [80]Incidence of fecal Enterobacteriaceae producing broad-spectrum beta-lactamases in patients with hematological malignancies, Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2015 Mar; 159(1):100-103
- [81] Fecal Carriage of Extended-Spectrum b-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Strains Is Associated with Worse Outcome in Patients Hospitalized in the Pediatric Oncology Unit of

Beni-Messous Hospital in Algiers, Algeria, MICROBIAL DRUG RESISTANCE Volume 00, Number 00, 2017 ^a Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/mdr.2016.0153

[82] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidance for control of infections and carriage with carbapenemase producing Enterobacteriaceae in acute care facilities .CPE. February 2017

[83] Fecal Carriage of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae: a Hidden Reservoir in Hospitalized and Nonhospitalized Patients DesiréeGijón, a TâniaCuriao, a Fernando Baquero, a,b Teresa M. Coque, a,b and Rafael Cantóna,bServicio de Microbiología and CIBER enEpidemiología y SaludPública and Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria, Madrid, Spain,a and Unidad de Resistencia a Antibióticos y VirulenciaBacterianaAsociada al Consejo Superior de InvestigacionesCientíficas, Madrid, Spain

[84]

[85] Données du AARN année 2017, prevalence d'EPC pour secteur de soin

[86] The Prevalence and Molecular Epidemiology of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae Colonization in a Pediatric Intensive Care Unit Infect Control Hosp Epidemiol. 2016 May; 37(5): 535–543.

[87] fecal carriage en extended sperctum beta-lactamase producing enterobacteriaceaein intensive care unit india, august 2016.

[88] Xème Journée d'Échanges REA-RAISIN Jeudi 9 novembre 2017.Portage digestif d'EBLSE chez les patients de réanimation: contre le dépistage systématique, François Barbier, MD PhD

[90] : Etude du portage fécal des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération chez des patients admis dans le service de pédiatrie de l'hôpital KhellilAmrane de Bejaia. <http://univ-bejaia.dz/dspace/123456789/10070>, 2014

[91] The Prevalence and Molecular Epidemiology of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae Colonization in a Pediatric Intensive Care Unit Infect Control Hosp Epidemiol. 2016 May; 37(5): 535–543.

[92] Rates of Fecal Transmission of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing and Carbapenem producing *Enterobacteriaceae* Among Patients in Intensive Care Units in Korea, <https://doi.org/10.3343/alm.2014.34.1.20>

[93] D. M. Ghaith, Z. K. Mohamed, M. G. Farahat et al., Colonization of intestinal microbiota with carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in paediatric intensive care units in Cairo, Egypt, Arab Journal of Gastroenterology, <https://doi.org/10.1016/j.ajg.2019.01.002>

- [94] Caniaux. L, van Belkum. A, Zambardi. G, Poirel. L, Gros. M-F, MCR: modern
- [95] Gay. E, Jouy. E, Jarrige. N, Lupo. A, Haenni. M, Madec. J-Y , Point d'actualité sur la colistine . Bulletin Epidémiologique ; 2017
- [97] Congrès de la SFHH-8JUIN 2017-
- [96] Pak Leung HO and Tak Chin 2017.
- [98] Résistance à la colistine chez les bactéries à gram-négatif. Prof. Youri Glupczynski - Laboratoire de microbiologie CHU UCL Namur (Sites Dinant/Godinne) et Centre National de Référence des bactéries à gram-négatifs multi-résistantes, 5530 Yvoir, Belgique
- [99] Bonnet. R, Présent et futur de l'antibio Présent et futur de l'antibio-résistance ; CNR de la résistance aux antibiotiques UMR Inserm 1071 usc INRA 2018
- [100] Swenson, J.M., J.A. Hindler, and J.H. Jorgensen. 2003. Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 6.
- [101] National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002. Supplement M100-S12. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 7.
- [102] Bradford, P.A. 2001. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin. Microbiol. Rev. 14: 933- 951
- [103] Dupeyron, C.M, G.A. Guillemin, and G.J. Leluan. 1986. Rapid diagnosis of gram negative urinary infections: identification and antimicrobial susceptibility testing in 24 hours. J. Clin. Pathol. 39: 208-11.
- [104] Komatsu, M., et al. 2000. Detection of extended spectrum beta-lactamases producing Enterobacteriaceae in feces. KansenshogakuZasshi 74: 250-258 [Article in Japanese].
- [105] de Champs, C.L., et al. 1993. Selective digestive decontamination by erythromycin-base in a polyvalent intensive care unit.
- [106] Dr. Maurine Leverstein-van-Hall Clinical Microbiologist, University Medical Centre Utrecht (UMCU)/National Institute for Public Health and Environment (RIVM), Netherlands.
- [107] Professor Youri Glupczynski, University Clinic of the Catholic University of Louvain (UCL) Mont-Godinne, Belgium. Données classées chez Oxoid
- [108] www.oxoid.com

[109] Marcy l'Etoile France, C. CAZANAVE 2015

[110] www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/chromid-blse

[111] Tenover FC. Rapid detection and identification of bacterial pathogens using novel molecular technologies : infection control and beyond. Clin Infect Dis 2007 ; 44 : 418-23

[112] Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae : an emerging public-health concern. Lancet Infect Dis 2008 ; 8 : 159-66.

[113] Naas T, Cuzon G, Truong H, Bernabeu S, Nordmann P. Evaluation of a DNA microarray, the check-points ESBL/KPC array, for rapid detection of TEM, SHV, and CTX-M extended-spectrum beta-lactamases and KPC carbapenemases. Antimicrob Agents Chemother 2010 ; 54 : 3086-92.

[114] Naas T, Cuzon G, Bogaerts P, Glupczynski Y, Nordmann P. Evaluation of a DNA microarray (Check-MDR CT102) for rapid detection of TEM, SHV, and CTX-M extended-spectrum -lactamases and of KPC, OXA-48, VIM, IMP, and NDM-1 carbapenemases. J Clin Microbiol 2011 ; 49 : 1608-13.

[115] Vrioni G, Daniil I, Voulgari E, Ranellou K, Koumaki V, Ghirardi S, Kimouli M, Zambardi G, Tsakris A. 2012. Comparative evaluation of a prototype chromogenic medium (ChromIDCARBA) for detecting carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in surveillance rectal swabs. J Clin Microbiol 50:1841-1846.

[116] Papadimitriou-Olivgeris M, Bartzavali C, Christofidou M, Bereksi N, Hey J, Zambardi G, Spiliopoulou I. 2013. Performance of chromID(R) CARBA medium for carbapenemases-producing enterobacteriaceae detection during rectal screening. Eur J Clin Microbiol Infect Dis

[117] Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V, European Network on C. 2012. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect 18:432-438.

[118] Hoyos-Mallecot Y, Naas T, Bonnin RA, Patino R, Glaser P, Fortineau N, Dortet L. 2017. OXA-244-Producing Escherichia coli Isolates, a Challenge for Clinical Microbiology Laboratories. Antimicrob Agents Chemother 61.

[119] Landman D, Salvani JK, Bratu S, Quale J. 2005. Evaluation of techniques for detection of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in stool surveillance cultures. J Clin Microbiol 43:5639-5641.

[119] Oueslati S, Girlich D, Dortet L, Naas T. 2018. Evaluation of the AmplidiagCarbaR+VRE kit for the accurate detection of carbapenemase-producing bacteria. J Clin Microbiol.

[120] Hoyos-Mallecot Y, Naas T, Bonnin RA, Patino R, Glaser P, Fortineau N, Dortet L. 2017. OXA-244-Producing Escherichia coli Isolates, a Challenge for Clinical Microbiology Laboratories. Antimicrob Agents Chemother 61.

[121] ISO/TS 11133-2/A1. Février 2011. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture. AMENDEMENT 1: Micro-organismes pour essai recommandés pour les milieux de culture les plus usuels

[122] Emergence of *mcr-1* plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from seawater; Rezak Drali^a Meryem Berrazeg^{bc} Laldja Lilia Zidounia Fella Hamitouchea Amina Aicha Abbas Abdelhamid Deriet^a Fawzia Mouffok^a

[123] www.elitech/product/Superpolymyxin

[124] <http://www.chromagar.com/clinical-microbiology-chromagar-col-apse-focus-on-colistin-resistance-80.html#.XO8TShYzbIU>

[125] Nordmann P, Jayol A, Poirel L. A universal culture medium for screening polymyxin-resistant gram-negative isolates. J Clin Microbiol 2016;54:1395–1399.

[126] Real-time PCR for detection of plasmid-mediated polymyxin resistance (*mcr-1*) from cultured bacteria and stools Séverine Bontron Laurent Poirel Patrice Nordmann *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Volume 71, Issue 8, 1 August 2016, Pages 2318–2320, <https://doi.org/10.1093/jac/dkw139>

[127] Société française d'hygiène hospitalière . Recommandations nationales. Prévention de la transmission croisée : précautions complémentaires contact . Consensus formalisé d'experts; 2009

[128] JOLY-GUILLOU ML , RÉGNIER B . L'infection liée aux soins. Stratégies de maîtrise des infections nosocomiales .bioMérieuxed. 2005 .

[129] Centers for Disease Control and Prevention, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee, 2007

[130] Recommandations nationales, prévention de la transmission croisée : précautions complémentaires contact. Consensus formalisé d'experts, SFHH avril 2009, HygièneS, vol XVII N°2

[131] Mise à jour de la conférence de consensus : gestion préopératoire du risque infectieux, SF2H, 2013 Hygiène1 vol XXI N°4

[132] Prévention de la transmission des BHR, HCSP juillet 2013

[133] Circulaire DGS/DH - N° 98/249 du 20 avril 1998 relative à la prévention de la transmission d'agents infectieux véhiculés par le sang ou les liquides biologiques lors des soins dans les établissements de santé

[134] Pittet D, Allegranzi B, Sax H, Dharan S, Pessoa-Silva CL, Donaldson L, et al. Evidence-based model for hand transmission during patient care and the role of improved practices. Lancet Infect Dis. Oct 2006; 6(10):641-5

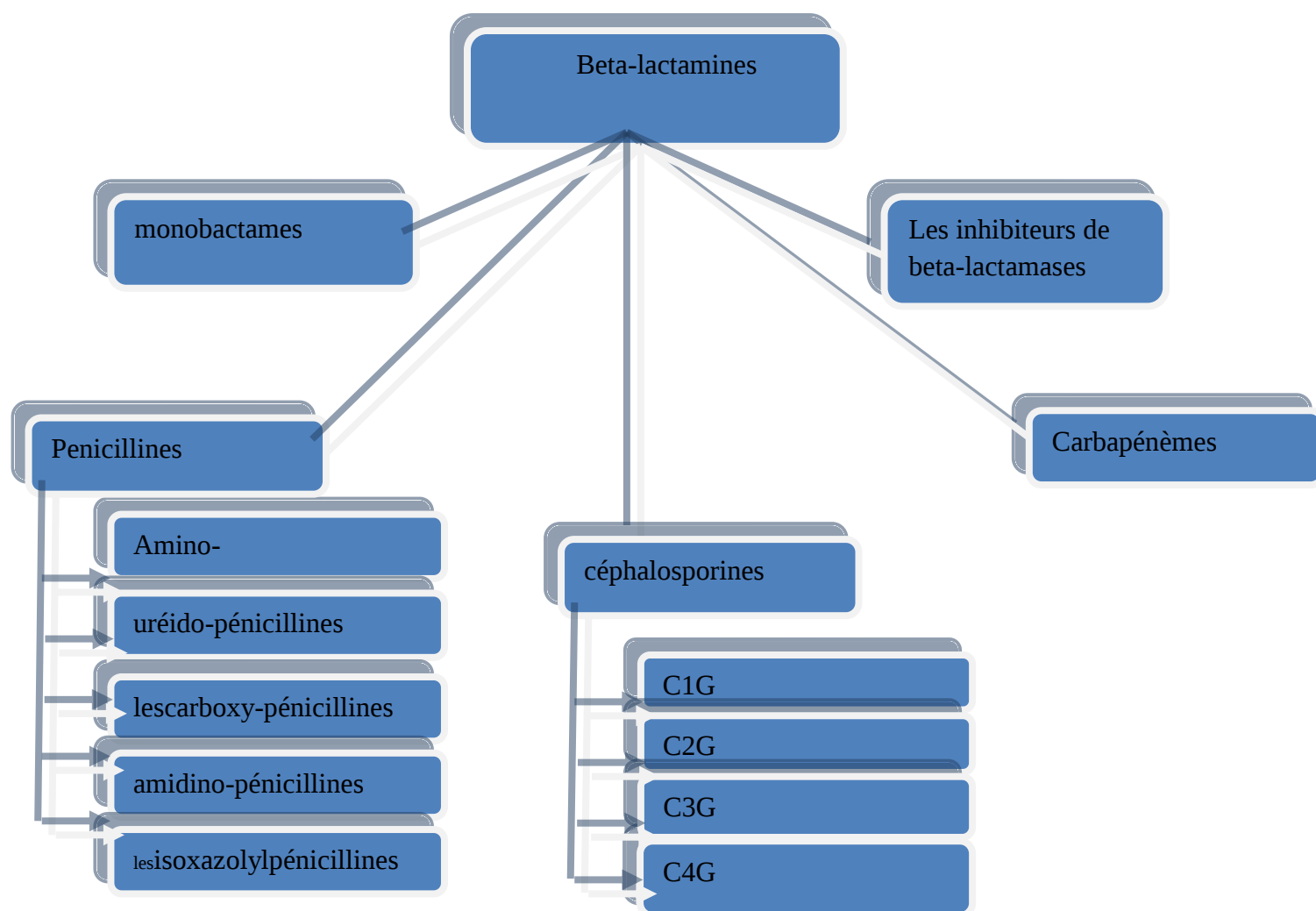
- [135] Société de réanimation de langue française. Recommandations des experts de la Société de réanimation de langue française, janvier 2002. Prévention de la transmission croisée en réanimation. *Réanimation* 2002 ; 11 : 250-6.
- [136] Consensus formalisé d'experts. Prévention de la transmission croisée : précautions complémentaires contact. Hygiènes. Volume XVII-n°2. Avril 2009
- [137] Puzniak LA, Leet T, Mayfield J, Kollef M, Mundy LM. To Gown or Not to Gown: The Effect on Acquisition of Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clin Infect Dis*. 1 juill 2002; 35(1):18-25.
- [138] Guide pratique de la maîtrise des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques, inter Clin haut Cantons de l'Hérault 2009
- [139] Précautions standards et complémentaires, 22 novembre 2012, journée inter-hospitalière correspondants para-médicaux en hygiène hospitalière ; hélène Zanollo, IDE hygiéniste
- [140] Lepare A. Prise en charge des patients porteurs de germes résistants. 53e congrès national d'anesthésie et de réanimation. SRAR 2011.
- [141] Brun-Buisson C, Legrand P, Rauss A, Richard C, Montravers F, Besbes M, et al. Intestinal decontamination for control of nosocomial multiresistant Gram-negative bacilli. *Ann Intern Med* 1989;110:873-81.
- [142] Paterson DL, Singh N, Rihs JD, Squier C, Rihs BL, Muder RR. Control of an outbreak of infection due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in a liver transplantation unit. *Clin Infect Dis* 2001; 33:126-8.
- [143] Grare M, Dibama HM, Lafosse S, Ribon A, Mourer M, Regnouf-de-Vains JB, et al. Cationic compounds with activity against multidrug-resistant bacteria: interest of a new compound compared with two older antiseptics, hexamidine and chlorhexidine. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2010; 16(5): 432-8.
- [144] Puig Silla M, Montiel Company JM, Almerich Silla JM. Use of chlorhexidine varnishes in preventing and treating periodontal disease. A review of the literature. *Medicina oral, patologia oral y cirugiabucal*. 2008; 13(4): E257-60. [17] George S, Leasure AR, Horstmannshof D. Effectiveness of Decolonization With Chlorhexidine and Mupirocin in Reducing Surgical Site Infections: A Systematic Review. *Dimensions of critical care nursing :DCCN*. 2016; 35(4): 204-22.
- [145] Jonge E, Schultz MJ, Spanjaard L, Bossuyt PM, Vroom MB, Dankert J, et al. Effects of selective decontamination of digestive tract on mortality and acquisition of resistant bacteria in intensive care: a randomised controlled trial. *Lancet* 2003;362:1011-6.

- [146] Vincent JL. Selective digestive decontamination: for everyone, everywhere? *Lancet* 2003;27:1006–7.
- [147] Kollef MH. Long-term effects of selective decontamination on antimicrobial resistance. *Crit Care Med* 1996;24:177–8
- [148] Sanders CC, Sanders Jr WE. Bêta-lactam resistance in gramnegative bacteria: global trends and clinical impact. *Clin Infect Dis* 1992;15:824—39.
- [149] Gomez L, Garau J, Estrada C, Marquez M, Dalmau D, Xercavins M, et al. Ciprofloxacin prophylaxis in patients with acute leukemia and granulocytopenia in an area with a high prevalence of ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli*. *Cancer* 2003;97:419—24
- [150] Mokart. D, Sannini. A, Brun J-P, Blache J-L Patient d'oncohématologieneutropénique fébrile admis en réanimation, recommandations actuelles et attitude pratique *Oncohematology patients with febrile neutropenia hospitalized in ICU: Clinical practice guidelines* 2008
- [151] Goyette. M ; La neutropénie fébrile un sujet chaud *Le Médecin du Québec*, volume 47, numéro 10, octobre 2012 p57 p64
- [152] Benamara. M, Berouaken. S, Azrou. S, Bouamra. N, Mostapha. S, Belouni. R, Talbi. M, Bactériémies nosocomiales chez le sujet neutropénique en oncohématologie, 2017

Annexes

Classification		Type de beta-lactamase + exemples	Activité inhibitrice		Activité enzymatique	
Moléculaire (Ambler)	Fonctionnelle(Bush)		Acide clavulanique	EDTA	β -lactamines hydrolysés	β -lactamines stables
Enzyme à sérine						
Classe A	2a	Pénicillinasés à spectre restreint	++++	-	Pénicillines	Pénicillines M, C1G, Carbapénèmes
	2b	β -lactamase à large spectre : TEM-1&2, SHV-1 plasmidiques et chromosomiques	+++	-	pénicillines, C1G, C2G	Céphamycines, C3G, moxalactam, carbapénèmes, aztreonam
	2be	β -lactamases à spectre élargi aux C3G et à l'aztreonam SHV-2 à 9, TEM-3 à 29, VEB-1, plasmidiques	+++	-	Idem 2b + C3G et aztreonam	Céphamycines, moxalactam, Carbapénèmes
	2br	β -lactamases à large spectre résistant à l'acide clavulanique TRI : dérivé TEM-30 à 41, plasmidiques	-	-	Idem 2b + associations aux inhibiteurs de β -lactamases	Idem 2b
	2c	Carbénicillases PSE-1, PSE-3, PSE-4 plasmidiques	+		Idem 2b	Idem 2b
	2e	Céphalosporinasés chromosomiques inhibés par l'acide clavulanique – Cefuroxime Cum A (<i>P.vulgaris</i>), - L2(<i>S.maltophilia</i>)	+++	-	Amino-, carboxy et uréidopénicillines, C1G, C2G, certaines C3G	Ceftazidime, céphamycines, aztreonam, carbapénèmes
	2f	Carbapénémases à site actif sérine et inhibés par l'acide clavulanique Ex : IMI-1, NMC-A, chromosomiques	+	-	Idem 2b + aztreonam, Carbapénèmes et certaines C3G	Certains C3G
Classe C	1	Céphalosporinase AmpC chromosomiques et plasmidiques (CMY, FOX, MOX, MIR-1...)	-	-	Toutes les β -lactamines sauf les carbapénèmes	Carbapénèmes
Classe D	2 de	Oxacillinasés OXA plasmidiques et chromosomiques	-	-	Idem 2b	Variable
Classe non attribuée	4	Enzymes indéterminées Ex : enzymes chromosomiques de <i>C. jejuni</i> , <i>C. cepacia</i> ...	?	-	variable	Variable
Métallo-enzyme à zinc						
Classe B	3	Carbapénémases VIM, IMP & NDM	-	+	Large profil de substrats (sauf aztréonam)	Variable

Annexe 1: classification des beta-lactamases d'après Ambler et Bush

Annexe 2 : classification des beta-lactamines

Annexe 3 : Liste des antibiotiques à tester pour les entérobactéries ainsi que les valeurs critiques du diamètre d'inhibition :

ATB Testé	Charge des disques (µg)	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Ampicilline	10	≤13	14-17	≥18
Azetronam	30	≤		≥21
Amoxicilline+ acide clavulanique	20/10	≤		≥18
Cefalotine	30	≤		≥18
Cefazoline	30	≤		≥23
Cefoxitine	30	≤		≥18
Cefotaxime	30	≤		≥26
Ceftazidime	30	≤		≥16
Imipénème	10	≤		≥23

Ertapénème	10	≤		≥22
Amikacine	30	≤		≥17
Gentamicine	10	≤		≥15
Acide nalixidique	30	≤		≥19
Ciprofloxacine	5	≤		≥21
Colistine	CMI	≤		≥
Chloramphénicol	30	≤		≥32
Furnane	300	≤		≥17
Trimethoprim+ sulfaméthoxazole	1,25/23,75	≤		≥
fosfomycine	200µg	≤		≥16

Milieu de transport Cary-blair :

Est un Milieu de transport pour les bactéries Gram – et les germes anaérobies, sa composition est la suivante :

COMPOSITION	grammes/litre)
Hydrogénophosphate de sodium	1,1
Thioglycolate de sodium	1,5
Chlorure de sodium	5,0
Chlorure de calcium	0,09
Agar	5,6
pH 8,4 ± 0,2	

Annexe 4: composition du milieu Cary Blair

Composition des milieux de culture :

➤ Géllose nutritive

COMPOSITION	Gramme / litre
Extrait de viande	1litre
Peptone tryptique	15g
NaCL	5g
Agar	15g

Annexe 5: composition de la géllose nutritive

➤ **MacConkey :**

COMPOSITION	Gramme / litre
Peptone	20,0 g
Lactose	10,0 g
Sel Biliaire n°3	1,5 g
Rouge neutre	0,05 g
Chlorure de sodium	5g
Cristal violet	0,001 g
Agar	15g
Ph= 7,1	

Annexe 6: composition du milieu MacConkey

➤ **Muller-Hinton :**

COMPOSITION	Gramme / litre
Infusion de viande de boeuf	300 ml
Peptone de caseine	17,5g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar	17g
Ph= 7,4	

Annexe 7: composition du milieu Muller-Hinton

Annexe N°8 : Milieu BD Drigalski lactose agar avec ceftazidime.

Mode opératoire:

On roule l'écouvillon sur une petite partie de la gélose au niveau du bord de la boîte, puis à l'aide d'une pipette pasteur on strie la gélose à partir de cette zoneensemencée, on incube 18 à 24 h à 37°C

Interprétation :

Sur cette gélose seuls les bacilles gram négatif résistants à la ceftazidime (les entérobactéries et certains non fermentaires) se développent, selon la coloration de la colonie qui traduit la capacité de la bactérie à fermenter le lactose où pas qu'on pourra distinguer entre elles. Des tests biochimiques sont nécessaires pour identifier les bactéries, des tests supplémentaires doivent être effectués pour confirmer que ces bactéries produisent des BLSE ou des AmpC.[100][101][102]

Conservation du milieu :

Les boîtes de pétri, dès leur réception sont conservées dans l'obscurité entre 2 et 8° C, dans leur emballage d'origine, jusqu'à leur utilisation. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée.

Les boîtes provenant de piles de 10 peuvent être utilisées pendant une semaine, dans la mesure où elles sont conservées dans un lieu propre entre 2 et 8° C. [103][104][105]

ANNEXE N°9 : Définition des précautions standards :

Les précautions standard (PS) constituent la base de la prévention de la transmission croisée des micro-organismes. Elles ont montré leur efficacité et représentent les premières mesures barrières à respecter. Il est nécessaire de les connaître et de les appliquer, pour tout soin, en tout lieu, pour tout patient quel que soit son statut infectieux, et par tout professionnel de santé.

Les précautions standard constituent un socle de pratiques de base s'intégrant dans toute stratégie de prévention des infections associées aux soins et de maîtrise de la diffusion des bactéries résistantes aux antibiotiques. Elles contribuent à la sécurité des soins (soignant/soigné) lors de la prise en charge d'un patient.

Les précautions standard sont à appliquer pour tout soin, en tout lieu, pour tout patient quel que soit son statut infectieux, et par tout professionnel de santé. Elles partent du principe que tout individu est potentiellement porteur, colonisé ou infecté par des micro-organismes pouvant se transmettre lors du soin. Elles concernent les professionnels de santé, les aidants ou toute personne intervenant dans les soins. [133]

Les précautions standards sont au nombre de sept :

- Lavage et/ou désinfection des mains.
- Port de gants
- Port de sur blouse, lunettes, masques.
- Conduite à tenir lors d'un contact avec du sang ou un liquide biologique.
- Gestion des surfaces.
- Gestion du matériel souillé.
- Transport de prélèvements biologiques, linge et matériels souillés.

Hygiène des mains

La désinfection systématique des mains à cinq moments clés : [134]

- avant tout contact avec le patient,
- avant un geste aseptique,
- après un risque d'exposition à un liquide biologique,
- après le contact avec le patient,
- après le contact avec l'environnement du patient.



Figure 20 : lavage des mains

L'antisepsie des mains par friction avec une solution (ou un gel) hydro alcoolique est la méthode actuellement à privilégier en matière d'hygiène des mains pour le contrôle de l'infection nosocomiale [135]



Figure 21: lavage par une solution hydro-alcoolique

Port de gants

Le port de gants ne remplace pas l'hygiène des mains. Les gants doivent être saisis avec des mains propres pour éviter leur contamination.

Les gants sont changés entre deux patients ou deux activités (y compris pour le même patient). Ils sont mis juste avant le contact, le soin ou le traitement. Ils sont retirés dès la fin du soin pour être jetés avant de toucher l'environnement. [136]

Le port de gants lors d'un contact avec un liquide biologique afin de protéger le soignant du risque infectieux [134]

La recommandation est « *une paire de gants pour un soin* » et chaque retrait de gants est accompagné d'un geste d'hygiène des mains



Figure 22 : port des gants

La tenue professionnelle :

La tenue professionnelle est adaptée à l'activité pratiquée. Elle est changée quotidiennement et chaque fois qu'elle est souillée. [136]

Le port d'un tablier plastique à usage unique (ou d'une sur blouse imperméable) lors des soins souillant, mouillants ou exposants aux projections de liquides biologiques [137]



Figure 23: tenue professionnelle

Matériel souillé :

Le matériel piquant / tranchant à usage unique est déposé immédiatement après usage dans un container adapté, **situé au plus près du soin** et dont le niveau de remplissage est vérifié.

Ne pas re-capuchonner les aiguilles, ne pas les désadapter à la main. Le matériel réutilisable souillé est manipulé avec précaution et il subit un procédé d'entretien (stérilisation ou désinfection) approprié. Vérifier que le matériel a subi un procédé d'entretien (stérilisation ou désinfection) approprié avant d'être réutilisé.

Surfaces souillées :

Les nettoyer et les désinfecter avec un désinfectant approprié.

Transport de prélèvements biologiques, de linge, de matériel souillé :

Ils doivent être transportés dans un emballage étanche et fermé.

Si contact avec du sang ou liquide biologique :

- après piqûre ou blessure : lavage et antisepsie au niveau de la plaie.
- après projection sur les muqueuses (conjonctive, bouche...) : rinçage abondant.