

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de BLIDA -1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Mémoire de Fin d'Etudes En vue de l'obtention du diplôme de
Master en Sciences Biologiques
Option : Microbiologie-Bactériologie

*Profil bactériologique des bactériémies à bactéries
multirésistantes au CHU-Mustapha Bacha*

Présenté le : 27/06/2016 (Amphi 05)

Soutenu par

Mlle SENNIA Djazia

Mlle ELHARTI Imene

Devant le jury

| | | | |
|--------------------------|-----|--------------------|---------------|
| Mme AISSANI-EL FERTAS R. | MAA | Université Blida 1 | Présidente |
| Mme DEBIB A. | MCB | Université Blida 1 | Examinatrice |
| Mme BOUDJEMA N. | MCB | Université Blida 1 | Promotrice |
| Mme LALLAOUI N. | MA | CHUMB Alger | Co-Promotrice |

Année Universitaire: 2015-2016

REMERCIEMENTS

Nous remercions avant tout ALLAH -le tout puissant- de nous avoir guidées durant toute notre formation.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et nos vives connaissances à

Dr. Boudjema N. enseignante à la faculté de science de nature et de la vie, Université de Blida -1- pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous accordé afin de réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre Co-promotrice Dr. Lallaoui N. metteure assistante en microbiologie pour son encadrement, ses précieux conseils, son soutien, sa gentillesse et amitié, sa rigueur scientifique au quotidien ainsi que son dynamisme, grâce aux quel notre travail a vu le jour.

Nous tenons également à remercier :

Pr Guetarni. D pour avoir accepté de examiner le travail

Mm Debib, pour avoir accepté de présider le jury.



Nous aimerions remercier Pr Graba en cancérologie et Pr Tazir chef de service du laboratoire au C.H.U Mustapha Bacha pour nous avoir facilité l'accès, ainsi que pour l'aide précieuse qu'ils nous ont attribuée, par leur expertise et leur bonne humeur intarissable et plus particulièrement :

Docteur Ferhate H, et Allouche K ainsi que l'ensemble du personnel du laboratoire de microbiologie, pour leur convivialité, et disponibilité. Mme Linda, Djazia et Amani nous les remercions pour nous avoir aidées énormément.

Un merci tout spécial à nos collègues et amis, les étudiants de Master 2 «Microbiologie-Bactériologie», pour leurs encouragements lors de la préparation de ce mémoire au cours de l'année théorique et à nos fidèles copines : Sara, Sonia et Wassila avec qui on a passé des moments inoubliables gravés en souvenir.

Merci..... !

DEDICACE

J'exprime ma profonde affection :

A mes parents Abdelkrim et Samia qui mon apporté de l'aide et m'ont toujours poussé vers l'avant.

A ma chère sœur Noudjoud Nawel

A mes frères, Mustapha et Mohamed Sedik

À toute la famille SENNIA et la famille LEMDANI et surtout mon oncle Mohammed.

A ma très chère tante Safia ; la plus gentille, la plus attentionnée et pour son soutien moral

A mes proches notamment Samir, Amina, Nour Houda, Fatima, Mounia, Yasmine.....Merci pour votre soutien moral et votre amour...

À mon amie Imène avec laquelle j'ai partagé de très bons moments au laboratoire et l'hôpital. Je lui dédie ce mémoire.

Djazia

En ce moment particulier dans ma vie, je tiens à dédier cet humble travail :

A mes très chers parents Abderrahmane et Ratiba, qui ont tant attendu ce jour et c'est grâce à leurs prières que j'y suis arrivée. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de vous. Je prie dieu de me donner force et courage pour être toujours digne de votre confiance et à la hauteur de ce que vous attendez de moi.

A mon fiancé Lyes pour avoir vécu au rythme de mon mémoire pour avoir été si patient et compréhensif avec ses encouragements amour et soutien moral, je te souhaite la réussite dans ta profession. Je remercie dieu de t'avoir dans ma vie.

A mon unique frère Abdelmoumen : qui m'est très chère de m'avoir soutenue avec ces sourires sa solidarité et ses surprises sucrées ! Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour que dieu réalise tes rêves te protège et te garde pour moi.

Une pensée spéciale à Mr Graba Toufik ami très proche de la famille pour son soutien inoubliable, ma Tante Faïza et à sa petite fille Darine dont la présence et l'innocence m'ont tant apportés dans mon travail je vous souhaite un bel avenir.

A toi Djazia ma chère copine et binôme, notre collaboration reste gravée en mémoire entouré de souvenirs qu'on a passé ensemble jusqu'à ce travail puisse voir le jour je te souhaite la réussite dans ta vie avec beaucoup de joies et de bonheur.

Imene

Liste des tableaux

| Tableaux | Titres | Pages |
|-----------------|---|--------------|
| I | Prévalence de la bactériémie à BMR en Algérie (2010-2011)..... | 7 |
| II | Classification des antibiotiques..... | Annexe II |
| III | Classification d'Amblar des β -lactamases..... | 12 |
| IV | Phénotypes de résistances naturelles chez les Entérobactéries..... | 13 |
| V | Principaux phénotypes de résistance de <i>P. aeruginosa</i> aux bêta-lactamines..... | 15 |
| VI | Phénotypes de résistance d' <i>A. baumannii</i> aux bêta-lactamines..... | 15 |
| VII | Population d'étude selon quelques critères étudiés..... | Annexe I |
| VIII | Principes et compositions des milieux de cultures..... | Annexe I |
| IX | Type de plaque et antibiotiques testés par MicroScan® WalkAway 93 plus selon les espèces bactériennes..... | Annexe II |
| X | Antibiotiques testés, valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition CMI pour <i>Staphylococcus aureus</i> | Annexe II |
| XI | Antibiotiques testés, valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition CMI pour les Entérobactéries..... | Annexe II |
| XII | Antibiotiques testés, valeurs critiques des diamètres de zone d'inhibition et CMI pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Annexe II |
| XIII | Antibiotiques testés, valeurs critiques des diamètres de zone d'inhibition et CMI pour <i>Acinetobacter baumannii</i> | Annexe II |
| XIV | Préparation des boîtes de cloxacilline..... | 31 |
| XV | Répartition des BMR isolées par espèce..... | 35 |
| XVI | Répartition des BMR par espèces et par services..... | 36 |

| Figures | Titres | Pages |
|----------------|---|--------------|
| 1 | Représentation schématique des quatre grandes classes de cibles antibactériennes | 10 |
| 2 | Représentation schématique des grands principaux mécanismes de résistance..... | 12 |
| 3 | Le Thermo-Scientific-Versa® TREK..... | Annexe I |
| 4 | MicroScan® WalkAway 96 plus..... | Annexe I |
| 5 | Etuve bactériologique..... | Annexe I |
| 6 | Densitomètre..... | Annexe I |
| 7 | La hotte de sécurité..... | Annexe I |
| 8 | Color Gram..... | Annexe I |
| 9 | Plaque WalkAway..... | Annexe I |
| 10 | Les flacons d'hémoculture..... | Annexe I |
| 11 | Les réactifs..... | Annexe I |
| 12 | Signale des flacons positifs..... | Annexe II |
| 13 | Isolement des <i>Staphylococcus aureus</i> sur GSC, GN et Uriselect de gauche à droite..... | Annexe II |
| 14 | Isolements des Entérobactéries sur les milieux GSF, GSC, GN et BCP de gauche à droite..... | Annexe II |
| 15 | Isolement d' <i>Acinetobacter baumannii</i> sur les milieux GSC, GSF, GN et Uriselect de gauche à droite..... | Annexe II |
| 16 | Isolement de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur les milieux GSC, GSF et GN de gauche à droite..... | Annexe II |
| 17 | Isolements des principaux Entérobactéries sur le milieu Uriselect.... | Annexe II |
| 18 | Principales étapes d'identification des cocci à Gram positif et bacilles à gram négatif..... | 21 |
| 19 | Test de catalase chez la souche de <i>S. aureus</i> | Annexe II |
| 20 | Test d'agglutination chez la souche de <i>S. aureus</i> | Annexe II |
| 21 | Test de coagulase libre chez la souche de <i>S. aureus</i> | Annexe II |
| 22 | Test d'oxydase | Annexe II |
| 23 | La galerie Api 20 E d'une souche d' <i>A. baumannii</i> | Annexe II |
| 24 | La galerie Api 20 E d'une souche de <i>P. aeruginosa</i> | Annexe II |
| 25 | La galerie Api 20 E d'une souche d' <i>E. cloacea</i> | Annexe II |
| 26 | La galerie Api 20 E d'une souche d' <i>E. coli</i> | Annexe II |
| 27 | La galerie Api 20 E d'une souche d' <i>K. pneumoniae</i> | Annexe II |

| | | |
|----|---|----|
| 28 | Recherche de la résistance à l'oxacilline chez <i>Staphylococcus aureus</i> | 27 |
| 29 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de β -lactamase à spectre étendue..... | 28 |
| 30 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de BLSE (Test du double disque positif)..... | 30 |
| 31 | Test à la cloxacilline chez <i>E. cloacea</i> productrice de CHN..... | 31 |
| 32 | <i>Acinetobacter baumannii</i> productrice de carbapénèmase de classe B | 32 |
| 33 | Test de Hodge modifié positif..... | 33 |
| 34 | (a) Fréquence des hémocultures positive et négative, (b) Fréquence des bactériémies à bactéries multirésistantes (BMR)..... | 34 |
| 35 | Répartition des BMR..... | 35 |
| 36 | Répartition des BMR isolées par service..... | 36 |
| 37 | Evolution du taux de BMR isolées d'hémoculture au CHUM au cours de 4 mois..... | 37 |
| 38 | Répartition des BMR par sexe..... | 37 |
| 39 | Répartition des BMR par âge..... | 38 |
| 40 | (a) Taux d'antibiothérapie préalable (b) Nature d'antibiotiques utilisés..... | 39 |
| 41 | Association d'antibiotiques..... | 39 |
| 42 | Fréquence des bactériémies à SARM..... | 40 |
| 43 | Profil de la résistance des souches de SARM aux antibiotiques..... | 40 |
| 44 | Fréquence des bactériémies à ERC3G..... | 41 |
| 45 | Mécanisme de résistance des Entérobactéries aux C3G..... | 41 |
| 46 | Profil de la résistance des ERC3G aux antibiotiques..... | 42 |
| 47 | Profil de la résistance des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques..... | 43 |
| 48 | Fréquence des bactériémies à <i>A. baumannii</i> résistant à la CAZ et/ou IMP..... | 44 |
| 49 | Profil de la résistance des souches ABRC/ABRI vis-à-vis des antibiotiques..... | 44 |
| 50 | Fréquence des bactériémies à PARC/PARI..... | 45 |

-A-

ABRC : *Acinetobacter baumannii* résistant à la céftazidime

ABRI : *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème

ATB : Antibiotiques

ARN : Acide ribonucléique

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMP : Ampicilline

AMC : Amoxicilline/acide clavulanique

ATCC : American Type Culture Collection

AKN : Amikacine

ATM : Aztréonam

API 20E : Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries)

ADH : L-arginine

-B-

BMR : Bactéries multirésistantes

BNMR : Bactéries Non Multirésistantes

BCP : Gélose lactosée au pourpre de bromocrésol

BLSE: β -lactames à spectre étendu

BGN : Bacille Gram négative

-C-

CHUMB : Centre Hospitalo-Universitaire Mustapha Bacha

C3G : Céphalosporine de troisième génération

CHN : Céphalosporinase haut niveau

CAZ : Céftazidime

CarboxyP : Carboxypénicilline

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CTX : Céfotaxime

CIP : Ciprofloxacine

Liste des abréviations

CIT : Trisodium citrate

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CPO : Céfpirome

CRO : Céftriaxone

CMT : Complexe Mutants TEM

CNHIM : Centre National Hospitalier d'Information sur le Médicament

-E-

ERC3G : Entérobactéries résistants à céphalosporines 3^{ème} génération

EARS-Net: European Antimicrobial Resistance Surveillance Network

ECDC: European Center for Disease prevention and Control

EDP: Energy dependant phase

EDTA: Ethylène-diamino-tetra-acétique

-F-

FEP: Céfépime

FOX: Céfoxitine

-G-

G : Groupe

GSC : Gélose au sang cuit

GSF : Gélose au sang frais

GMN : Gentamycine

GEL : Gélatine

GN : Gélose nutritive

-H-

H₂S: Hydrogène sulfuré

H₂O₂ : Eau oxygéné

-I-

IAS : Infections associées aux soins

Liste des abréviations

I : Intermédiaire

IMP : Imipénème

-K-

KMN : Kanamycine

-L-

LPS : lipopolysaccharidique

LDC : L-lysine dicarboxylase

-M-

MH : Gélose de Mueller-Hinton

MF : MecFarland

-N-

NNIS : National Nosocomial Infections Surveillance

-O-

OXA: Oxacilline

OFX: Ofloxacin

ODC: L-ornithine carboxylase

-P-

PARC : *Pseudomonas aeruginosa* résistants à la céftazidime

PARI : *Pseudomonas aeruginosa* résistants à l'imipénème

PLP : Protéines liant les pénicillines

PIP : Piperacilline

-R-

R : Résistante

-S-

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

S : Sensible

SXT : Cotrimoxazole

Liste des abréviations

-T-

TIC : Ticarcilline

TCC : Association de ticarcilline et acide clavulanique

TET : Tétracycline

TDA : L-tryptophane disaminase

T : Témoin

-U-

UPMC : Université Pierre et Marie Curie

URE : Urée

UFC : Unité Formant Colonie

-V-

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VP : Réaction de Voges-Proskauer

VAN : Vancomycine

-W-

WASP: Walk-Away Specimen Processor

Résumé

L'objectif assigné à ce travail au niveau du laboratoire de microbiologie du CHUMB consiste à déterminer les BMR responsables de bactériémies, d'évaluer la fréquence de leur dissémination, leur résistances associées aux antibiotiques, et de cerner les facteurs favorisant leur survenue chez les patients.

L'analyse bactériologique des hémocultures a révélé 26.2% de BMR représentées essentiellement par les Entérobactéries résistantes aux céphalosporines 3^{ème} génération à 52% (prédominées par les *Klebsiella pneumoniae*), *Acinetobacter baumannii* 26%, *Staphylococcus aureus* 20% et *Pseudomonas aeruginosa* à 2%, avec une répartition variable d'un service à un autre notant des bouffés épidémiques en néonatalogie, ainsi les nouveau nés ont été la tranche d'âge la plus touchée par les BMR dont la cause principale de leur dissémination est liée aux conditions d'hygiène hospitalière.

L'étude de la sensibilité des BMR aux antibiotiques a montré en plus la résistance aux β -lactamines une résistance associée à d'autres familles antibiotiques essentiellement les aminosides, les fluoroquinolones et les glycopeptides.

Les tests phénotypiques complémentaires à l'antibiogramme accomplis par plusieurs méthodes ont révélé que la production de bêtalactamase à spectre élargi (BLSE) est le principal mécanisme de résistance aux C3G chez les entérobactéries. Une souche d'entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae*) isolées de la néonatalogie a été productrice de carbapénémase, tandis que toutes les souches d'*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* isolées ont été résistantes aux carbapénèmes.

En somme, les résultats obtenus laissent entrevoir des perspectives d'application des mesures d'hygiène et une prescription rationnelle des antibiotiques.

Mots-clés : Antibiotique ; Bactériémie ; BMR ; Résistance ; BLSE ; Carbapénémases.

Abstract

The objective assigned to this work at the laboratory of Microbiology of the CHUMB is to identify the multiresistant bacteria (BMR) to determine their resistance associated with antibiotics, and define the factors contributing their occurrence on patients.

The bacteriological analysis of blood-culture, revealed 26.2% BMR represented mainly by Enterobacteria resistant to cephalosporins 3rd generation at 52% (predominated by *Klebsiella pneumoniae*), *Acinetobacter baumannii* 26%, *Staphylococcus aureus* 20% and *Pseudomonas aeruginosa* at 2%, with a varying distribution. Noting an epidemic tide in neonatology, so that newborns have been the most affected age group by BMR whom the main causes of their spread are related to hospital's hygiene requirements.

The study of BMR sensitivity's to antibiotics showed more resistance to β -lactam, another resistance associated with other antibiotics families was essentially about aminoglycosides, fluoroquinolones and glycopeptides.

Several phenotypic tests about the sensitivity achieved by several methods revealed that the production of betalactamase with expanded spectrum (BLSE) is the main mechanism of resistance for C3G resistant Enterobacteria. One strain of enterobacteria (*Klebsiella pneumoniae*) isolated from the neonatal department was producer of carbapenemase, while all strains of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated were resistant to carbapenems.

In sum, our results suggest more awareness for the application of hygiene measures and a rational prescribing of antibiotics.

Keywords: Antibiotic; Bacteremia; BMR; Resistance; BLSE; Carbapenemases.

المخلص

ان الهدف الأساسي لدراستنا المنجزة على مستوى مختبر الميكروبيولوجيا التابع لمستشفى مصطفى باشا يكمن في التعرف على البكتيريا المتعددة المقاومة BMR المسؤولة عن التجرثم الدموي، من ثم تقييم نسبة انتشارها والتعرف عن مقاومتها المرتبطة بأصناف أخرى من المضادات الحيوية قصد التعرف عن الاسباب الرئيسية المولدة لانتشارها في الآونة الاخيرة. بعد القيام بالتحليل البكتريولوجي للمزارع الدموية أظهر هذا الأخير بكتيريا متعددة المقاومة BMR 26.2% ممثلة أساساً بالـ : Entérobactéries المقاومة للجيل الثالث من المضاد الحيوي Céphalosporine (ERC3G) بنسبة 52% للنوع *Klebsiella pneumonia* متبوعة بباقي الانواع التالية:

Pseudomonas aeruginosa 2%, *Staphylococcus aureus* 20%, *Acinetobacter baumannii* 26%

وهذا حسب توزع متباين من جناح إلى آخر في المستشفى، مع تسجيل حالات وباء على مستوى جناح حديثي الولادة،

بحيث أن هذه الفئة من العمر كانت الأكثر عرضة للإصابة بهذه الأصناف من البكتيريا المتعددة المقاومة، BMR نضراً لغياب الشروط الصحية المتعلقة بالنظافة.

أظهرت دراسة حساسية المضادات الحيوية إضافة إلى β -lactamines وجود مقاومة مرتبطة بأصناف أخرى على غرار glycopeptides و fluoroquinolones , aminosides

في حين كشفت اختبارات توافق الحساسية وفق خطوات عديدة:

إنتاج الـ (BLSE) كآلية مقاومة رئيسية لدى Entérobactéries المقاومة للجيل الثالث من المضاد الحيوي . Céphalosporine

سلالة واحدة من *Klebsiella pneumoniae* كانت منتجةً لإنزيم carbapénémases في حين 13 سلالة من *Acinetobacter baumannii* و *Pseudomonas aeruginosa* كانت مقاومة للمضاد carbapénème.

باختصار النتائج المقدمة خلال دراستنا تشير إلى وجوب تطبيق تدابير النظافة والوصف العقلاني للمضادات الحيوية للحد من الانتشار الواسع لهذا النوع من البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: المضادات الحيوية ; التجرثم الدموي ; البكتيريا المتعددة المقاومة (BMR) ; BLSE ; carbapénémases.

Sommaire

| | |
|---------------------------|---|
| INTRODUCTION | 1 |
|---------------------------|---|

CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

| | |
|--|----|
| I. Généralités sur les bactériémies..... | 2 |
| 1. Définition | 2 |
| 2. Physiopathologie | 2 |
| 3. Etiologie | 3 |
| 4. Bactéries multirésistances | 3 |
| 4.1. <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticilline (SARM) | 4 |
| 4.2. Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3 ^{ème} génération (ERC3G)..... | 4 |
| 4.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> résistants à la céftazidime et/ou imipenème (PARC/PARI)..... | 5 |
| 4.4. <i>Acinetobacter baumannii</i> résistants à la céftazidime et/ou imipenème (ABRC/ABRI)..... | 5 |
| 5. Epidémiologie des bactériémies à bactéries multirésistances | 6 |
| II. Résistance aux antibiotiques | 7 |
| 1. Antibiotiques..... | 7 |
| 1.1. Définition..... | 7 |
| 1.2. Classification | 7 |
| 1.3. Mode d'action..... | 7 |
| 2. Résistance bactérienne | 10 |
| 3. Mécanisme de la résistance | 11 |
| 4. Résistance des bactéries multirésistantes aux antibiotiques | 12 |

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

| | |
|------------------------------|----|
| I. Objectifs de l'étude..... | 16 |
| II. Matériel | 17 |
| III. Méthodes..... | 18 |
| 1. Echantillonnage..... | 18 |

Sommaire

| | |
|--|----|
| 2. Incubation des flacons d'hémoculture..... | 18 |
| 3. Etude bactériologique | 19 |
| 4. Mise en Culture | 20 |
| 5. Identification des bactéries | 20 |
| 5.1. Identification classique | 21 |
| 5.2. Identification automatisée par MicroScan® WalkAway 96 plus | 24 |
| 6. Antibiogramme | 25 |
| 7. Tests complémentaires | 26 |
| 7.1. Recherche de la résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> à l'oxacilline | 26 |
| 7.2. Recherche de la β -lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les ERC3G, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter baumannii</i> | 27 |
| 7.3. Recherche et approche phénotypique des carbapénèmases chez les Entérobactéries, <i>Acinetobacter baumannii</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 31 |

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|--|----|
| I. Résultats..... | 34 |
| 1. Hémoculture | 34 |
| 2. Répartition des résultats après l'examen bactériologique | 34 |
| 3. Répartition selon les caractéristiques démographique | 37 |
| 4. Antibiothérapie préalable | 38 |
| 5. Profil de résistance des bactéries multirésistantes aux antibiotiques | 39 |
| II. Discussion générale..... | 46 |
| Conclusion | 50 |

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

La présence de bactéries viables dans le sang connue sous le terme de bactériémie constitue aujourd'hui une préoccupation majeure dans la pratique hospitalière, leur identification basée sur les hémocultures a eu un essor considérable (Moudjongue-Omock, 2014).

La découverte des antibiotiques, notamment la pénicilline en 1928 a été l'une des avancées thérapeutiques les plus importantes du vingtième siècle. L'utilisation de ces antibiotiques depuis les années 1940 a considérablement réduit le taux de morbidité et de mortalité liée aux maladies infectieuses, l'efficacité remarquable des antibiotiques s'est accompagnée de leur utilisation excessive et quelque fois irraisonnée (Eddayab, 2012). Ce phénomène a généré une pression de sélection. Conduisant ainsi à l'apparition de bactéries multirésistantes (BMR) entraînant des échecs thérapeutiques, menaçant d'inefficacité l'activité future des antibiotiques (Soussy, 2007).

Les premières résistances, ont été identifiées dès les années 1940. Avec l'émergence de *Staphylococcus aureus* résistants à la pénicilline, suivie de l'émergence d'Entérobactéries résistants en 1964 (Yvon, 2009). Depuis une trentaine d'années, la résistance d'*Acinetobacter baumannii* aux antibiotiques n'a cessé d'augmenter, la combinaison de plusieurs mécanismes de résistance lui a conféré un éventail très large d'opportunités de dissémination causant des épidémies intra-hospitalières (Poirel et Nordmann, 2006). Le *Pseudomonas aeruginosa* est caractérisé par son aptitude particulière à acquérir de nombreux mécanismes de résistance conduisant à une impasse thérapeutique *vis-à-vis* du panel d'antibiotiques (Minchella et al., 2010). Les BMR causent un problème inquiétant par leur capacité de diffusion rapide entraînant des épidémies ceci souligne la nécessité d'une surveillance adéquate des souches BMR dans les unités de soins intensifs et pédiatriques.

Afin d'évaluer la fréquence des infections graves notamment des bactériémies à BMR. Nous avons mené une étude prospective au laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalo-Universitaire Mustapha Bacha, dont le but est la surveillance du profil bactériologique des BMR, l'évaluation de leur résistances associées aux antibiotiques ainsi que de déterminer leur développement au niveau de différents services, en tenant comptes de certains facteurs cliniques et épidémiologiques.

I. Généralités sur les bactériémies

1. Définition

Les bactériémies désignent la présence de bactéries dans le sang. Ce sont des affections graves, responsables d'une morbidité et d'une mortalité significative à travers le monde, elles font partie des infections associées aux soins (IAS) les plus fréquentes constituant une urgence thérapeutique (Pilly, 1996).

Selon Archambaud et Clave (2008) la bactériémie est décrite en trois passages :

- Transitoires : décharge brève de bactéries dans le sang, sans manifestations cliniques et spontanément résolutive (ex : pendant un brossage dentaire ou au cours de la digestion).
- Continues : décharges continues dans le sang qui s'observe notamment lors d'endocardite, brucellose et fièvre typhoïde, etc.
- Intermittentes : décharges répétées à la suite d'infections diverses (ex : Brucellose focalisée).

2. Physiopathologie

Les bactéries véhiculées par le sang peuvent aller infecter d'autres tissus, créant alors des foyers secondaires ou métastases infectieuses (Fauchère et Avril, 2002). Selon la porte d'entrée du germe et le foyer tissulaire, on distingue trois principaux mécanismes physiopathologiques expliquant les bactériémies (Moudjongue-Omock, 2014) :

2.1.Mécanisme thrombophlébitique

La porte d'entrée est généralement tégumentaire (ex : furoncle) à partir du thrombus infecté des métastases septiques peuvent toucher le cerveau, les poumons, les os et d'autre tissus.

2.2.Mécanisme à point de départ lymphatique

Les germes se multiplient dans les ganglions du territoire de la porte d'entrée, qui est souvent digestive. Au niveau de la lumière intestinale, les bactéries pathogènes traversent la muqueuse sans provoquer des lésions, puis gagnent les ganglions mésentériques (le foyer tissulaire primaire) à partir duquel elles peuvent gagner le sang par l'intermédiaire du canal thoracique, ce type de bactériémie est moins aigu que le précédent (Moudjongue-Omock, 2014).

2.3.Mécanisme endocarditique

Les germes gagnent le sang à partir d'un foyer muqueux dentaire, ils adhèrent au sein d'un amas de fibrine et de plaquettes (végétations) à la surface de l'endocarde ou de matériels étrangers intravasculaires, les bactéries sont continuellement reléguées dans le sang, ce qui donne une fièvre permanente (Moudjongue-Omock, 2014).

2.4.Autre mécanismes

- Mécanisme de la septicémie néonatale : c'est un passage dans le sang au moment de la traversée de la filière génitale, plus rarement par voie transplacentaire.
- Mécanisme de la bactériémie nosocomiale : le germe pénètre dans la circulation sanguine par le biais de dispositifs intravasculaires ex : cathéters veineux.
- Mécanisme de la translocation digestive chez le neutropénique : définit par le passage systémique des bactéries à Gram négatif à partir du tube digestif aux sites extra-intestinaux (le foie, la rate, les reins et le sang).
- Cas des drogués et toxicomanes : les injections provoquent un passage vasculaire des germes de la flore cutanée.

3. Etiologie

Un grand nombre des bactéries peuvent être agents de bactériémie mais leur incrimination n'est pas toujours facile. Deux types d'agents pathogènes sont distingués (Barrau et *al.*, 2004):

- Les agents pathogènes spécifiques : Leur isolement d'une hémoculture établit le diagnostic d'emblée car ils sont associés à une pathologie infectieuses, ex : *Salmonella typhi*, *Brucella sp* et *Streptococcus pneumoniae*.
- Les agents pathogènes opportunistes : Leur incrimination s'appuie sur la fréquence de leur isolement en hémoculture, la ou les portes d'entrées potentielles dans l'organisme et le statut immunitaire du patient. En effet, ces agents font partie de la flore normale du corps humain, ex : Entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*.

4. Bactéries multirésistantes

Les bactéries sont dites multirésistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs. En raison de leur fréquence élevée, leur potentiel pathogène, ainsi que leur caractère commensal, ces bactéries peuvent être responsables d'un problème thérapeutique si elles sont responsables d'infections

et d'une épidémie du fait de leur capacité de diffusion (Eddayab, 2012). Les principales bactéries multirésistantes sont :

4.1. *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM)

Les *Staphylococcus aureus* font parties de la famille des Staphylococcaceae genre *Staphylococcus* (Denis et al., 2011). Ils sont des commensaux de la peau et des muqueuses de l'Homme et des animaux (UPMC. 2003). Ce sont des cocci à Gram positif, aéro-anaérobies facultatifs, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. *S. aureus* se développe facilement sur les milieux usuels il s'accommode à de grande variation de température (10°-45°C), la plus part des souches élaborent un pigment qui donne à la colonie un aspect doré.

Virulence

Le *S. aureus* possède plusieurs facteurs de virulence telle que la coagulase libre qui forme un complexe avec la prothrombine à l'origine de thrombophlébite, afin de le protéger de la phagocytose.

4.2. Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (ERC3G)

Les Entérobactéries font parties de la famille des Entérobacteriaceae. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit commensales du tube digestive (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Klebsiella sp*), soit des saprophytes (*Serratia sp* et *Enterobacter sp*). Ce sont des bacilles à Gram négatif, catalase positive, oxydase négative, aéro-anaérobies facultatifs, mobiles ou immobiles à métabolisme fermentaire. L'ensemble de ces bactéries poussent habituellement sur milieu ordinaire, la température optimale de croissance est généralement de 35° à 37°C et l'aspect générale des colonies sur gélose nutritive est différent d'une espèce à une autre (Denis et al., 2011).

Virulence

Les Entérobactéries possèdent des antigènes O ou somatique localisés au niveau de la paroi bactérienne, de nature lipopolysaccharidique (LPS), possédant une endotoxine bactérienne qui est thermostable et résiste à l'alcool. Chez les bactéries mobiles, l'antigène H est constitué de la protéine flagelline, il est thermostable et inactivé par l'alcool. L'antigène K ou capsulaire est généralement constitué d'une couche externe polysaccharidique ou protéique, ces antigènes peuvent rendre la souche inagglutinable avec les antisérums O. Les antigènes

d'adhérences ou d'adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (Fauchère et Avril, 2002; Bidet et Bingen, 2007).

4.3. *Pseudomonas aeruginosa* résistants à la céftazidime et/ou imipénème (PARC/PARI)

Les *Pseudomonas aeruginosa* font partie de la famille des *Pseudomonadaceae* (Staley et al., 2001). Ce sont des germes saprophytes qui vivent librement dans les milieux humides naturels, ainsi que dans le tube digestif de l'homme et des animaux. Ce sont des bacilles à Gram négatif, oxydase positive, aérobies strictes, non fermentaires, mobiles par une ciliature polaire monotriche. Les *P. aeruginosa* se cultivent facilement sur milieux ordinaires en donnant des colonies pigmentées en vert (la pyocyanine) une odeur de seringia, la température optimale de croissance est de 30°C (Denis et al., 2011).

Virulence

P. aeruginosa est invasif et toxigène, en raison de la production de facteurs de virulence de surface qui lui permettent de s'attacher, de coloniser, et d'envahir les tissus (Mesaros et al., 2007). Cette bactérie est naturellement très résistante aux antibiotiques, elle a acquis de nombreux mécanismes de résistance lui permettant d'échapper aux molécules jusqu'à présentes très actives (Chaplin, 1997). Elles sont retrouvée en particulier chez les patients immunodéprimés, et ceux atteints de mucoviscidose (Remington et Schimpff, 1981).

4.4. *Acinetobacter baumannii* résistants à la céftazidime et/ou imipénème (ABRC/ABRI)

Les *Acinetobacter baumannii* font partie de la famille des Moraxellaceae (Staley et al., 2001). Ils sont habituellement saprophytes, ils sont présent dans la nature (eau et sol), mais peuvent aussi être trouvés parmi la flore normale de l'homme (peau, voies respiratoires et voie génitale), ils sont fréquent dans l'environnement hospitalier (cathéter, air, matériel, etc.). Les *A. baumannii* sont des coccobacilles courts immobiles à Gram négatif, aérobies stricts, catalase positive et oxydase négative, (Bergogne-Berezin et al., 1996). Leur isolement en milieu solide peut être obtenu après incubation comprise entre 30°-37°C sur milieux conventionnelle (gélose au sang, gélose pourpre de bromochrésol (BCP), etc.) et sur milieux dédié au bacille à Gram négative comme les milieux chromogènes.

Virulence

La présence d'une capsule polysaccharidique leur confère une dissémination dans l'organisme et rend la surface des bactéries plus hydrophobe, protégeant la bactérie de la phagocytose, certaines souches produisent des polysaccharides de surface (slim) qui inhibe la migration des

polynucléaire neutrophile (Denis et *al.*, 2011 ; Kempf et *al.*, 2012). Le genre *Acinetobacter* est marqué par une évolution impressionnante de la résistance aux antibiotiques en termes de rapidité et de diversité des mécanismes génétiques mis en jeu (Decré, 2012).

5. Epidémiologie des bactériémies à bactéries multirésistances (BMR)

5.1. Situation épidémiologique dans le monde

Les bactéries résistantes sont apparues à partir des années 40 elles se sont disséminées et devenues aujourd'hui un phénomène planétaire préoccupant résultant en premier lieu de l'utilisation intensive des antibiotiques (Eddayab, 2012).

- Les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) présentent une prévalence hétérogène dans le monde, de forts pourcentages estimés de 36 à 62,6 % en Amérique du nord ont été rapportées pour des populations à risque (drogués, sans abris chômeurs et VIH positifs) (Bader, 2006). En Afrique noir une prévalence de 57% est enregistrée par rapport à 10% dans les pays du Maghreb (Elouennass et *al.*, 2005).
- La résistance aux ATB chez les ERC3G, *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* est intégrée au protocole de surveillance du réseau européen EARS-Net depuis 2005, les pourcentages présentant une résistance simultanée aux céphalosporines 3^{ème} génération (C3G), fluoroquinolones et carbapénèmes sont estimés de 50% en Grèce. Pour les souches *Pseudomonas aeruginosa* la France a connu une forte augmentation de résistance à la ceftazidime en 2009 située entre 10 et 25 % (ECDPC, 2012).

5.2. Situation épidémiologique en Algérie

En Algérie les bactériémies à bactéries multirésistantes ont touché beaucoup plus les services de réanimation à des prévalences assez importantes dans les années 2010 à 2011 (Dali et *al.*, 2010 ; Benslimani et Mahieddine, 2011). Les Entérobactéries est le groupe le plus rencontré par rapport à d'autres bactéries à Gram positif dans les hôpitaux algériens (Tableau I).

Tableau I: Prévalence de la bactériémie à BMR en Algérie (2010-2011)

| Espèces (BMR) | Fréquence d'espèces résistantes (%) | Fréquence de services concernés (%) |
|---------------|--|---|
| SARM | 35,37 | -Réanimation (45,74) -Chirurgie (34) |
| ERC3G | <i>Klebseilla pneumoniae</i> (57.5) <i>Enterobacter spp</i> (39,9) <i>Serratia marcescens</i> (23,9) <i>Escherichia coli</i> (17.3) | Réanimation (100) |
| PARC/PARI | -Céftazidime (15,05) -Imipénème (12,3) | Réanimation (8.93) |
| ABRC/ABRI | Imipénème (45,3) | Réanimation (51,89) |

II. Résistance aux antibiotiques

1. Antibiotique

1.1. Définition

Les antibiotiques sont des molécules produites par des micro-organismes ou par synthèse chimique dont l'activité bactériostatique ou bactéricide se manifeste à faible dose (Mammeri, 2013). Cette substance est en théorie dépourvue de toxicité pour les autres types cellulaires comme les cellules eucaryotes (Eddayab, 2012).

1.2. Classification

La classification des antibiotiques est basée sur les critères suivants : origine, nature chimique, mode d'action et spectre d'activité. Les antibiotiques sont regroupés en 11 famille (Bêta-lactamines, Aminosides, Macrolides et apparentés, Quinolones, Tétracyclines, Phénicolés, Nitro-imidazolés, Glycopeptides, Sulfamides et association avec triméthoprime, Nitrofuranes et Polymyxines) (Guimenez et al., 2002 ; Yaméogo, 2006 ; Branger, 2007 ; Permuter et Permuter, 2007 ; Pilly, 2008 ; Bassole, 2012) qui sont représentés dans l'annexe II, Tableau II.

1.3. Mode d'action

Selon Bassole (2012) quatre grands modes d'action d'antibiotique sur la cellule bactérienne sont distingués :

- Inhibition la synthèse de la paroi bactérienne.

- Inhibition la synthèse des protéines.
- Inhibition le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléique.
- Destruction de la membrane cytoplasmique.

1.3.1. Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne

Trois classes d'antibiotiques sont concernées ; les bêta-lactamines, les glycopeptides et la fosfomycines (Figure 1).

- Les β -lactamines se fixent sur les protéines liant les pénicillines (PLP) de la membrane cytoplasmique qui sont les cibles de β -lactamines, ces PLP sont en fait les enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane : les transpeptidases, les carboxypeptidases et les transglycosylases, leur affinité, nature et nombre varient selon les espèces bactériennes. L'inhibition d'une ou plusieurs de ces enzymes fait accumuler des précurseurs de peptidoglycane qui activent le système autolytique de la bactérie et entraînent sa lyse (Bergogne-bérézin et Dellamonica, 1999).
- Les glycopeptides se fixent sur la terminaison D-ala-D-ala de la partie peptidique du peptidoglycane. Cette fixation empêche le fonctionnement des transpeptidases et des transglycosylases, entraînant l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane donc la mort de la bactérie (Bergogne-bérézin et Dellamonica, 1999 ; Gaudy et Buxeraud, 2005).
- La fosfomycine inhibe les premières étapes de la formation du peptidoglycane en se fixant sur une enzyme (la pyruvyltransférase), impliquée dans la formation d'un précurseur du peptidoglycane (Gaudy et Buxeraud, 2005).

1.3.2. Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines

Les antibiotiques les plus importants de cette catégorie sont les aminosides, les macrolides, les tétracyclines et la rifampicine (Figure 1).

- Les aminosides sont des molécules de petite taille qui traversent les pores de la membrane externe des bactéries à Gram négatif à fin d'attendre le peptidoglycane des bactéries à Gram négatif et positif, pour se concentrer au niveau de la membrane cytoplasmique. Ce passage est un transport actif nécessitant de l'énergie qui s'effectue en deux phases :
 - ✓ Energy Dependand Phase 1 (EDP 1) : cette phase est lente les premières molécules d'aminosides rentrent et se fixent sur l'acide ribonucléique (ARN) ribosomal 16S, constituant de la sous-unité 30S du ribosome. Il s'en suit d'une altération de la traduction de l'ARN messenger, des erreurs de lecture et donc une production de

protéines anormales. L'incorporation de certaines de ces protéines dans la membrane cytoplasmique entraîne une altération membranaire.

- ✓ Passage membranaire des aminosides (EDP II) : Les molécules rentrent massivement et rapidement à travers la membrane lysée, se fixent en grand nombre sur le ribosome et bloquent la synthèse des protéines (Gaudy et Buxeraud, 2005).
- Les macrolides sont des molécules de grande taille qui ne traverse pas la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Les macrolides se fixent sur l'ARN ribosomal 23S de la sous unité 50S du ribosome, entraînant l'inhibition de l'élongation du peptide en formation (Bergogne-bérézin et Dellamonica, 1999).
- Les tétracyclines se fixent de façon irréversible sur la sous-unité 30S du ribosome, empêchant la fixation de nouveaux aminoacyl-ARNt. La synthèse protéique est donc interrompue.
- La rifampicine inhibe la transcription de l'ADN en ARN messager, par la fixation sur une sous-unité de l'ARN polymérase et bloque son action.

1.3.3. Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléique

Deux classes d'antibiotiques sont concernées ; les quinolones et les imidazolés (Figure 1)

- Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides qui bloquent la réplication de l'ADN. Elles se fixent sur le complexe ADN-topo-isomérase, qu'est une enzyme qui modifie la topologie de l'ADN bactérien, en inhibant son fonctionnement. La bactéricide s'expliquerait par la stabilisation des coupures d'ADN qui déclencheraient des phénomènes d'autolyse. Les deux enzymes cibles principalement sont l'ADN gyrase (topo-isomérase II) et la topo-isomérase IV (Gaudy et Buxeraud, 2005).
- Les imidazolés se lient à des protéines réductrices entraînant la libération de radicaux libres toxiques capables d'oxyder l'ADN bactérien et de le couper. Seules les bactéries anaérobies strictes sont concernées par ce mécanisme.

1.3.4. Antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique

Les polymyxines, dont la colistine est le représentant le plus connu, ils sont capables de détruire la membrane cytoplasmique après avoir désorganisé la membrane externe des bactéries à Gram négatif (Gaudy et Buxeraud, 2005).

La figure 1 présente un schéma résumant les quatre modes d'actions d'antibiotiques.

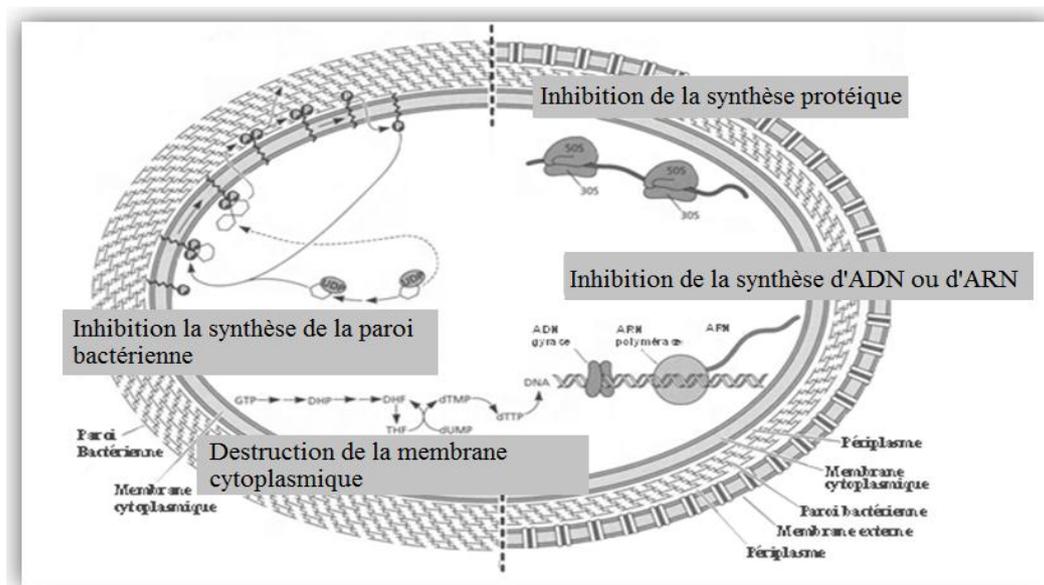


Figure 1 : Représentation schématique des quatre grandes classes de cibles antibactériennes (Paradis-Bleau, 2007)

2. Résistance bactérienne

Une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de cet antibiotique au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou de la tuer (Lagha, 2015). On distingue la résistance naturelle et la résistance acquise.

2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible ou encore son absence pour l'antibiotique. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique (Yamashita et *al.*, 2000). Elle se transmet toujours à la descendance, de manière verticale et détermine le phénotype sauvage de la bactérie (Eddayab, 2012).

2.2. Résistance acquise

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme (Dali, 2015). Les gènes de résistance peuvent être intégrés à des éléments mobiles (plasmides, les

transposons et les intégrons) (Bassole, 2012). L'acquisition de la résistance se fait suite à un transfert génétique entre la bactérie résistante et sensible.

3. Mécanisme de la résistance

3.1. Modification des protéines liant la pénicilline

C'est un mécanisme de résistance largement répandu chez les bactéries à Gram positif (Maiti et al., 2006) suite à la perte ou à la diminution d'expression d'une PLP (Poirel et Nordmann, 2006). Ces PLP modifiées présentent une affinité plus faible pour les β -lactamines. Ce mécanisme de résistance est majeur pour les bactéries pathogènes telle que *S. aureus* (Zapun et al., 2008).

3.2. Imperméabilité de la membrane externe

La pénétration de certaines molécules d'antibiotiques se fait à travers la membrane externe constituée de phospholipides et s'effectue à travers les porines. L'altération de ces porines par mutation est à l'origine de résistances acquises soit par une modification structurale, ou par une perte ou une diminution quantitative des porines (Cavallo, 2005).

3.3. Système d'efflux

Les bactéries peuvent résister aux antibiotiques par exportations actives grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux, ces pompes d'efflux confèrent une résistance vis-à-vis d'une seule classe d'antibiotiques (comme les pompes d'efflux des tétracyclines). Ce système est un complexe protéique avec une pompe transmembranaire, une protéine périplasmique de jonction et une porine de la membrane externe (Faure, 2009). Ce type de mécanisme de résistance a été mis en évidence chez *P. aeruginosa* (Li et al., 1994).

3.4. Résistance aux antibiotiques par inactivation enzymatique

Certaines bactéries produisent des enzymes capables de modifier ou de détruire l'antibiotique conduisant à son inactivité, ex : les β -lactamases (une grande diversité d'enzymes) produites par les bactéries à Gram négatif qui hydrolysent les β -lactamines.

La classification des β -lactamases est basée sur deux schémas : celui de Bush-Jacoby-Medeiros, fondé sur les propriétés fonctionnelles des enzymes (Maiti et al., 2006) et celui

d'Ambler, fondé sur les propriétés moléculaires qui les divise en quatre groupes de A à D (Barry et Barlow, 2005) (Tableau III).

Tableau III : Classification d'Ambler des β -lactamases

| | Classe A | Classe C | Classe D | Classe B |
|---------|--------------------------------|-------------------|---------------|----------------|
| Enzymes | Pénicillinases, BLSE | Céphalosporinases | Oxacillinases | Carbapénémases |
| Nature | Plasmidiques ou chromosomiques | | | Plasmidiques |

Les quatre principaux mécanismes de résistance sont présentés dans la figure 2.

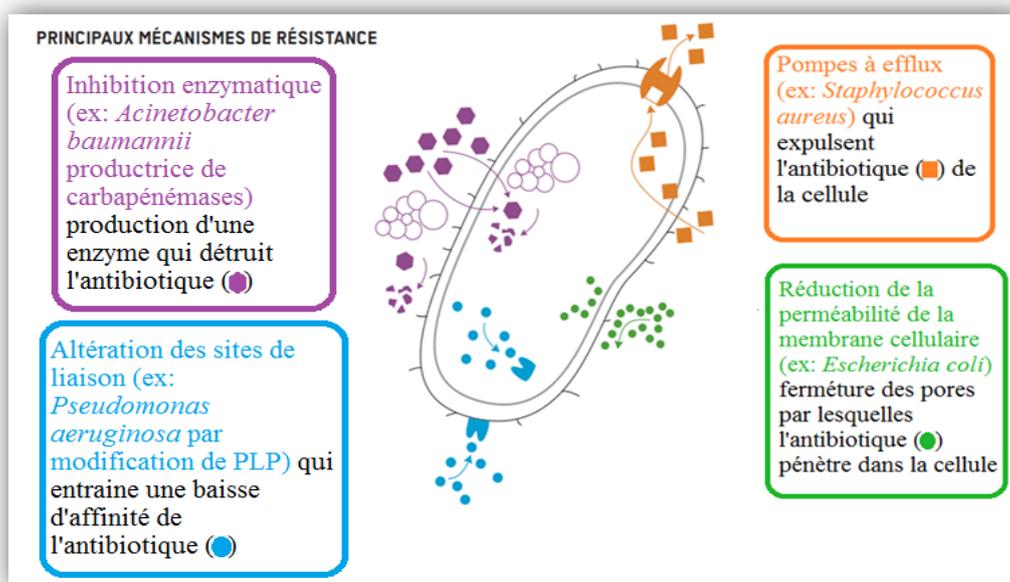


Figure 2 : Représentation schématique des grands principaux mécanismes de résistance
(Inesss, 2012)

4. Résistance des bactéries multirésistantes aux antibiotiques

4.1. *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM)

Résistance naturelle

Les *Staphylococcus aureus* sont naturellement résistants à l'aztréoname, l'acide nalidixique et la colistine (Courvalin et al., 2006).

Résistance acquise

Les SARM ont développés une résistance acquise par différents mécanismes (Courvalin et al., 2006) :

- La sécrétion de pénicillinase active sur la pénicilline G, aminopénicilline, ticarcilline et piperacilline.
- La résistance à l'oxacilline est due à la production d'une PLP additionnelle, la PLP2a (gène *mecA*), ayant une faible affinité pour les β -Lactamines, ce qui confère à ces souches une résistance à toutes les β -Lactamines.

4.2. Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (ERC3G)

Résistance naturelle

Les Entérobactéries sont classées en fonction de leur phénotype naturel en 7 groupes. Les phénotypes de résistance naturelle sont représentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Phénotypes de résistances naturelles chez les entérobactéries (Courvalin et *al.*, 2006)

| Phéno -types | Antibiotiques | | | | | Enzymes | Espèces |
|-----------------|---------------|------|-----|-----|--------|---|---|
| | AMP | AMC | TIC | C1G | C2G | | |
| G0 | S | S | S | S | S | Aucune | <i>Salmonella spp</i> et <i>P. mirabilis</i> |
| G1 | S/I | S/I | S | S/I | S | Céphalosporinase de très bas niveau | <i>E. coli</i> et <i>Shigellaspp</i> |
| G2 | R | S | R | S | S | Pénicillinase naturelle | <i>K. pneumoniae</i> et <i>Citrobacter koseri</i> |
| G3 | R | R | S | R | S/I/R* | Céphalosporinase non inductible de bas niveau | <i>E. cloacae</i> <i>E. aerogenes</i> et <i>S. marcescens</i> |
| G4 | R | R | R | R | R | Céphalosporinase inductible+BLSE | <i>Y.enterocolitica</i> et <i>S. fonticola</i> |
| G5 | R | S | S | R | R | Céfuroximase | <i>P. vulgaris</i> et <i>P. penneri</i> |
| G6 | R/I | S /I | R/I | R/I | R/I | BLSE chromosomique de bas niveau | <i>Kluyvera ascorbata</i> et <i>K. cryocrescens</i> |

*En fonction de l'espèce, G : Groupe, R : Résistante, I : Intermédiaire, S : Sensible

Résistance acquise

Les Entérobactéries peuvent développer des résistances vis-à-vis des bêta-lactamines par (Lagha, 2015) :

- Production d'une bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) capable d'hydrolyser et d'inactiver toutes les bêta-lactamines. Mis à part les cephamycine (cefoxitine) et les carbapénèmes.

- Céphalosporinase haut niveau (CHN) : correspond à une résistance plus moins marquée aux pénicillines, céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération et au moins une C3G.
- Carbapénèmases : elles constituent une famille très composite définie sur la base d'un spectre enzymatique et non sur une base structurale, elles sont ainsi retrouvées au sein des classes A, B et D d'Ambler. Elles confèrent une résistance à la carbapénèmes.

4.3. *Pseudomonas aeruginosa* résistants à la céftazidime et/ou imipénème (PARC/PARI)

Résistance naturelle

La production d'une céphalosporinase inductible couplée à une imperméabilité plus ou moins marquée et d'un système d'efflux actif constitutif, conférant la résistance aux aminopénicilline et céphalosporine de 1^{ère} et 2^{ème} génération (François et *al.*, 2003).

Résistance acquise

Elles sont liées à des mécanismes enzymatiques ou non enzymatiques (François et *al.*, 2003).

a) Résistance acquise enzymatiques

- Pénicillinases plasmidiques transférable confère la résistance aux carboxypénicillines et uréidopénicillines.
- Céphalosporinases chromosomiques hyperproduite confèrent une résistance à toutes les bêta-lactamines sauf l'imipénème.
- Carbapénèmases : sensible uniquement à l'aztréonam.
- BLSE : sensible uniquement à l'imipénème.

b) Résistance acquise non enzymatique

- Surexpression des systèmes d'efflux.
- Modification quantitative ou qualitative de la porine : résistance variable aux carbapénèmes.
- Modification de LPS : perméabilité diminuée à toutes les bêta-lactamines, sauf l'imipénème.
- Modification des PLPs : PLPs2 ou PLPs4 confère une résistance à l'imipénème, PLPs3 confère une résistance à toutes les bêta-lactamines sauf l'imipénème.

L'ensemble des phénotypes de résistance aux bêta-lactamines est rassemblé dans le tableau V.

Tableau V : Principaux phénotypes de résistance de *P. aeruginosa* aux bêta-lactamines (François et *al.*, 2003)

| ATB | Phénotype sauvage | Pénicillinase | CHN | BLSE | Carbapénémase | Efflux | | | Porine D2 |
|-----|-------------------|---------------|-----|------|---------------|--------|------|------|-----------|
| | | | | | | OprM | OprJ | OprN | |
| TIC | S | R | R | R | R | R | S | S | S |
| TCC | S | S | R | R/S | R | R | S | S | S |
| CAZ | S | S | R | R | R | S | S | S | S |
| PIP | S | R | R | R | R | S | S | S | S |
| FEP | S | S | R/S | R | R | S | R | S | S |
| ATM | S | S | R | R | S | R | S | S | S |
| IMP | S | S | S | S | R | S | S | R | R |

CHN : céphalosporinase à haut niveau, BLSE : beta-lactamase à spectre étendue

4.4. *Acinetobacter baumannii* résistants à la céftazidime et/ou l'imipénème (ABRC/ABRI)

Résistance naturelle

Les *A. baumannii* sont résistantes aux aminopénicillines et aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération (François et *al.*, 2003).

Résistance acquise

- Pénicillinases plasmidiques confèrent la résistance aux ticarcillines et pipéracilline.
- Résistance aux C3G liée à la surexpression de céphalosporinases chromosomiques.
- Acquisition de BLSE conférant une résistance à l'ensemble des bêta-lactamines sauf les carbapénèmes.
- La résistance à l'imipénème est confère la production de carbapénémase, par une imperméabilité couplées ou non à une céphalosporinases, et à des modifications des PLPs (François et *al.*, 2003).

Les différents phénotypes de résistance aux bêta-lactamines figurent dans le tableau VI.

Tableau VI : Phénotypes de résistance d'*A. baumannii* aux bêta-lactamines (François et *al.*, 2003)

| Mécanisme | Phénotyp e sauvage | Pénicilli-nase | CHN | Pénicilline+ céphalosporinase | Carbapénémase | BLSE |
|---------------------|--------------------|----------------|-----|-------------------------------|---------------|------|
| CarboxyP et UréidoP | S | R | S | R | R | R |
| C3G | S | S | R | R | R | R |
| ATM | S | S | R | R | R | R |
| IMP | S | S | S | S | R | S |

I. Objectifs de l'étude

Notre étude a été réalisée au laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalo-Universitaire Mustapha Bacha (CHUMB). Il s'agit d'une étude prospective de type descriptive. Elle a porté sur l'étude bactériologique des hémocultures de 868 échantillons étalés sur une période de 4 mois (Janvier-Avril 2016). Il s'agit de patients de tous âges et des deux sexes ayant été admis dans différents services.

Les objectifs évoqués dans cette étude sont :

- L'évaluation de la fréquence des bactériémies à BMR.
- L'évaluation des résistances associées aux antibiotiques des BMR.
- Déterminer les services les plus à risque de bactériémie à BMR.
- Déterminer chez les patients les facteurs favorisant les bactériémies à BMR.

1. Population d'étude

La population d'étude correspond à l'ensemble de patients hospitalisés (CHUMB) au niveau des services médicaux, chirurgicaux et service de réanimation (Annexe I, Tableau VII). Les informations recueillies à partir des fiches de renseignements réceptionnées au laboratoire sont les suivantes :

- Nom et prénom
- Age, sexe
- Service d'hospitalisation
- Date du prélèvement
- Notion d'antibiothérapie
- Dialyse ou port de cathéter
- Diagnostic clinique

Les sujets inclus selon quelques critères étudiés ont présenté au moins l'un des symptômes suivants :

- La fièvre : surtout après acte chirurgical ou instrumental, perfusion depuis quelques jours, déficit immunitaire, toxicomanie, état général altéré ou après une valvuloplastie.
- Des chocs inexplicables.
- Sepsis grave.
- Une souffrance néonatale.
- Des infections localisées sévères (méningite, endocardite, pneumonie, pyélonéphrite et abcès intra-abdominal).

- Une aggravation de l'état général chez un immunodéprimé.

Les bactéries faisant partie de la flore commensale n'ont été retenues que si elles ont été isolées au moins 2 fois chez le même malade avec le même phénotype de résistance. A noter que les doublons et flacons contaminés ont été exclus et considérés comme des critères de non inclusion.

II. Matériel

Des souches de référence ont été utilisées pour vérifier la fiabilité des différents réactifs utilisés et valider les techniques d'identification et les tests de sensibilité aux antibiotiques : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1705 : carbapénèmase positive et *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 : carbapénèmase négative.

Les appareillages indispensables dans cette étude sont représentés par : le Thermo-Scientific-VersaTREK®, MicroScan® WalkAway 96 plus et les milieux de cultures (Annexe I, appareils).

La détection des flacons d'hémoculture positives et l'identification des genres bactériens isolés après mise en cultures est basée sur l'utilisation de deux systèmes automatisés représentés respectivement par :

- Thermo-Scientific-VersaTREK® (Trek diagnostic system) : Ce système permet de détecter les flacons d'hémocultures positives grâce à l'agitation des flacons. la surveillance se fait par un capteur de pression suite à une modification de la pression à l'intérieur du flacon due aux produits métaboliques générés par la croissance des bactéries (CO₂, ion H⁺, variation du potentiel de milieu). Les méthodes de ce système permettent un rendu précoce des résultats et sont cependant onéreux, utilisés que pour un nombre important d'hémocultures (Denis et *al.*, 2011).
- MicroScan® WalkAway 96 plus : permet aujourd'hui une identification intelligente des bactéries ainsi que la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par micro-dilution, basée sur la croissance réelle des bactéries (Benamrouche, 2014).

III. Méthodes

1. Echantillonnage

Durant notre période d'étude nous avons réceptionné 868 échantillons pour objet d'hémoculture. Cette technique consiste à mettre en culture un échantillon du sang afin d'identifier la présence d'éventuels de bactéries (Denis et *al*, 2011). Un volume de sang est réalisé par ponction veineuse au pli du coude chez l'adulte et par une veine épicroânienne, jugulaire ou ombilicale chez le nouveau-né et le nourrisson. 10ml pour l'adulte et 2ml pour le nouveau-né ont été répartis sur 2 flacons chaque un la même quantité :

- Un flacon aérobie VersaTREK™ REDOX™ 1 : enrichi en oxygène, favorise la croissance des bactéries aérobies strictes.
- Un flacon anaérobie VersaTREK™ REDOX™ 2 : favorise la culture des bactéries anaérobies strictes.

Ces flacons contiennent préalablement 80ml de bouillon spéciale (bouillon cœur- cervelle ou bouillon trypticase-soja) additionnés avec des nutriments et des facteurs de croissance (vitamines, hémine, hydrate de carbone, cystéine, anticoagulant et saccharose). Ceci a pour but d'éviter la lyse des bactéries à paroi déficiente par les facteurs limitant du sang (phagocytose, complément, lysozyme, anticorps et la prise d'antibiotiques), selon les recommandations du protocole Thermo-Scientific-VersaTREK® (Denis et *al.*, 2011).

Les flacons réceptionnés comportaient une étiquette mentionnant l'identité du patient ainsi que le service d'hospitalisation et accompagnés d'une fiche de renseignement sur laquelle figurait la date, l'heure et la température au moment du prélèvement, le diagnostic clinique et la présence ou non d'antibiothérapie.

2. Incubation des flacons d'hémoculture

Les flacons ont été immédiatement introduits dans l'automate thermo-scientific-VersaTREK®, incubés sous agitation à 35-37°C et inspectés régulièrement. La durée d'incubation étant de 1 à 7 jours. Une surveillance quotidienne de l'évolution de la courbe de croissance bactérienne a été assurée via le voyant tactile de l'automate selon les recommandations du protocole thermo-scientific-VersaTREK® (Denis et *al.*, 2011). L'automate émet un signal rouge pour les flacons détectés comme positifs (Annexe II, Figure 12) et un signal vert au bout du 7^{ème} jour d'incubation pour les flacons négatifs.

3. Etude bactériologique

Les flacons positifs ont fait l'objet d'une étude bactériologique dont le but est l'identification des bactéries présentes dans le sang.

3.1. Examen microscopique

3.1.1. Etat frais

Principe

Il consiste à examiner les micro-organismes vivants entre lame et lamelle et de distinguer leur morphologie et mobilité (Garnier et Denis, 2010).

Technique

Après désinfection de l'opercule du flacon sous hotte de sécurité une petite quantité de sang est prélevée à l'aide d'une aiguille stérile, puis déposée au centre d'une lame puis recouverte par une lamelle propre.

Lecture

L'observation s'est faite au microscope photonique, grossissement x 40.

3.1.2. Coloration de Gram

Nous avons réalisé une coloration de Gram d'une part à partir des flacons d'hémoculture positive afin d'orienter l'antibiothérapie et de l'ajuster avant les résultats de la culture (Denis et *al.*, 2011). D'autre part à partir des colonies bactériennes isolées après la mise en culture.

Principe

Elle sert à différencier et classer les bactéries selon leur affinité morpho-tinctorial en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif et à Gram négatif selon la composition chimique et la perméabilité de la paroi à l'alcool-acétone (Lanotte et *al.*, 2010).

Technique

- Le frottis a été confectionné à partir d'une goutte de la suspension bactérienne sur une lame propre étalé en mouvement circulatoire du centre vers la périphérie, une fois réalisé le frottis est séché à température ambiante puis fixé par trois passages successifs dans la flamme du bec bunsen puis passé à la coloration.
- Recouvrir le frottis par le violet de gentiane et laissé agir pendant 1 minute.
- Jeter le violet de gentiane puis recouvrir la lame avec du Lugol et laisser agir pendant 30 secondes (mordantage).

- Rincer à l'eau ensuite décolorer à l'alcool à 95°.
- Après lavage à l'eau, le frottis a été recoloré à la fuchsine pendant 1 minute (contre coloration).

Lecture

L'observation ce fait au microscope optique grossissement x100 après immersion. La coloration des bactéries en rose est en faveur d'un Gram négatif, tandis qu'en violet elle oriente sur un Gram positif.

4. Mise en culture

Dès la détection de flacons positifs, nous avons procédé directement à une recherche de bactéries. Cela en déchargeant par stries condensées une goutte du prélèvement à l'aide d'une pipette pasteur sur toute la surface de la boîte gélosée.

- Pour les flacons aérobies nous avons réalisé l'ensemencement sur deux boîtes gélosées, une au sang frais (GSF) et l'autre au sang cuit (GSC), leur incubation a été réalisée à 35°C en atmosphère enrichie en CO₂ pendant 18-24h.

D'autres milieux électif pourpre de bromochrésol (BCP) et chromogène (Uriselect) étaient également ensemencés pour orienter l'identification des bactéries isolées (Annexe II, Figure 13, 14, 15, 16 et 17).

- Pour les flacons anaérobies nous avons utilisé deux boîtes GSF leur incubation a été réalisée dans des conditions d'anaérobiose, en utilisant des sachets générateurs de gaz (Gen-box PakEZ), qui produisent une atmosphère adaptée en diminuant la concentration de l'oxygène (Lanotte *et al.*, 2010).

Les principes et compositions des milieux de culture sont représentés en Annexe I, Tableau VIII (Denis *et al.*, 2011).

5. Identification des bactéries

L'identification des bactéries isolées a été réalisée par deux méthodes :

- Identification classique (manuelle) : coloration de Gram, tests biochimiques, métaboliques (système API 20).
- Identification automatisée : réalisée par le système MicroScan® WalkAway 96 plus.

5.1. Identification classique

5.1.1. Tests d'orientation

Les différentes étapes d'identification des bactéries isolées à BMR : *Staphylococcus aureus*, Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* sont représentés dans l'algorithme représenté dans la figure 18.

- Les *Staphylococcaceae* nécessitent un diagnostic différentiel par rapport aux *Streptococcaceae* par la recherche de la catalase. Les *Staphylococcus aureus* se distinguent des autres espèces appartenant à la même famille des Staphylococcaceae par la recherche de la coagulase libre.
- Les Entérobactéries sont distinguées des autres bacilles à Gram négatifs non fermentaires par la recherche de l'oxydase et l'identification biochimique à l'aide d'une API 20E.

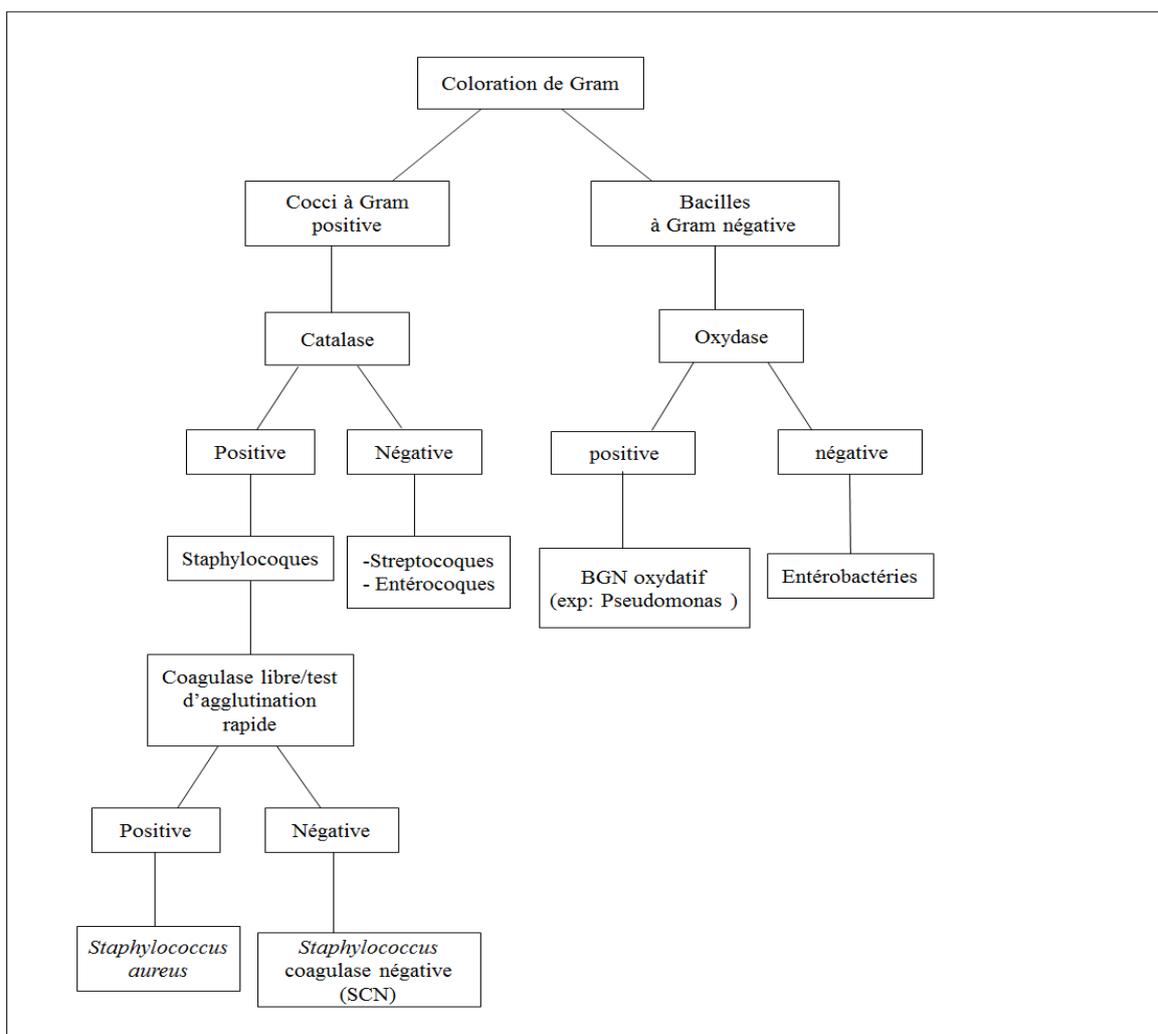
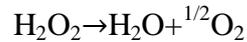


Figure 18 : Principales étapes d'identification des cocci à Gram positif et bacilles à Gram négatif

5.1.1.1 Test de catalase

Principe

Au cours de la respiration aérobie il y a production du peroxyde d'hydrogène H₂O₂, la bactérie dégrade ce dernier grâce à la catalase (Branger, 2007) selon la formule suivante :



Technique

Déposer sur la lame une goutte du réactif H₂O₂ à 10V ensuite prendre 1 à 2 colonies qu'on dissocie dans la goutte.

Lecture

Formation de bulles d'air catalase (+) : en faveur des *Staphylococaceae*, pas de formation de bulles d'air catalase (-) en faveur de *Streptococaceae* ou *Enterococaceae* (Annexe II, Figure 19).

5.1.1.2. Test d'agglutination rapide (Pastorex-Staph)

Principe

C'est un test d'agglutination rapide sur carte, permet la détection simultanée du facteur d'affinité pour le fibrinogène de la protéine A et polysaccharides capsulaires (Branger, 2007).

Technique

1 à 3 colonies sont émulsionnées avec 1 goutte du réactif latex pendant 10 secondes un témoin négatif est utilisé pour valider ce test.

Lecture

La présence d'agglutination est en faveur d'un *Staphylococcus aureus*, l'absence d'agglutination est en faveur d'un autre Staphylocoque (Annexe II, Figure 20).

5.1.1.3. Test de coagulase libre

Principe

La production de la coagulase libre par *Staphylococcus aureus*, provoque une coagulation avec le plasma de lapin qui se traduit par la formation d'un culot de coagulation (Branger, 2007).

Technique

Mettre 0.5ml de plasma de lapin dans un tube à essai stérile puis ajouter 0.5ml d'une suspension bactérienne à étudier, ensuite incuber à 37C° pendant 24 heures. Une première lecture se fait au bout de 2 heures.

Lecture

La prise en masse de 2/3 du mélange traduit une coagulation du plasma de lapin, cela confirme la présence de *Staphylococcus aureus* (Annexe II, Figure 21).

5.1.1.4. Test d'oxydase

Principe

Au cours de la respiration aérobie, l'accepteur final de la chaîne de transport d'électrons est une enzyme dite cytochrome oxydé, la mise en évidence de celle-ci ne peut se faire que si la bactérie à un cytochrome C (Lanotte et *al.*, 2010).

Technique

Déposer une goutte du réactif N-tétraméthylparaphénylène diamine sur un bout de papier buvard puis gratter une colonie bactérienne sur la goutte.

Lecture

L'observation est immédiate:

- Oxydase (+) : l'apparition d'une coloration bleu-violet est en faveur ex : d'un *Pseudomonas aeruginosa*.
- Oxydase(-) : pas de coloration ex : Entérobactéries ou *Acinetobacter spp* (Annexe II, Figure 22).

5.1.2. Galerie API 20E

Principe

API 20E est un système standardisé d'identification des Entérobactéries et certains BGN non fermentaires et non fastidieux tel que les *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp*, utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés. Ces galeries se présentent sous forme de produits desséchés que l'on réhydrate par inoculation de la suspension du germe à tester pour la mise en évidence d'enzymes ou de fermentation de sucres (Biomérieux, 2010).

Technique

- On réunit le fond et couvercle d'une galerie d'API avec la répartition d'environ 5ml d'eau distillé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, sans oublié d'inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- On prépare une suspension bactérienne trouble à partir de quelques colonies prélevées d'une culture jeune émulsionnées dans 5ml d'eau physiologique.

- Pour inoculer la galerie, il faut remplir à l'aide d'une pipette Pasteur les tubes et les cupules des tests CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne, et pour les autres tests ; on va remplir uniquement les tubes (et non les cupules) avec la création d'une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule par l'huile de vaseline stérile. Enfin, on incube à 37 pendant 18-24 heures.

Lecture

La lecture des galeries API 20E se fait après ajout de réactifs (kovaks VPI+VPII et TDA) et codification des réactions en un profil numérique en se référant à un catalogue analytique où l'identification est donnée avec un pourcentage et une appréciation (Annexe II, Figure 23, 24, 25, 26 et 27).

5.2. Identification automatisée par MicroScan® WalkAway 96 plus

Principe

Le MicroScan® WalkAway 96 plus permet une identification des espèces bactériennes permettant une optimisation du flux de travail avec le moins d'erreur. Il permet aussi d'étudier le profil de résistance ou sensibilité aux antibiotiques grâce à la mesure des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par micro-dilution, basée sur la croissance réelle dans chaque puits d'antibiotique suivant les normes recommandées par la CLSI (Clinical laboratory standards institute) (Benamrouche, 2014).

Technique

- Choisir le type de plaque adapté à l'identification de la bactérie suspectée (Annexe II, Tableau IX).
- Préparer une solution bactérienne à partir d'une colonie prise par un bâtonnet ajusteur de diamètre.
- Placer la solution à l'intérieur des puits de la plaque à l'aide d'un adaptateur.
- Introduire les informations de la fiche de renseignement dans le poste contrôle informatique et imprimer le code à barre.
- Coller le code à barre au milieu du bord de la plaque.
- Choisir un emplacement vide dans l'automate, positionner la plaque et verrouiller.

Lecture

Le résultat est obtenu après 24 heures par une impression automatique de rapports comprenant essentiellement l'espèce identifiée et son profil de résistance ou de sensibilité aux antibiotiques testés.

6. Antibiogramme

Pour l'étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques, nous avons utilisé la technique de diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du CLSI (Benslimani et Benamrouche, 2014).

Préparation de l'inoculum bactérien

- A partir d'une culture pure de 18 à 24h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger les colonies dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5MF ce qui correspond à 2.10^8 UFC /ml, un densitomètre est utilisé pour vérifier l'inoculum bactérien.

Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et l'essorer en le pressant fermement (en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de le décharger.
- 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.

Application des disques d'antibiotiques

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90mm. Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile et ne pas déplacer les disques après application. La durée d'incubation diffère d'une bactérie à une autre, elle varie de 18 à 24h à 35C°.

Contrôle qualité

Afin de valider le travail pour chaque espèce bactérienne testée un contrôle qualité est réalisé dans les mêmes conditions grâce à des souches de références : *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 selon les normes de la CLSI.

Lecture

Nous avons mesuré les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques en millimètre à l'aide d'un pied à coulisse, l'interprétation des trois catégories : S= sensible, R= résistant et I= intermédiaire, a été réalisé en se référant aux normes du CLSI (Benslimani et Benamrouche, 2014) (Annexes II, Tableaux X, XI, XII et XIII).

7. Tests complémentaires

Pour certains antibiotiques ou familles d'antibiotiques, l'antibiogramme standard n'est pas suffisant, des tests complémentaires doivent être pratiqués avant une interprétation définitive (Ammari et Ouar-Korichi, 2014).

7.1. Recherche de la résistance de *Staphylococcus aureus* à l'oxacilline

Principe

Pour le genre *Staphylococcus* seul le disque de céfoxitine (30µg) doit être testé dans l'antibiogramme standard pour la détection de la résistance à l'oxacilline par production de PLP2a (gène *mecA*), les disques d'oxacilline n'étant pas fiables selon le CLSI.

Technique

Déposer un disque de céfoxitine (30µg) dans les conditions de l'antibiogramme standard, puis incubé à 33-35C° pendant 16 à 18h. Un contrôle de qualité est utilisé pour valider les résultats grâce à des souches *S. aureus* ATCC 43300 *mecA* (+) (diamètre d'inhibition FOX= \leq 21mm) et *S. aureus* ATCC 25923 *mecA* (-) (diamètre d'inhibition FOX : 23-29mm)

Lecture

La lecture ce fait après mesure des diamètres d'inhibition représenté comme suit : le diamètre d'inhibition est \geq 22mm, c'est une souche (OXA S), et \leq 21mm est une souche (OXA R), Les souches de *S. aureus* résistantes à l'oxacilline doivent être rendues comme résistantes autres bêta-lactamines (Figure 28)

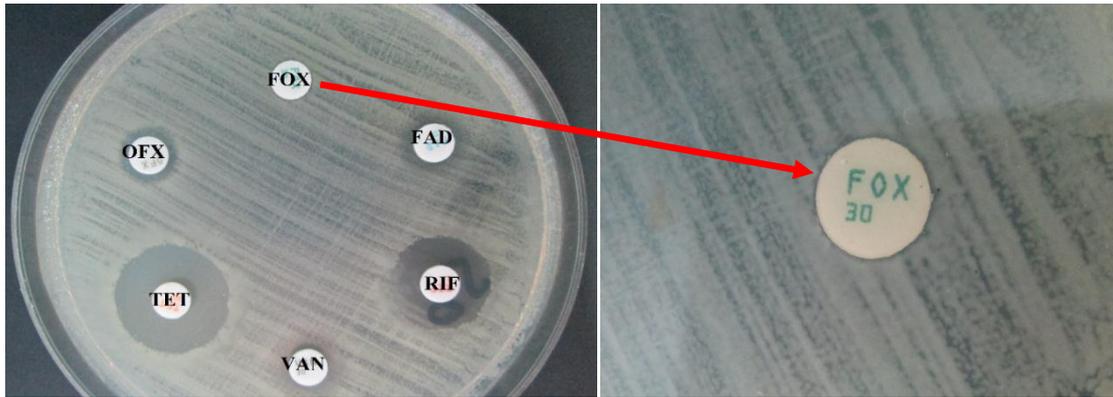


Figure 28 : Recherche de la résistance à l'oxacilline chez *Staphylococcus aureus*

7.2. Recherche de la β -lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les Entérobactéries

Pseudomonas aeruginosa et *Acinetobacter baumannii*

La BLSE chez les Entérobactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* est recherchée devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes :

- CTX \leq 27mm
- CAZ \leq 22mm

7.2.1. Test de synergie

Principe

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A d'Ambler sont inhibées par l'inhibiteur de bêta-lactamases (acide clavulanique) (Ammari et Ouar-Korichi, 2014).

- **Entérobactéries**

Technique

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10 μ g) à 30mm centre à centre d'un disque de : CAZ, CTX et ATM de 30 μ g. Puis incubé 18h à 35°C.

Lecture

La production des enzymes BLSE se traduit par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques AMC et CTX ou AMC et CAZ, présentée dans la figure 29 selon les recommandations de la CLSI.

En l'absence d'une image de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant une diminution du diamètre autour des disques de C3G.

Elle peut être due à une :

- Synthèse d'une BLSE de type CMT (Complexe Mutants TEM).
- Association de plusieurs mécanismes : BLSE + Céphalosporinase hyperproduite (Entérobactérie).

NB : La recherche de CMT se fera en rapprochant les disques CTX- AMC de 20mm et 25mm au lieu de 30mm.

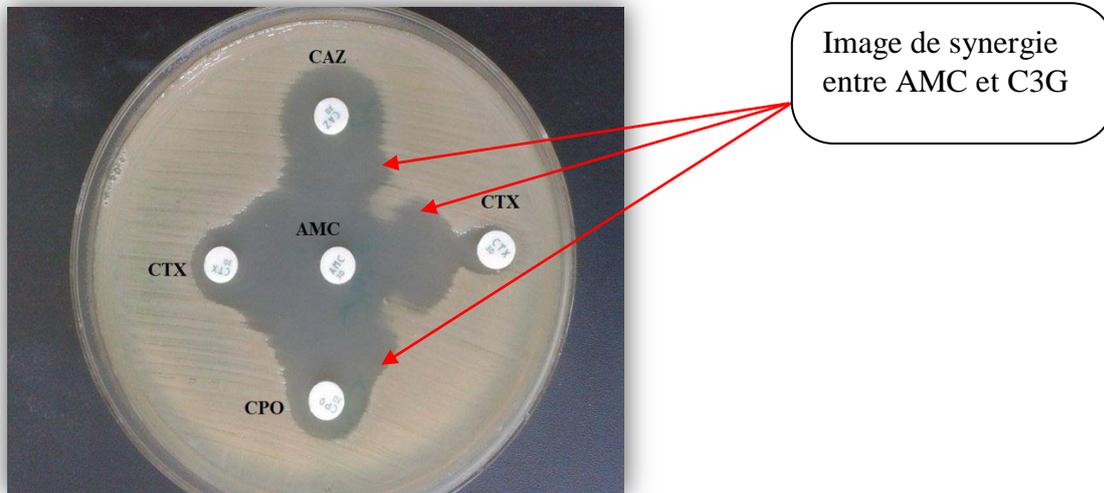


Figure 29 : *Klebsiella pneumoniae* productrice de β -lactamase à spectre étendue.

- *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*

La détection est plus difficile en raison de l'association avec d'autres mécanismes de résistance (hyperproduction de céphalosporinases).

Technique

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline + acide clavulanique (TCC 75/10 μ g) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G : céftazidime (30 μ g) et céfépime (30 μ g). L'incubation se fait pendant 18h à 35C°.

Lecture

Le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie entre les disques : TCC et CAZ TCC et FEP.

S'il y a absence de synergie on peut rechercher la BLSE par :

- Le rapprochement des disques TCC et CAZ (15 mm et 20 mm centre à centre) au lieu de 30mm.

- Faire la neutralisation de la céphalosporinase : si la souche est productrice d'une Céphalosporinase hyperproduite, par un test de synergie sur MH additionné de cloxaciline (500mg/l à 1000mg/l).

7.2.2. Test du double disque (test de confirmation)

Principe

Ce test doit être fait systématiquement devant l'absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G ou la présence d'une résistance aux molécules suivantes : ampicilline, ticarcilline, cefazoline avec un diamètre <6mm, par contre l'AMC présente un diamètre d'inhibition (Ammari et Ouar-Korichi, 2014).

Technique

Ce test se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme.

- Pour les Entérobactéries : déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CRO) a une distance de 30mm (Centre à centre).
- Pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* : déposer un disque de TCC avec un disque de C3G (CAZ) ou monobactame (ATM) a une distance de 25mm.
 - Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à température ambiante (sur la paillasse), la boîte déposée couvercle vers le haut.
 - Après 1 heure d'incubation, ôter le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de CTX (ou CAZ). Incuber la boîte 18 h à 35°C.

Lecture

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est ≥ 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G (Figure 30).

Exemple : diamètre de CTX = 16mm ; diamètre de CTX+AMC = 21mm donc souche BLSE(+).

Afin de valider les résultats les mêmes techniques ont été réalisées en parallèle pour les souches *E. coli* ATCC 25922 non productrice de BLSE et *K. pneumoniae* ATCC 700603 productrice de BLSE.

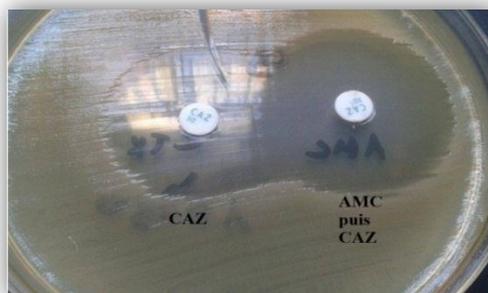


Figure 30: *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE (Test du double disque positif)

7.2.3. Test à la cloxacilline

Principe

Pour certaines souches de bacilles à Gram négatif il est parfois difficile de distinguer sur l'antibiogramme habituel les hypersécrétions de céphalosporinase (CHN) des BLSE. La cloxacilline, ajoutée au milieu pour l'antibiogramme (MH), inhibe in vivo les céphalosporinases et reste inefficace sur les pénicillinases des bacilles à Gram négatif (Ammari et Ouar-Korichi, 2014) (Tableau XIV).

Tableau XIV : Préparation des boîtes de cloxacilline

| | Entérobactéries groupe 1 et 2 | Entérobactéries groupe 3 <i>P. aeruginosa</i> <i>Acinetobacter spp</i> |
|-------------------------------------|------------------------------------|--|
| Concentration en cloxacilline | 0.5mg/ml (500mg/l) | 1mg/ml (1000mg/l) |
| Préparation de la solution de cloxa | 50mg de cloxa +10ml d'eau distillé | 100mg de cloxa+10ml d'eau distillé |
| Pour une boîte de 90mm | 2ml de solution+18ml de MH | 2ml de solution +18ml de MH |

Technique

L'antibiogramme est réalisé sur MH additionné de cloxacilline selon le tableau ci-dessus on dépose sur la surface gélosée ensemencée les disques d'antibiotiques de β - lactamines à tester pour chaque bactérie (Entérobactéries, *P. aeruginosa* et *Acinetobacter spp*) représentés en annexes II, tableaux X, XI, XII et XIII. Puis incubé 18h à 35C°.

NB : L'oxacilline peut être utilisée à la place de la cloxacilline.

Lecture

Le test à la cloxacilline est interprété en comparant l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de cloxacilline à celui réalisé sur MH sans cloxacilline. L'inhibition de la céphalosporinase entraîne soit :

- L'apparition des phénotypes sauvages de l'Entérobactérie, de *P. aeruginosa* ou d'*Acinetobacter spp.*
- L'apparition d'autres mécanismes de résistances acquises tels qu'une synthèse de BLSE, pénicillinase ou imperméabilité (Figure 31).

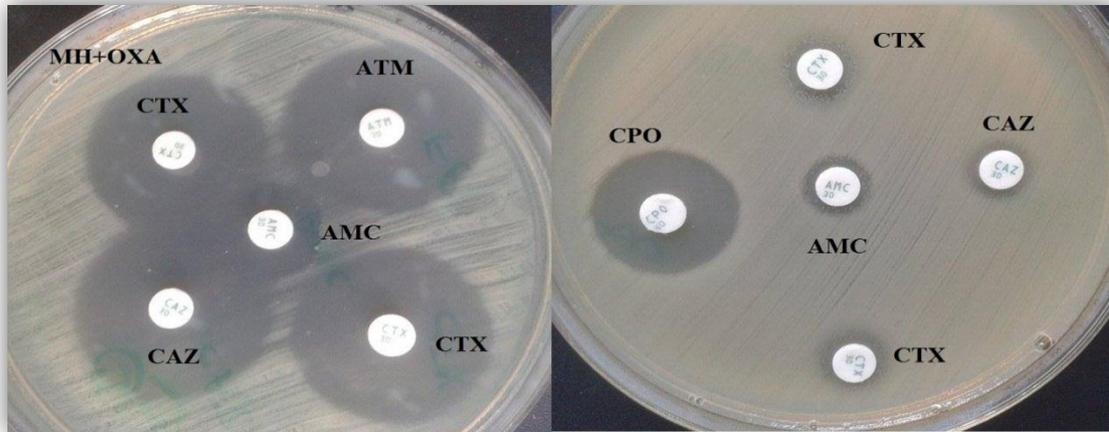


Figure 31: Test à la cloxacilline chez *E. cloacae* productrice de CHN

7.3. Recherche et approche phénotypique des carbapénèmes chez les Entérobactéries *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*

Une carbapénémase est suspectée si présence (Ammari et Ouar-Korichi, 2014) :

- Diamètre d'inhibition pour méropénème et imipénème ≤ 22 mm.
- Diamètre d'inhibition pour ertapénème ≤ 21 mm.
- Présence de colonies discrètes dans la zone d'inhibition des carbapénèmes (surtout ertapénème).
- CMI (E-test) pour les molécules méropénème et imipénème 2 μ g/ml.
- CMI (E-test) pour ertapénème 1 μ g/ml.
- Une résistance habituelle aux C3G (céftazidime, céfotaxime et ceftriaxone).

7.3.1. Test de synergie entre AMC-IMP

Principe

Les carbapénémases de la classe A d'Ambler sont inhibées par l'acide clavulanique. Une image de synergie est recherchée entre l'acide clavulanique et l'imipénème (Ammari et Ouar-Korichi, 2014).

Technique

Des disques AMC et IMP sont placés l'un à côté de l'autre sur une gélose MH écouvillonnée de la suspension de la souche à tester. Puis incubé 18h à 35°C.

Lecture

Un résultat positif se traduit par une image de synergie entre le disque d'IMP et celui de l'AMC. Cette image est rarement vue à cause de l'intrication de plusieurs mécanismes de résistance.

7.3.2. Test à l'EDTA

Principe

Ce test est fait pour mettre en évidence la production des carbapénèmases de la classe B d'Ambler inhibées par l'EDTA (Ammari et Ouar-Korichi, 2014).

Technique

Déposer 750µg d'EDTA (soit 4µg d'une solution d'EDTA à 0.5MF, pH : 8) sur un disque d'imipénème et comparer le diamètre obtenu avec celui d'un disque d'imipénème seul.

Lecture

Un résultat positif se traduit par une augmentation du diamètre du disque IMP + EDTA par rapport l'IMP seul (Figure 32).

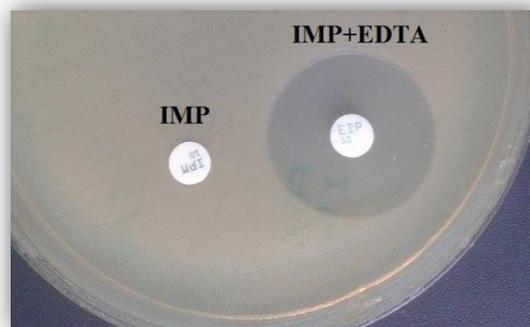


Figure 32 : *Acinetobacter baumannii* productrice de carbapénémase de classe B

7.3.3. Test de Hodge modifié

Principe

Ce test est sensible et spécifique à 100% pour détecter la production des carbapénèmases de classe B d'Ambler (Ammari et Ouar-Korichi, 2014).

Technique

Préparer une suspension bactérienne d'*E. coli* ATCC 25922 à 0.5MF dans 5ml d'eau physiologique.

- Diluer cet inoculum au $1/10^{\text{ème}}$ (0,5ml de la suspension de 0,5MF + 4,5ml d'eau physiologique).
- Ensemencer une gélose MH par écouvillonnage, laisser sécher 3 à 5 mn.
- Déposer au centre un disque d'ertapénème 10 μ g.
- A partir du disque, faire une inoculation en trait avec la souche à tester et avec deux souches de référence (*K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 : carbapénémase positive, et *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 : carbapénémase négative). Incuber à 35°C pendant 16h à 24h.

Lecture

- Le test de Hodge modifié est positif quand *E. coli* ATCC 25922 au contact d'une souche productrice de carbapénémase, va pénétrer et croître dans le diamètre d'inhibition en donnant un aspect d'invagination de la culture (Figure 33).
- Le test de Hodge modifié est négatif quand il n'y a aucune modification du diamètre d'inhibition d'*E. coli* ATCC 25922 au contact des souches à étudier.

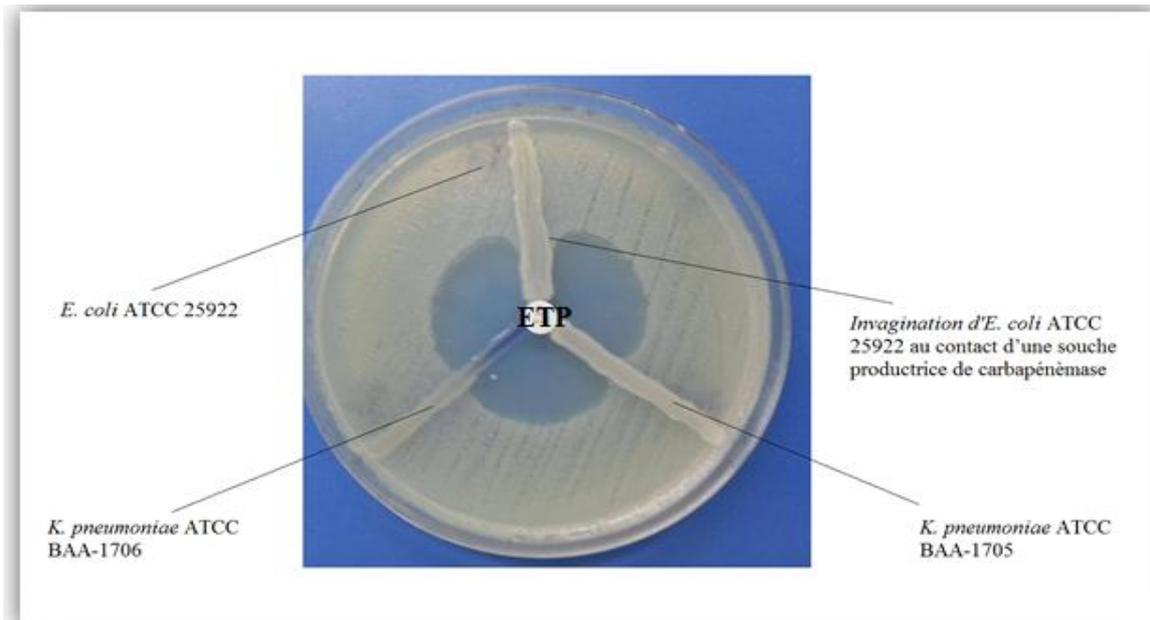


Figure 33 : Test de Hodge modifié positif

I. Résultats

1. Hémoculture

Sur les 868 séries d'hémocultures étudiées durant notre étude prospective, l'analyse bactériologique est revenue négative dans 78% des cas (n=677), et positive dans 22% (n=191) des cas (Figure 34a). Sur l'ensemble des isolats, 50 étaient des bactéries multirésistantes soit 26,2% de bactériémies à BMR (Figure 34b).

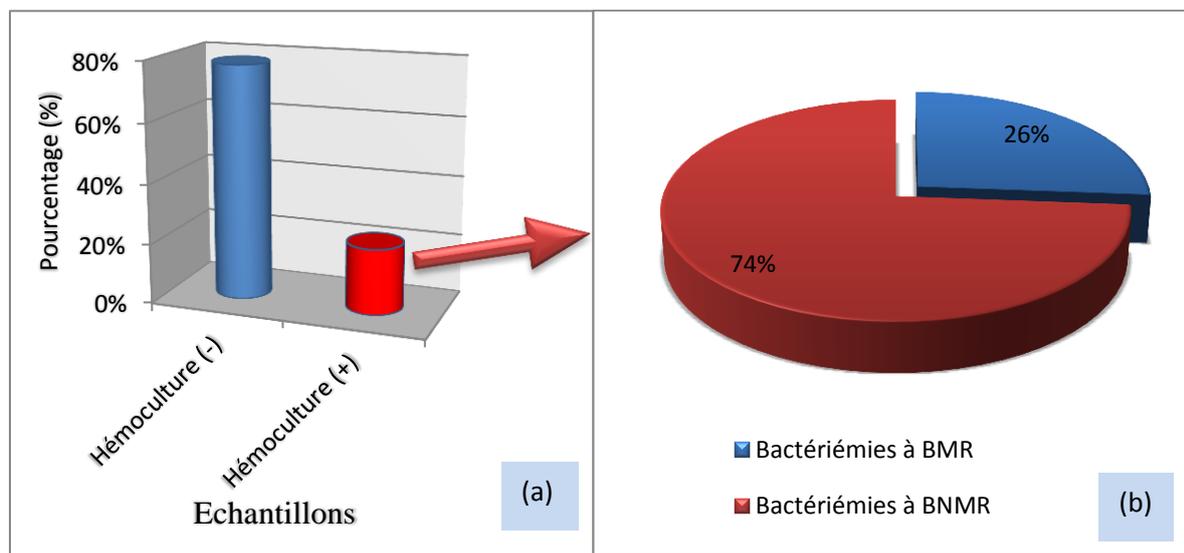


Figure 34 : (a) Fréquence des hémocultures positive et négative, (b) Fréquence des bactériémies à bactéries multirésistantes (BMR)

Nous avons noté 98% de culture mono-microbienne, et un seul cas de culture polymicrobienne (hémoculture positive à deux bactéries : *A. baumannii* et *K. pneumoniae*) estimé à 2% chez un patient hospitalisé en réanimation présentant un état d'immunodépression grave.

2. Répartition des résultats après examen bactériologique

2.1. Répartition des bactéries multirésistantes par espèce

Au cours de notre étude, les 50 BMR comptabilisées sont représentées essentiellement par les ERC3G avec une prévalence de 52%, suivi par *Acinetobacter baumannii* et *Staphylococcus aureus* avec des taux de 26% et 20% respectivement (Figure 35). Une faible prévalence de 2% a été enregistrée pour le *Pseudomonas aeruginosa*.

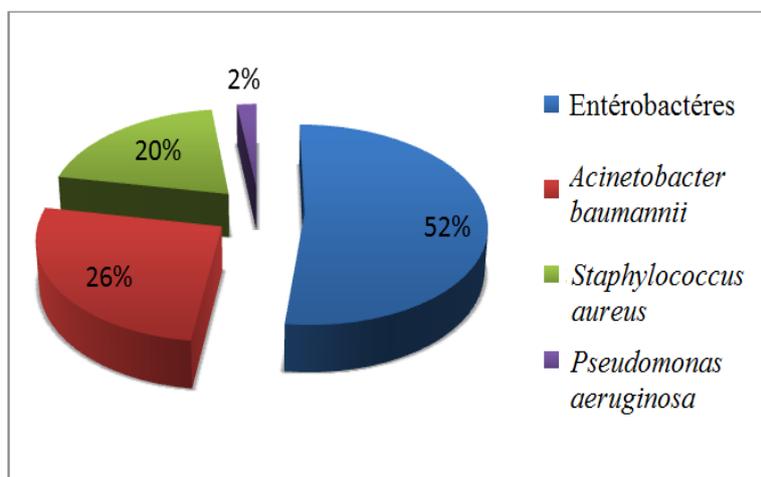


Figure 35 : Répartition des BMR

La répartition des BMR isolées par espèces met en avant la *Klebsiella pneumoniae* comme principale pathogène isolée avec une fréquence de 44%, suivi par l'*Acinetobacter baumannii* et le *Staphylococcus aureus* (Tableau XV).

Tableau XV : Répartition des BMR isolées par espèce

| | Espèces | Nombre | Taux |
|-------|----------------------|--------|------|
| ERC3G | <i>K. pneumoniae</i> | 22 | 44% |
| | <i>E. cloacae</i> | 2 | 4% |
| | <i>E. coli</i> | 2 | 4% |
| | <i>A.baumannii</i> | 13 | 26% |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 20% |
| | <i>P. aeruginosa</i> | 1 | 2% |

2.2. Répartition des bactéries multirésistantes par services

La néonatalogie, la réanimation et la pédiatrie sont les trois principaux services pourvoyeurs de BMR, 84% des BMR isolées provenaient de ces services. Les 16% restant se répartissent sur les services de néphrologie, dermatologie, chirurgies et cardiologie (Figure 36).

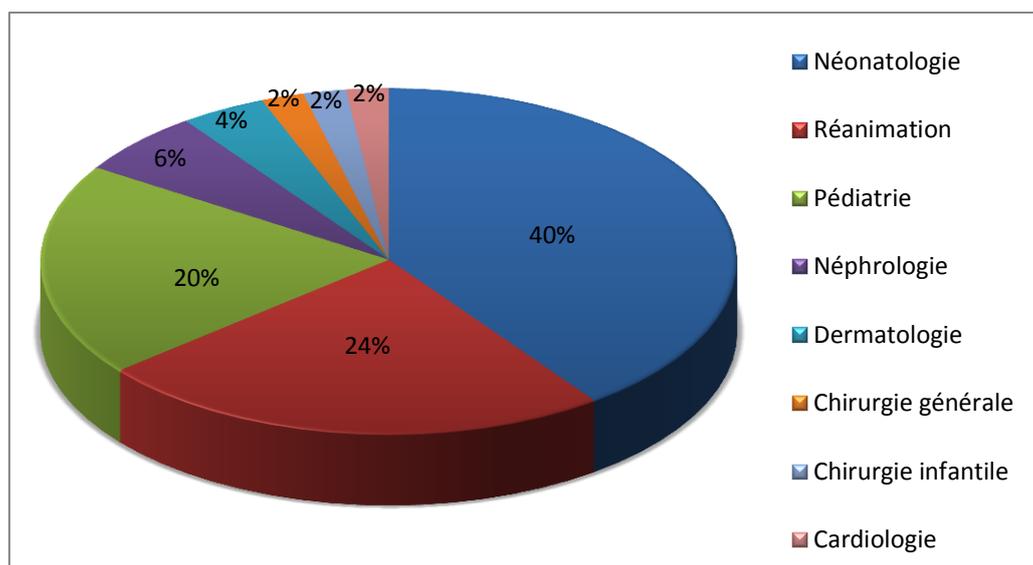


Figure 36 : Répartition des BMR isolées par service

La répartition des souches isolées par service (tableau XVI) montre qu'en néonatalogie, nous avons enregistré une épidémie à *K. pneumoniae* et *A. baumannii* représenté par 11 et 8 souches respectivement. En réanimation, nous avons répertorié 3 souches de *K. pneumoniae* et *A. baumannii* chaque une, avec une émergence de 6 souches de *S. aureus*. La présence de *S. aureus* en dermatologie peut être expliquée par la porte d'entrée des bactéries souvent cutanées, par contre le seul cas en cardiologie représente une endocardite infectieuse. En pédiatrie, les 6 souches de *K. pneumoniae* isolées non pas présentées une notion d'épidémie car elles ont été espacées dans le temps.

Tableau XVI : Répartition des BMR par espèces et par services

| Espèces | | Services médicaux | | | | | Services chirurgicaux | | Service réanimation |
|---------|----------------------|-------------------|----|----|----|----|-----------------------|----|---------------------|
| | | NN | PD | NP | DM | CD | CG | CI | |
| ERC3G | <i>K. pneumoniae</i> | 11 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 |
| | <i>E. coli</i> | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>E. cloacae</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | <i>A. baumannii</i> | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | <i>P. aeruginosa</i> | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>S. aureus</i> | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 6 |
| Totale | | 20 | 10 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 12 |

NN (néonatalogie) ; PD (pédiatrie) ; NP (néphrologie) ; DM (dermatologie) ; CD (cardiologie) ; CG (chirurgie générale) ; CI (chirurgie infantile).

2.3. Evolution du taux des bactéries multirésistantes par mois

L'évolution des BMR durant les 4 mois d'étude, nous a permis d'enregistrer 2 pics importants en mois de février pour *K. pneumoniae* (24%) et en mois de mars pour *A. baumannii* (16%) au niveau du service de la néonatalogie sous forme de bouffés épidémiques (Figure 37). Une diminution significative des BMR a été observée durant le mois d'Avril, ceci est probablement dû à l'application des mesures d'hygiène recommandées par le laboratoire de microbiologie qui a signalé ces cas. Cependant, l'évolution du reste BMR est variable.

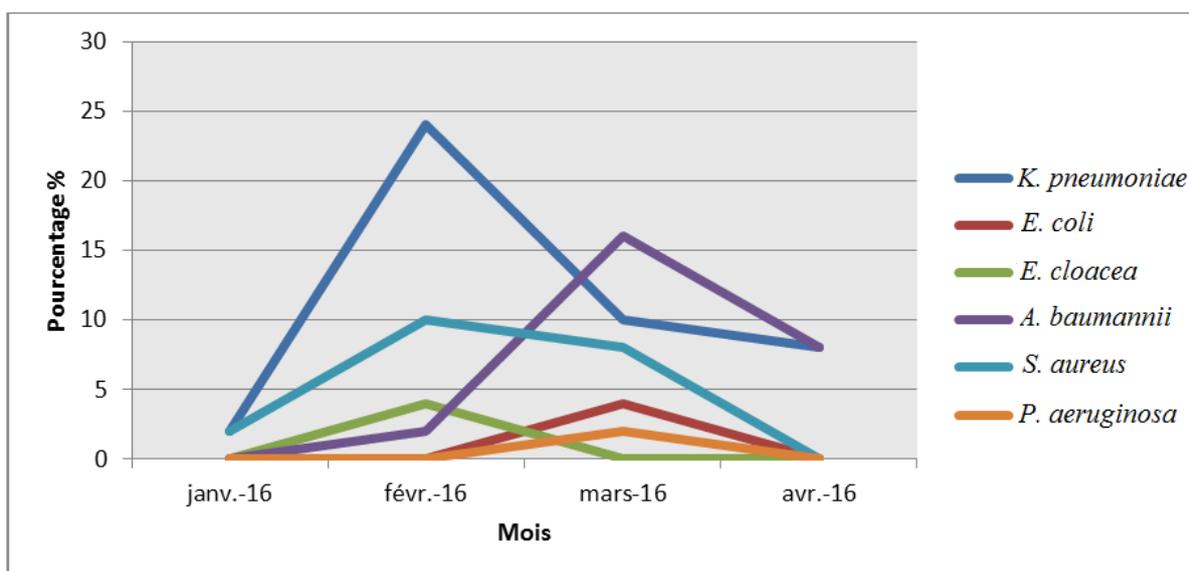


Figure 37 : Evolution du taux de BMR isolées d'hémoculture au CHUMB au cours de 4 mois

3. Répartition des BMR selon les caractéristiques démographiques

3.1. Répartition des bactéries multirésistantes selon le sexe

Les cas de bactériémies à BMR enregistrés durant notre étude sont essentiellement rapportés chez des femmes avec un taux de 61% (Figure 38).

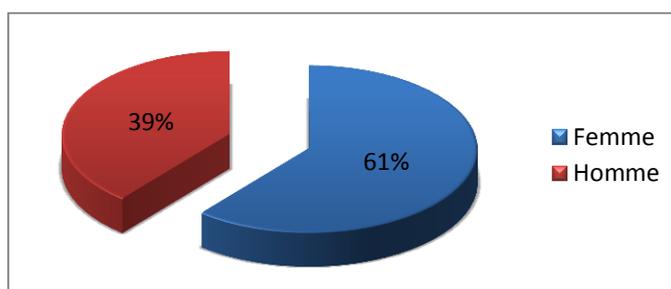


Figure 38 : Répartition des BMR par sexe

3.2. Répartition des bactéries multirésistantes par âge

Le taux d'isolement des BMR le plus élevé a été observé chez la catégorie d'âge de 1J-15ans avec un pourcentage de 65.3% expliqué par le pourcentage élevé des nouveau nés suite aux deux épidémies signalées en néonatalogie, suivie de la tranche d'âge comprise entre 31-45ans avec un taux de 14.3%, 16-30ans (8.2%) et 61-75ans (6.1%), les tranches d'âge les moins atteintes par les BMR sont celles de 76-90ans et 46-60ans avec un taux de 4.1% et 2% respectivement (Figure 39).

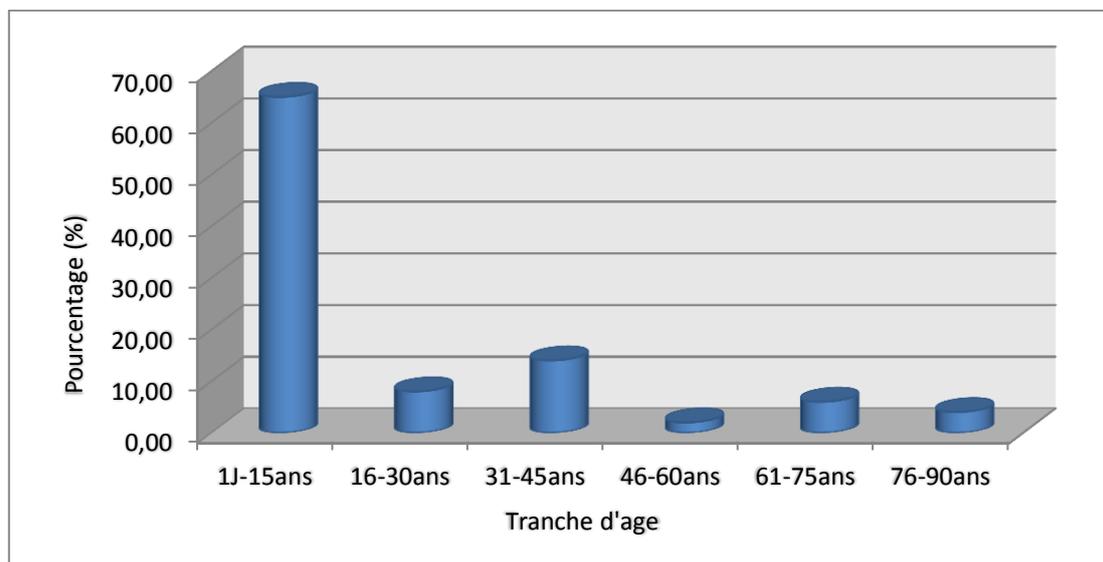


Figure 39: Répartition des BMR par tranche âge

4. Antibiothérapie préalable

La figure 40a montre que 87.5% des BMR sont isolées chez des patients sous antibiothérapie préalable au prélèvement de sang contre 12.5% de patients sans antibiothérapie préalable. Le céfotaxime (CTX), l'imipénème (IMP) et la gentamicine (GMN) sont les trois antibiotiques les plus utilisés (Figure 40b).

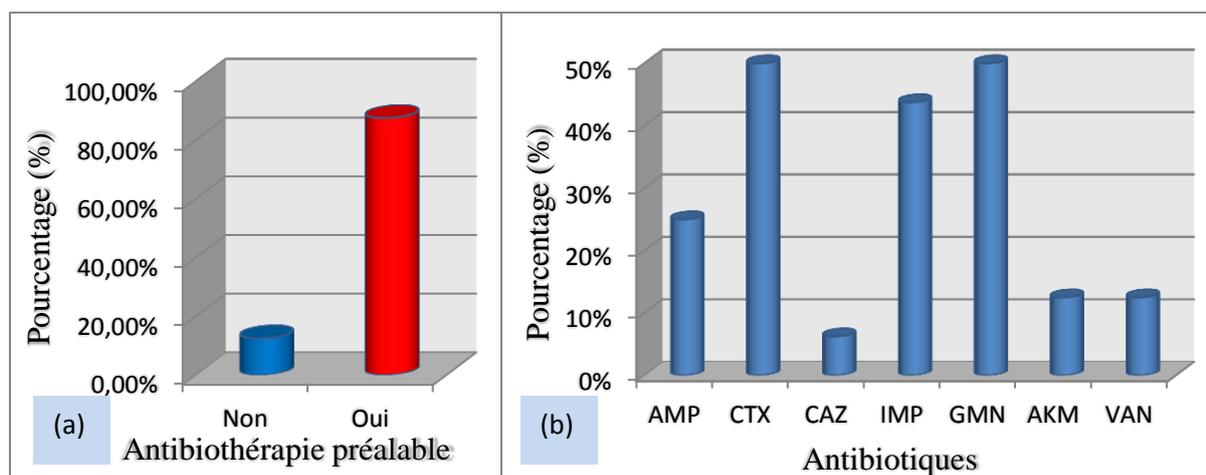


Figure 40 : (a) Taux d'antibiothérapie préalable, (b) Nature d'antibiotiques utilisés

La figure 41 montre que 56.3% des patients ont été sous une bithérapie, à base de bêta-lactamine (imipénème ou céfotaxime) et aminoside (gentamicine et amikacine). 25% de patients ont été sous trithérapie à base de bêta-lactamine (ampicilline, C3G ou imipenème) avec un aminoside et vancomycine au niveau de service de néonatalogie et 18.7% des patients ont été sous monothérapie à base de céfotaxime.

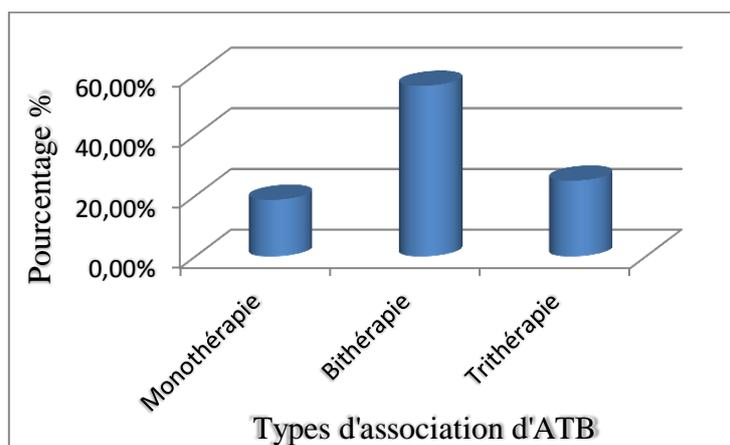


Figure 41 : Association d'antibiotiques

5. Profil de résistance des bactéries multirésistantes aux antibiotiques

5.1. Étude de la résistance des SARM aux antibiotiques

La figure 42 montre que 50% des bactériémies à *S. aureus* sont dues à des SARM et le reste sont des *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline (SASM).

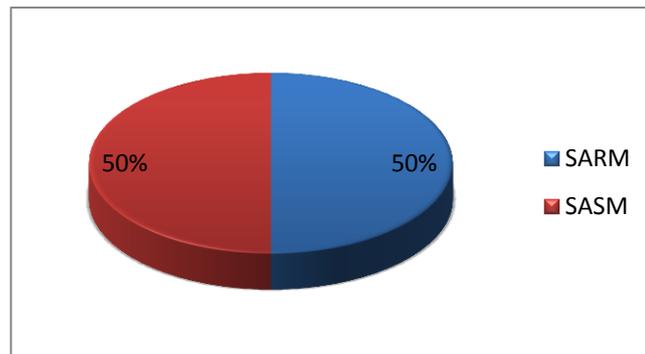


Figure 42 : Fréquence des bactériemies à SARM

Les 10 souches de SARM isolées ont présentées des résistances associées aux autres antibiotiques notamment la gentamicine (GMN) à 90%, la kanamicine (KMN) 80%, l'ofloxacine (OFX) 60% et 100 % de résistance à tétracycline (TET). Mais elles ont toutes sensibles à la vancomycine (VAN) (Figure 43).

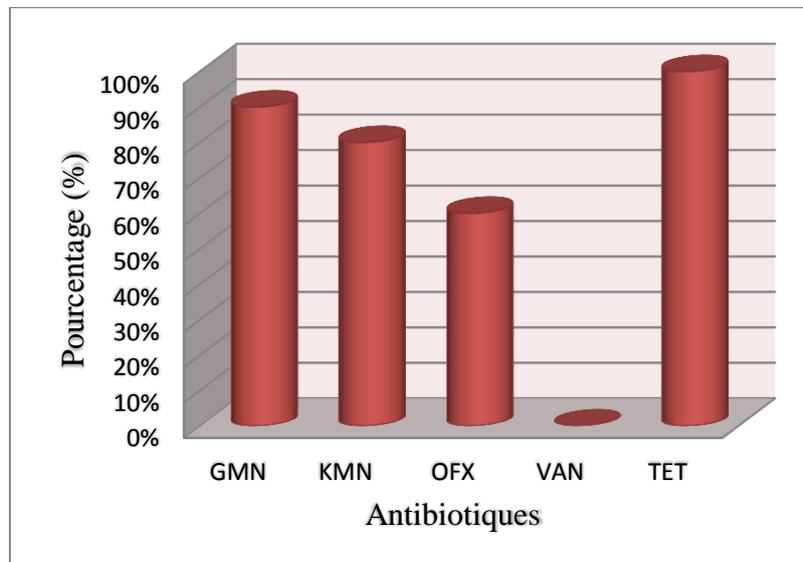


Figure 43 : Profil de la résistance des souches de SARM aux antibiotiques

5.2. Étude de la résistance des ERC3G aux antibiotiques

Les Entérobactéries responsables de bactériemies sont dans 77% des cas résistantes aux C3G (Figure 44).

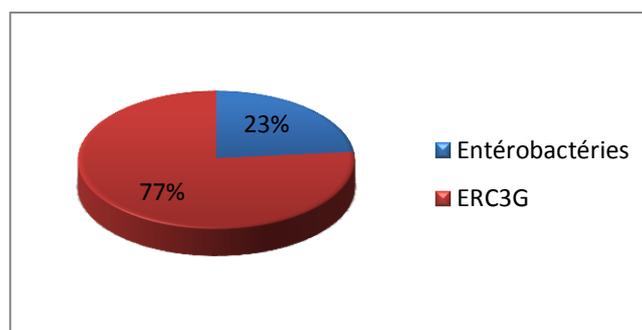


Figure 44 : Fréquence des bactériémies à ERC3G

Le test de synergie à révéler que 88,5% (n=23) d'Entérobactéries résistantes aux C3G productrices de BLSE et 11,5% (n=3) productrices de céphalosporinase à haut niveau (CHN) révélées par synergie sur MH + oxacilline, aucune souche n'a associé les deux mécanismes de résistance aux C3G (Figure 45).

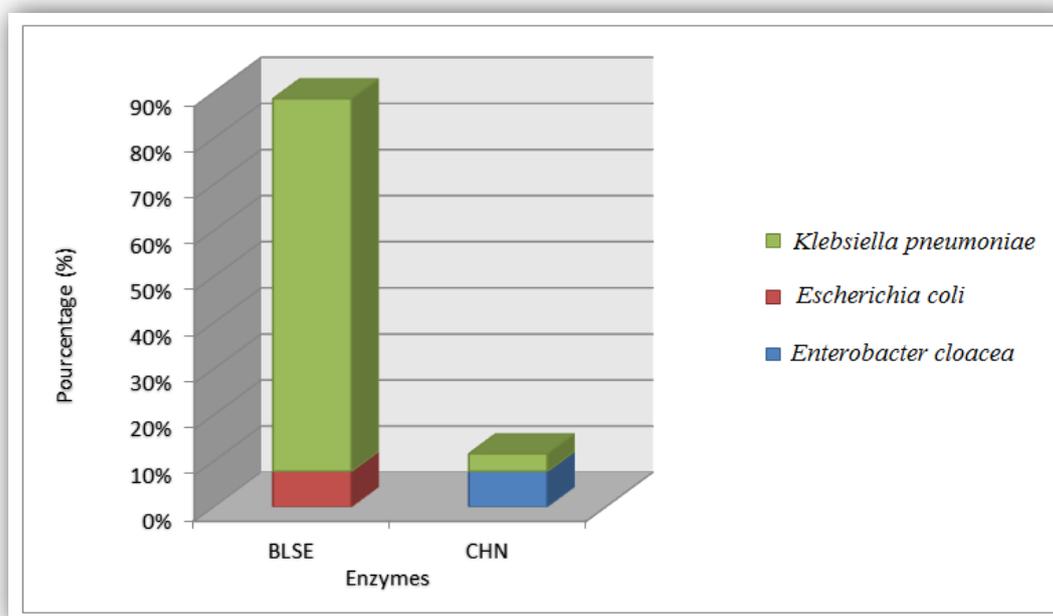


Figure 45 : Mécanisme de résistance des Entérobactéries aux C3G

L'analyse du profil de la résistance des ERC3G aux antibiotique (Figure 46) a montré que le taux de résistance est de 45,5% à l'association amoxicilline et acide clavulanique (AMC), pour ce qui de la résistance aux aminosides est représentée par 92,4% à la gentamicine (GMN) et 9,1% à l'amikacine (AKM), 89,4% résistantes à la ciprofloxacine (CIP) et toutes les souches sont résistantes au cotrimoxazole (SXT).

Nous avons noté une souche d'Entérobactérie (1.5%) résistante à l'imipénème (IMP). L'augmentation de la prescription de cet antibiotique à large spectre a entraîné l'apparition de bactéries de plus en plus résistantes.

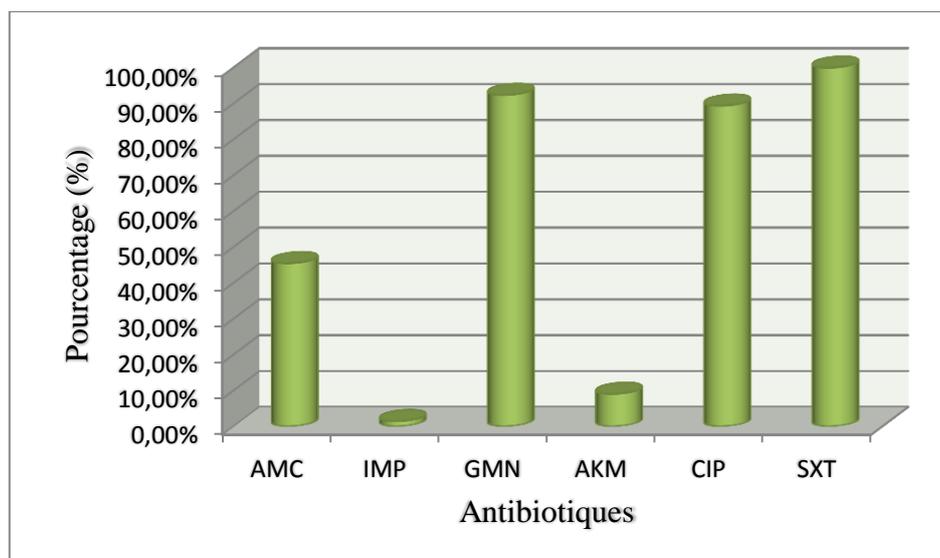


Figure 46 : Profil de la résistance des ERC3G aux antibiotiques

5.2.1. *Klebsiella pneumoniae*

Les résultats obtenus sur le profil de la résistance des *K. pneumoniae* ont montré un taux de résistance de 36.4% pour l'association amoxiciline et acide clavulanique (AMC), la résistance aux aminosides est représentée par 77.3% à la gentamicine (GMN) et 27.3% à l'amikacine (AKM), 68.2% à la ciprofloxacine (CIP) et la totalité des souches de *K. pneumoniae* ont été résistantes au cotrimoxazole (SXT) (Figure 47).

Cependant nous avons noté une souche de *K. pneumoniae* résistante à l'imipénème (IMP) avec un taux de 4.5%.

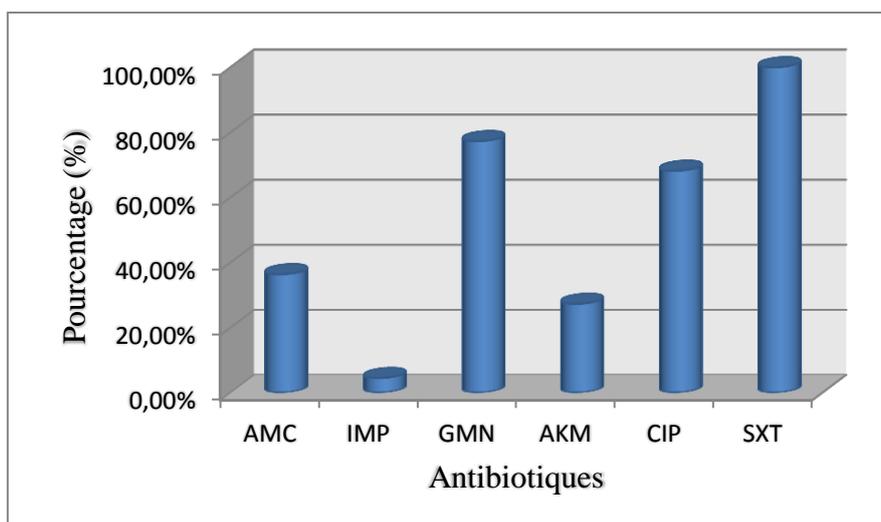


Figure 47 : Profil de la résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques

5.2.2. *Enterobacter cloacae*

Les deux souches d'*E. cloacae* isolées productrices de CHN ont été résistantes à l'association amoxicilline et acide clavulanique (AMC) (résistance naturelle), gentamicine (GMN), ciprofloxacine (CIP) et cotrimoxazole (SXT), mais sensibles à l'amikacine (AKM) et l'imipénème (IMP).

5.2.3. *Escherichia coli*

Les deux souches d'*E. coli* isolées productrices de BLSE sont sensibles à l'association de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique (AMC) et à l'amikacine (AKM), mais résistantes à la gentamicine (GMN), ciprofloxacine (CIP) et cotrimoxazole (SXT).

L'imipénème (IMP) reste l'antibiotique le plus active sur les Entérobactéries.

5.3. Étude de la résistance des ABRC/ABRI aux antibiotiques

La figure 48 montre que 81% des souches d'*A. baumannii* responsables de bactériémies sont résistantes à la céftazidime et/ou l'imipénème.

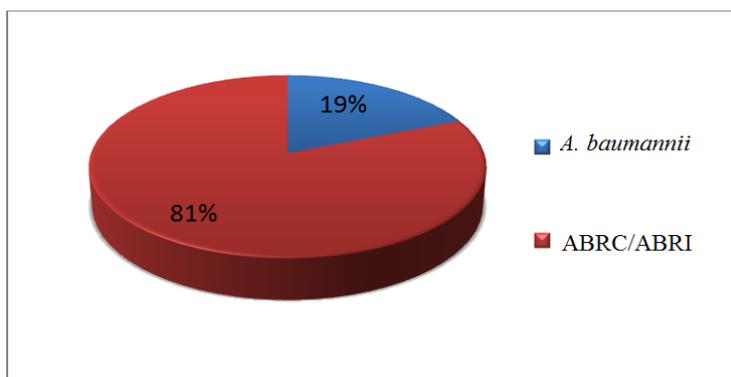


Figure 48 : Fréquence des bactériémies à *A. baumannii* résistant à la CAZ et/ou IMP

L'étude de la résistance d'*A. baumannii* aux antibiotiques a montré que la totalité des souches d'*Acinetobacter baumannii* sont résistantes à la céftazidime (CAZ), l'association ticarcilline et acide clavulanique (TCC) et l'imipénème (IMP) (Figure 49). Cependant, pour les aminosides nous avons noté une résistance totale à la gentamycine (GMN) à l'exception de l'amikacine (AKM) (69.2%), la ciprofloxacine (CIP) et le cotrimoxazole (SXT) ont enregistré des résistances de 69%.

Les 13 souches d'*A. baumannii*, ont eu un test de Hodge positif et une restauration des diamètres des disques IMP + EDTA révélant ainsi la présence d'une carbapénémase de classe B.

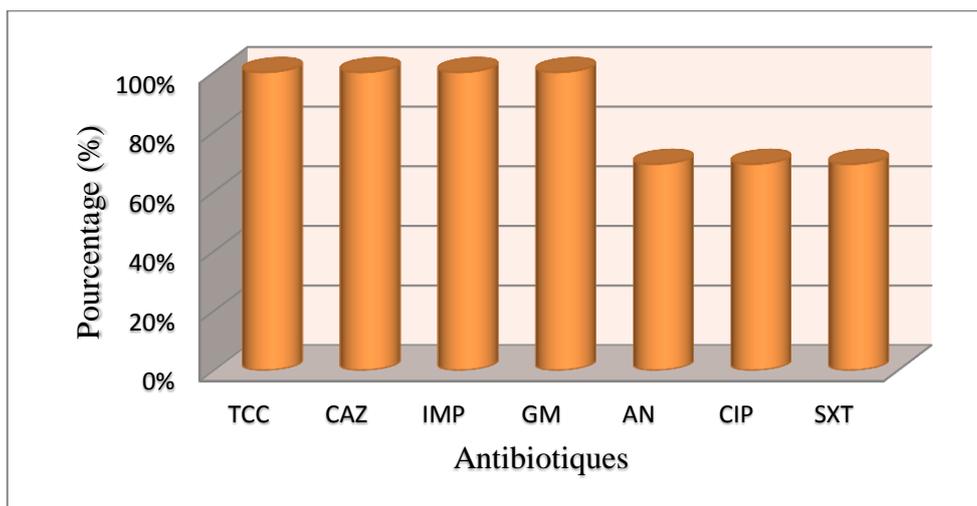


Figure 49 : Profil de la résistance des souches ABRC/ABRI vis-à-vis des antibiotiques

5.4. Étude de la résistance des PARC/PARI aux antibiotiques

La figure 50 montre que 20% des souches de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de bactériémies sont résistantes à la céftazidime et/ou l'imipénème.

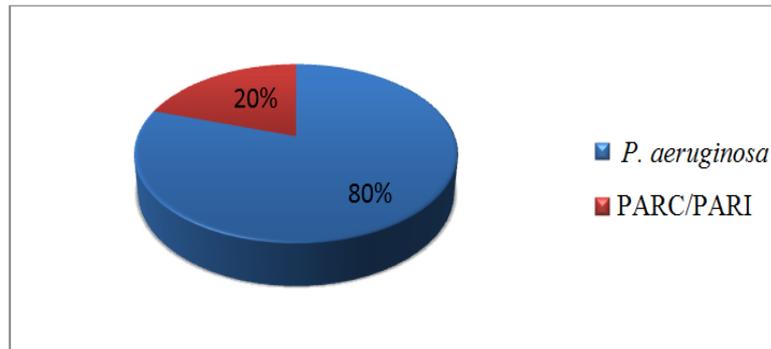


Figure 50 : Fréquence des bactériémies à PARC/PARI

La seule souche de *P. aeruginosa* isolée durant notre étude est productrice de CHN révélée par un test de synergie sur MH + oxacilline et d'une carbapénémase de classe B détectée par un test d'Hodge et inhibée par l'EDTA avec restauration diamètre du disque IMP+EDTA. Cette souche est sensible à la ciprofloxacine (CIP) et cotrimoxazole (SXT).

II. Discussion générale

Au cours de notre étude nous avons recensé 50 bactéries multirésistantes isolées des hémocultures soit un taux de 26.2%. Des taux voisins estimés à 31.43% sont rapportés par Benslimani et Benamrouche en 2014 dans le bilan de la surveillance de la résistance des bactéries en Algérie.

Un seul cas de bactériémie poly-microbienne estimé à 2% a été rapporté dans notre étude chez un patient hospitalisé en réanimation, présentant une immunodépression grave. Alors que les BMR sont de nature mono-microbienne (Denis et Garnier, 2010). Selon Labid (2015) ce phénomène peut surgir avec la baisse des défenses immunitaire, observé surtout en cas de cathéters longtemps maintenus. Des taux de 14% sont rapportés par l'étude de Pittet et Wenzel (1995) à Genève et de 15.3% par Saidani et *al.* (2006) en Tunisie. Le faible pourcentage que nous avons enregistré peut être dû à notre faible effectif (n=50).

Selon Hamza et *al.* (2008), Les BMR sont les plus isolées de bactériémie, en effet nous avons noté que 50% des bactériémies à *Staphylococcus aureus* sont due aux SARM, 77% des Entérobactéries sont des ERC3G, et 81 % et 20% causées par des bacilles à Gram négatif sont provoquées par l'*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* résistants à la CAZ et l'IMP. Ce sont en fait les principales espèces qui ont fait l'objet de notre étude. Leur prévalence ne cesse d'augmenter ces dernières années entraînant une augmentation de la mortalité d'où la nécessité de la surveillance épidémiologique périodique et de la mise en place des mesures prophylactiques (Zegmout, 2008).

Notre étude au cours des 4 mois Janvier-Avril 2015, a montré une évolution variable des BMR d'une période à une autre suite à des facteurs d'hygiène hospitalière en premier lieu, c'est le cas en néonatalogie où nous avons enregistré une épidémie à *K. pneumoniae* productrice de BLSE en mois de février estimée à 44%. D'après Avril et *al.* (2000) et Joly et Reyaud (2002) c'est la principale espèce responsable d'infection hospitalière en cause d'épidémie. D'autres études ont confirmé sa prépondérance notamment celle de Lahlaoui et *al.* (2012) en Tunisie qui a révélé un taux de 78.6%, contrairement à ceux rapportées par Touati et *al.* (2006) à Bejaia qui ne représentait que 5,8%.

Nous avons noté une autre épidémie à *Acinetobacter baumannii* résistante à la CAZ et l'IMP en mois de mars, les nouveau-nés sont les plus touchés, ils sont de ce fait la population la plus à risque de bactériémies à BMR ; selon Hamza et *al.* (2008) les principaux facteurs de risque

dans l'acquisition d'une bactériémie en néonatalogie sont le cathéter vasculaire périphérique, la malnutrition, immunodépression, ventilation mécanique et l'antibiothérapie.

Six cas de bactériémies à SARM que nous avons enregistré proviennent de la réanimation. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus en Inde au début des années 90, une émergence des bactéries à Gram positif dominées par les SARM en réanimation, a été secondaire aux invasifs utilisés dans le traitement des patients, l'intubation répétée (cathéters vasculaires, artériel, veineux ou centraux et sonde), la ventilation, ainsi que la baisse des défenses immunitaire liée à la pathologie sous-jacente (Kane-Diop, 2001).

Au niveau de la pédiatrie nous avons répertorié l'*A. baumannii* et *K. pneumoniae* avec de fortes prévalences par rapport aux autres BMR, selon l'étude de Mkaouar et al. (2008) ces deux espèces sont de 10,5% en ce service. L'espèce *E. coli* a fait une apparition exceptionnelle en néphrologie, ceci peut-être lié à la fréquence des infections urinaires suite à l'utilisation des sondes (Lemort et al., 2006), à cela s'ajoutent des facteurs spécifiques d'uropathogénicité. Ainsi, *E. coli* possède des adhésines, capables de la lier à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales (Sekhsokh et al., 2008).

Dans notre étude les autres services de dermatologie, cardiologie et de chirurgie sont moins à risque de bactériémies à BMR, comparé à d'autres études au Maroc : Maigua (2015) a signalé 16% de BMR en chirurgie et Benchekroun et al. (2015) a noté 2.17% en dermatologie et 4.34% en cardiologie. Au terme de cette étude, nous pensons que la rationalisation de la prescription des antibiotiques, est souhaitable dans les services les plus à risques notamment la néonatalogie, réanimation et la pédiatrie.

Notre étude a montré une prédominance des bactériémies à BMR chez les femmes avec taux de 61%. Contrairement à l'étude réalisée par Dali (2015) qui a enregistré un taux de 81% chez les hommes. Cependant parmi les facteurs liés au patient, le sexe n'apparaît pas comme un facteur de risque d'acquisition d'une bactériémie à BMR.

Les rendus de notre étude ont montré la prescription d'une bithérapie à 56% pour la majorité des bactériémies à BMR et la monothérapie à un faible pourcentage 18% par rapport à la trithérapie 25%. Ce qui ne correspond pas aux résultats du CNHIM sur les traitements d'éradication des infections à BMR en 2001 qui a rapporté que les trithérapies sont plus éradicatrices que les bithérapies et monothérapies.

Le principal mécanisme de résistance des Entérobactéries aux ATB est la production d'une BLSE (21 *K. pneumoniae* et 2 *E. coli* avec un taux de 88.5%). Tandis que, nous avons noté 3 souches d'Entérobactéries hyperproductrices de céphalosporinase dont 1 *K. pneumoniae* et 2 *E. cloacae* (11.5%), ce qui adhère aux résultats de Bouzekraoui et *al.* (2015) au Maroc confirmant que le principal mécanisme de résistance des Entérobactéries aux bêta-lactamines est dû à la production d'une BLSE.

Hormis pour la résistance aux β -lactamines, nous avons noté une résistance de 89.4% à la ciprofloxacine. Alors que plusieurs auteurs ont rapporté des taux de résistance variables à cette molécule : 55% de souches ERC3G sont résistantes à la ciprofloxacine dans l'étude rapportée par Eisner et *al.* (2006) en Australie, et 80% par Goossens et Grabein (2005). La résistance aux aminosides observée dans notre étude est de 92.40% pour la gentamicine et 9.10% pour l'amikacine ce qui diffère avec ce qu'a rapporté Medboua (2011) 75% de résistance à la gentamicine et 33.33% à l'amikacine. Nous avons noté 100% de résistance au cotrimoxazole, comparé à 57% rapporté par Touati et *al.* (2006).

Les carbapénèmes sont des antibiotiques à large spectre préconisés dans le traitement des infections à Entérobactéries productrices de BLSE. Nos résultats ont montré que la résistance des ERC3G à l'imipénème est de 2% ce qui témoigne la dissémination de la résistance aux carbapénèmes dans les hôpitaux algériens, notamment à Alger en 2008 et 2009 à l'hôpital de Bologhine (Benamrouche et *al.*, 2009). Par contre nos résultats diffèrent de ceux de Medboua (2011) présentant l'imipénème, comme l'un des antibiotiques les plus actifs sur les différentes Entérobactéries isolées avec une sensibilité de 100%.

Le caractère multirésistant des SARM observé dans la présente étude limite le choix des antibiotiques pour le traitement. Dans les hôpitaux, la vancomycine reste l'antibiotique approprié pour le traitement des infections à SARM, notre étude n'a révélé aucun cas de SARM résistant à la vancomycine. La résistance des souches de *S. aureus* à la vancomycine reste rare en Algérie, d'après Rebiahi et *al.* (2011) 3 souches de SARM sont résistantes à la vancomycine à Tlemcen, avec des CMI allant de 16 $\mu\text{g/mL}$, 64 $\mu\text{g/mL}$ et 128 $\mu\text{g/mL}$, appuyés par la détection du gène *vanA* par technique moléculaire.

Pour les autres résistances associées des SARM, nous avons enregistré un taux très élevé de 90% à la gentamicine par rapport à la situation en Tunisie 18% (Bertrand et *al.*, 2004) et 10% selon Mastouri et *al.* (2006). La résistance à la kanamycine est de 80%, ces taux sont proches de ceux retrouvés par Mastouri et *al.* (2006), où la résistance est de 78%.

La résistance à l'ofloxacine enregistrée durant notre étude est de 60%, elle est supérieure à celle qui a été rapportée à Constantine (2%) par Aouati et *al.* 2010. Elle est aussi inférieure à celle de l'Inde et du Pakistan avec des taux de 90% (Samra et Ahmed, 2010). Plusieurs enquêtes récentes suggèrent que les fluoroquinolones eux-mêmes peuvent effectivement prédisposer les patients à l'infection ou le portage de SARM (Weber et *al.*, 2003).

Les 13 souches d'*Acinetobacter baumannii* identifiées dans notre étude sont résistantes à la céftazidime et à l'imipénème, avec des taux de 100%. La résistance à imipénème est variable selon Chbani et *al.* (2004) allant de 3,1 à 60 %. Une étude faite en Grèce a montré que plus de 94% des souches d'*A. baumannii* sont résistantes à la céftazidime, l'amikacine et à l'imipénème (Enoch et *al.*, 2007).

Les taux de résistance à l'amikacine que nous avons comptabilisé estimés à 69%, sont proches de ceux rapportés par Ben Haj et Khedher (2010) 64.9% en Tunisie, par Lim et *al.* (2007) avec 95% en Corée, aussi 38.3% en Turquie par Kulah et *al.* (2010) et 35.8% au Maroc (Lahsoune et *al.*, 2007).

La résistance à la ciprofloxacine enregistrée dans notre étude est de 69%, comparée à 54% dans les hôpitaux tunisiens (Ben Haj et Khedher, 2010) et 73% en Inde (Joshi et *al.*, 2003).

La seule souche de *P. aeruginosa* isolée est résistante à la céftazidime, l'imipénème et l'association ticarcilline et acide clavulanique (TCC). Elle est aussi résistante à tous les aminosides testés. Cependant un taux de résistance de 30.1% a été notée en Tunisie par Ben Abdallah et *al.* (2008). Ce dernier confirme que les aminosides sont des antibiotiques bactéricides souvent prescrits en association avec les β -lactamines dans le traitement des infections graves à *P. aeruginosa*.

En résumé nos résultats rapportent une dissémination importante de BMR au CHU Mustapha lié à une utilisation abusive des antibiotiques. Cette dernière favorise la sélection des bactéries résistantes aux antibiotiques notamment dans les services de longue hospitalisation, prenant en charge des malades immunodéprimés sujettes à des soins invasifs. Un programme de prévention basé sur la signalisation des résistances fréquentes, l'application rigoureuses des mesures d'hygiène et la rationalisation des antibiotiques doit être établi au risque de se confronter à l'impasse thérapeutique.

Conclusion

Les résultats de notre étude axés sur le profil bactériologique des bactériémies à BMR au niveau du CHUMB durant la période de 4 mois nous ont permis de connaître la fréquence d'isolement des BMR, d'évaluer leurs résistances associées aux antibiotiques, de déterminer les facteurs favorisant leur acquisition et les services les plus à risque de leur dissémination.

L'utilisation abusive des antibiotiques à large spectre et pour des durées d'hospitalisations longues s'est traduite par la sélection des bactéries multirésistantes. Les BMR isolées au cours de notre étude sont représentées par les ERC3G à 52%, l'*Acinetobacter baumannii* totorésistant à 26%, SARM à 20% et le *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la CAZ et l'IMP à 2%.

La circulation des BMR dans nos services soulève la crainte des épidémies hospitalières et les conséquences que peuvent engendrer ces dernières en termes de morbidité et de mortalité. En effet c'est le cas en néonatalogie où notre étude a relevé deux épidémies à *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE et *Acinetobacter baumannii* résistant à la CAZ et l'IMP suite aux quelle deux nouveau-nés sont décédés.

La restriction des alternatives thérapeutiques de ces bactéries multirésistantes est un problème majeur dans la prise en charge des malades.

En effet l'étude de la sensibilité des BMR aux antibiotiques a montré des résistances associées aux autres familles d'antibiotiques notamment les aminosides, les fluoroquinolones et les glycopeptides.

La résistance à l'imipénème autre antibiotique à large spectre est de plus en plus signalée au niveau du laboratoire de CHUMB ; nous avons noté qu'une souche d'ERC3G et toutes les souches d'*A. baumannii* résistantes à la CAZ et/ou IMP isolées sont résistantes à cet antibiotique.

La dissémination rapide des BMR est un constat alarmant imposant aux cliniciens une prescription rationnelle des antibiotiques et une application stricte des règles d'hygiène. Des mesures qui sont loin d'être appliquées dans nos services.

Le laboratoire de microbiologie a un rôle non négligeable dans la prévention de la dissémination des BMR qui passe par la signalisation des BMR et l'étude régulière de l'écologie bactérienne des services, une collaboration étroite entre prescripteurs et

Conclusion

microbiologistes changerait certainement l'état actuel alarmant des résistances croissantes des bactéries aux antibiotiques.

Recommandation

Dans le souci de mieux prévenir des bactériémies à BMR et d'améliorer la situation hospitalière nous formulons les recommandations suivantes :

Au Ministre de la santé et Personnel médico-chirurgical :

- ✓ Assurer une formation continue des personnels de la santé sur les infections à BMR.
- ✓ Lutter contre l'automédication des antibiotiques car elle favorise l'émergence de souches bactériennes résistantes par la pression de sélection.
- ✓ Sensibiliser la population sur les conséquences que peut engendrer l'utilisation abusive de l'imipenème, afin de pallier la résistance galopante des germes.
- ✓ Respecter strictement et rigoureusement les mesures d'hygiène et d'asepsie.
- ✓ Effectuer des antibiogrammes efficaces dont le résultat guidera vers le bon traitement des bactériémies à BMR.

-A-

1. **Archambaud M., Clave D.** Diagnostic bactériologique d'une infection. DCEM 1, (2008) 37 : 32.
2. **Avril J., Dabernat M., Monteil H.D.** Bactériologie clinique. 3ème édition Elsepses. Paris (2000) 602.
3. **Ammari A., Ouar-Korichi N.** Réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale, médecine humaine et vétérinaire, tests complémentaires. 7^{ème} édition (2014) 177 :37-66.
4. **Aouati1 H., Arafal N., Benlabed1 K., Boulahrouf A., Bousseboua H.** *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline au Centre hospitalo-universitaire Ben Badis de Constantine Algérie. Vol 4 (2010) 129-133.

-B-

5. **Benslimani A., Mahieddine C.** Etat de la résistance aux antibiotiques d'autres espèces bactériennes et surveillance des bactéries multirésistantes (BMR): SARM, Enterobactérie (ERC3G), *Acinetobacter spp*, et *Pseudomonas aeruginosa* résistant à l'imipénème céftazidime et ciprofloxacine. 13ème rapport d'évaluation de la résistance des BMR aux antibiotiques (2011) 67-93: 68 70.
6. **Baba Ahmed-Kazi Tani, Decré Z., Genel D., Boucherit-Otmani N., Arlet Z., Drissi M.** Molecular and Epidemiological Characterization of Enterobacterial Multidrug Resistant Strains in Tlemcen Hospital (Algeria). Microbial Drug Resistance. 3 (2010) 185-190.
7. **Branger C.** Enseignement dirigé de bactériologie, DCEM1. Propriété de la Faculté de Médecine Paris 7 – Denis Diderot (2007) 80 : 65-66.
8. **Barry G., Barlow M.** Revised Ambler classification of β -lactamases. 55 (2005) 1050-1051.
9. **Bergogne-bérézin E., Dellamonica P.** Antibiothérapie en pratique clinique. 2^{ème} édition (1999) 495 : 21.
10. **Bassole I.** Profil bactériologique des suppurations postopératoires dans les services de chirurgie digestive et de chirurgie traumatologique du Centre Hospitalier Universitaire – Yalgado ouedraogo. N°256 (2012) 113 : 20-31.
11. **Biomérieux.** Système d'identification des Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux (2010) 13.

12. **Bader S.** *Staphylococcus aureus* Bacteremia in Older Adults: Predictors of 7-Day Mortality and Infection with a Methicillin-Resistant Strain. *Infect Control Hosp Epidemiol.* Vol 27, N° 11 (2006) 25-1219.
13. **Benamrouche N.** Automatisation des tests de sensibilité aux antibiotiques, Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale. 7^{ème} édition (2014) 76-177.
14. **Benslimani A., Benamrouche N.** Réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale, médecine humaine et vétérinaire, techniques. 7^{ème} édition (2014) 177 :12-36.
15. **Barrau K., Boulamery A., Imbert G., Casalta J.P., Habib G., Messina T., Bonnet J.L., Rubinstein E., Raoult D.** Causative organisms of infective endocarditis according to host status. *Clin Microbiol Infect* (2004) 10: 302-308.
16. **Bergogne-Berezin E., Joly-Guillou M., Towner K.** *Acinetobacter*: microbiology, epidemiology, infections management (1996) 288.
17. **Bidet P., Bingen E.** Enterobacteriaceae. *In* : **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E., Quentin R.** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson. Paris (2007) 295-322.
18. **Bactériologie.** Niveau DCEM1 Université Pierre et Marie Curie (UPMC) (2003) 9-122.
19. **Benckroun L., Bouabdelah M., Souly K., Souhami M., Sriefi A., Jaouhar N., Zouhdi M., Chabraoui L.** Intérêt du suivi thérapeutique pharmaceutique de l'efficacité thérapeutique et prévention des résistances bactériennes (2015) 99 : 22
20. **Ben Haj Khalifa A., Khedher M.** Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'*A.baumannii* isolées dans la région de Mahdia. *Médecine et maladies infectieuses* (2010) 40 :126-128.
21. **Ben Abdallah H., Noomen S., Ben Elhadj Khélifa A., Sahnoun O., Elargoubi A., Mastouri M.** Susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in the Monastir region, Tunisia. *Médecine et maladies infectieuses* (2008) 554-556.
22. **Bertrand X., Mueller A., Thowverez M., Talon D.** Retour vers la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) : relation entre génotype et antibiotique. *Path Biol* (2004) 52 : 5-480.

23. **Bouzekraoui T., Benhiba I., Kamouni Y., Arsalane L., Zouhair S.** Les infections bactériennes multirésistantes BMR en milieu de réanimation à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech (2015) 7 : 5-99.

-C-

24. **Chaplin C.** Conduite à tenir devant une bactérie multi-résistante. Mise au point en anesthésie réanimation (1997) 563-573.
25. **Campeotto F., Garnier F., Kalach N., Soulaines P., Dupont C., Raymond J.** Acquisition nosocomiale de bactéries multi-résistantes dans un service de néonatalogie: étude prospective et analyse des facteurs de risque. *Archives de pédiatrie*. 11 (2004) 1314-1318.
26. **Cavallo J.** *Pseudomonas aeruginosa* et antibiotiques (2005) 3-31 :7 8.
27. **Courvalin P., Lecleraq R., Binger E.** AntibioGramme 2^{ème} édition (2006) 141-163-395-133-117.
28. **Chbani F., Zoughaghi L., Taourag K., Aarab H., Benaouda A.** *Acinetobacter baumannii* : épidémiologie et résistance aux antibiotiques. *Prat.* 14 (2004) 2 : 4-23.
29. **Centre National Hospitalier d'Information sur le Médicament (CNHIM).** Les traitements d'éradication. *Revue d'évaluation sur le médicament*. 5 (2001) 2-24.

-D-

30. **Decré D.** *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques : un modèle d'adaptation. N° 441 (2012) 43-52 : 44 45.
31. **Dali A.** Infections nosocomiales à bactéries multi-résistantes en réanimation adulte à l'EHUO profil épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques (2015) 197 : 27 33.
32. **Dali Y., Boubekri I., Boumendil K.** Résistance des bactéries aux antibiotiques : rappels et situation à l'EHUO (rapport présenté au CLIN) 2010.
33. **Denis F., Garnier F.** Bactériologie médicale, Techniques usuelles, Hémoculture 2eme édition revue et augmentée (2010) 107-116.
34. **Denis F., Ploy MC., Martin C., Bingen E., Quentin R.** Bactériologie médical Technique usuelles. 2^{ème} édition (2011) 610.

-E-

35. **European Center for Disease Prevention and Control (ECDPC).** Antimicrobial resistance surveillance in Europe. *Surveillance report* (2012) 3-205.

36. **Elouennass M., Sahnoun I., Zrara A., Bajjou T., Elhamzaoui S.** Epidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation, Vol 38 (2005) 18-24.
37. **Eddayab Y.** Détection des bactéries multi-résistantes au laboratoire de bactériologie du CHU de Limoges. N°1 (2012) 119 : 40 43.
38. **Enoch D., Birkett C., Ludlam H.** Non-fermentative Gram-negative bacteria. Journal of Antimicrobial Agents (2007) 33-41: 3.
39. **Eisner A., Fagan E.J., Feierl G., Kessler H.H., Marth E., Livermore D., Woodford N.** Emergence of Enterobacteriaceae isolates producing CTX-M extended spectrum Beta-lactamase in Austria. Antimicrob Agents Chemother (2006) 7-785: 50.

-F-

40. **Fauchère J., Avril J.** Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses Marketing S.A (2002) 368.
41. **Faure S.** Transfert d'un gène de résistance aux β -lactamines *bla* CTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : Impact d'une antibiothérapie. Université Rennes de France (2009) 190.
42. **François J., Chomarat M., Weber .Gerard A.** L'antibiogramme à la prescription. Edition biomerieux (2003) 8-115.

-G-

43. **Gaudy C., Buxeraud J.** Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique (2005) 269 : 13-16-18-19.
44. **Guimenez F., Brazier M., Calop J., Tchiakpé L.** Pharmacie clinique et thérapeutique 2^{ème} édition (2002) 96.
45. **Goossens H., Grabein B.** Prevalence and antimicrobial susceptibility data for extended -Spectrum Beta-lactamase- and AmpC-producing Enterobacteriaceae from the mystic Program in Europe and the United States (1997-2004). Diagn Microbiol Infect Dis (2005) 53:64-257.

-H-

46. **Hamza R., Blanco I., Kammoun H., Saidani B., Bokri M., Hassine J., Fersi M., Gandoura N., Nedjai A.** Incidence de l'infection nosocomiale en pédiatrie dans la région de Bizert : résultats d'une surveillance de 03 mois. Rev Tun Infectiol. 3 (2008) 11-20.

-I-

47. **Inesss.** Fiche informative sur la résistance bactérienne. Québec (2012) 4.

-J-

48. **Jarlier V., Nicolas M., Fournier G., Philippon A.** Extended-broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae : hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis.* 10 (1988) 867–878.
49. **Joly B., Reynaud A.** Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic (2002) 79-80-83.
50. **Joshi S., Geeta M., Litake A., Krishnarao B., Niphadkar-Vikram S.** Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a teaching hospital, *Journal of Infection Chemotherapy* (2003) 187–190: 9.

-K-

51. **Karlowky J., Jones M., Draghi D., Thornsberry C., Sahn D., Volturo G.** Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in the United States in 2002. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* (2004) 8.
52. **Kempf M., Eveillard M., Deshayes C., Ghamrawi S., Lefrançois C., Georgeault S., Bastiat G., Seifert H., Laure M., Guillou J.** Cell surface properties of two differently virulent strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from a patient. *Vol58* (2012) 311.
53. **Kulah C., Mooij M., Comerta F., Aktasa E., Celebic G., Ozlua N., Rijnsburgerb M. Savelkoul P.H.M.** Characterisation of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak strains producing OXA-58 in Turkey. *International Journal of Antimicrobial Agents* (2010) 36:114–118.
54. **Kane-Diop A.M.** Bactériémies acquises en réanimation aspect épidémiologique et thérapeutique dans le service de réanimation polyvalente du CHU de Dakar, 26 (2001) 1-109

-L-

55. **Larabi K., Masmoudi A., Fendi C.** Etude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infection urinaires dans un CHU de Tunis: à propos de 1930. *Médecines et Maladies infectieuses.* 33 (2003) 348-352.
56. **Labid A.** Etude fréquentielle des bactéries responsables des infections septicémiques chez les enfants dans la région d'Annaba (2015) 16-139 : 31-32

57. **Lagha N.** Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de Beta-lactamases à spectre étendue (EBLSE) isolée de l'hôpital de Laghouat (2015) 84 : 10-11.
58. **Lanotte P., Meregueti L., Roland Q.** Démarche de l'examen bactériologique (2010) 7-32.
59. **Li X.Z., Ma D., Livermore D.M., Nikaido H.** Role of efflux pump(s) in intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: active efflux as a contributing factor to betalactam resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38 (1994) 1742–1752.
60. **Lahsoune M., Boutayeb H., Zerouali K., Belabbes H., El Mdaghri N.** Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii* dans un CHU marocain. *Médecine et maladies infectieuses* (2007) 37 :828–831.
61. **Lahlaoui H., Anis B., Mohamed K., Mohamed B.** Emergence of SHV-12 extended spectrum beta-lactamase among clinical isolates of *Enterobacter cloacae* in Tunisia. (2012) 64–65.
62. **Lim Y.M., Shin K.S., Kim J.** Distinct Antimicrobial Resistance Patterns and antimicrobial resistance-Harboring genes according to genomic species of *Acinetobacter* isolates from blood-culture. *Journal of Clinical Microbiology.* (2007) 902–905.
63. **Lemort M.L, Neuville S., Medus M., Guedet P., Saada M., Aumaître H., Lecaillon E.** Evolution comparée de la sensibilité de souches d'*Escherichia coli* isolées d'infections urinaires de patients consultant aux urgences et de patients hospitalisés en 2002 et 2004 à l'hôpital de Perpignan. *Pathologie Biologie* (2006) 54 :427-430.
- M-
64. **Millon B.** Bactériémies à *Staphylococcus aureus* au Centre Hospitalier de Grenoble : changement épidémiologique et Analyse d'une série de 199 bactériémies consécutives. (2015) 11-16.
65. **Moudjongue-Omock S.** Mise en place d'un système de surveillance des résistances bactériennes aux antibiotiques: Cas des hémocultures au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako (2014) 3-120 :4.
66. **Maiti S., Babu R., Shan R.** Overcoming Bacterial Resistance: Role of β -Lactamase Inhibitors. *Top Heterocycl Chemistry* 2 (2006) 207-246.
67. **Mammeri H.** Mode d'action des antibiotiques, service de bactériologie, CHU Amiens (2013) 36 : 2.

68. **Mesaros N., Nordmann P., Plésiat P., Roussel-Delvallez M., Van-Eldere J., Glupczynski Y., Van-Laethem Y., Jacobs F., Lebecque P., Malfroot A., Tulkens P.M., Van-Bambeke F.** *Pseudomonas aeruginosa* : résistance et options thérapeutiques à l'aube du deuxième millénaire. 8 (2007) 305-316.
69. **Mastouri M., Nour M., Ben Nejma M., Bouallegue O., Hammani M., Khedher M.** Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. Path Biol (2006) 54 : 6-33.
70. **Mkaouar D., Mahjoubi F., Mezghani S., Znazen A., Ktari S., Hammami A.** Étude de la résistance des Entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie. Médecine et maladies infectieuses (2008) 38 : 293-298.
71. **Medboua C.** Caractérisation des phénotypes de résistance aux lactamines à large spectre des bacilles à Gram négatif isolés au niveau du laboratoire central mère et enfants du CHU Beni-Messous d'Alger (2011) 114.
72. **Maigua R., Zoulati G., Aich F., Keita S., Yahyaoui G., Mahmoud M., Benaouda A., Benlemlih M.** Bactéries multirésistantes isolées dans les prélèvements d'hémoculture au CHU Hassan II FES 16eme édition scientifique (2015) 80-81.
- N-
73. **National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS).** System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control, (2004) 470 :32-85.
- P-
74. **Pilly E.** Bactériémie, Sepsis et Choc septique, 15ème édition. Montmorency : 2M2 (1996) 19-25.
75. **Pilly E.** Maladies infectieuses et tropicales. 21^{ème} édition (2008) 736 : 50 65.
76. **Permuter L., Permuter G.** Guide de thérapeutique. 4^{ème} édition (2007) 316.
77. **Poirel L., Nordmann P.** Résistance aux β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii*: évolution et émergence de nouveaux mécanismes. *Antibiotiques*. 8 (2006) 100-107.
78. **Pittet D., Wenzel R.P.** Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. Arch Intern Med (1995) 155:1177-1184.
79. **Paradis-Bleau C.** Génomique fonctionnelle des protéines de division cellulaire et du peptidoglycane : développement de nouveaux agents antibactériens. Université Laval, Canada (2007).

-R-

80. **Remington J., Schimpff S.** Occasional notes. Please do not eat the salads. *N Engl J Med* (1981) 5-433 : 304.
81. **Rebiahi A., Abdelouahid D., Rahmoun M., Abdelali S., Azzaoui H.** Emergence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* identified in the Tlemcen university hospital (North-West Algeria). *Médecine Mal Infect* (2011) 9-10.

-S-

82. **Sekhri-Arafa N.** Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine (2011) 16-187 : 16.69.70.
83. **Stürenburg E., Sobottka I., Noor D., Laufs R., Mack D.** Evaluation of a new cefepime-clavulanate ESBL Etest to detect extended-spectrum β -lactamases in Enterobacteriaceae strain collection. *J Antimicrobiol Chemotherapy* (2004) 134-138.
84. **Staley J.T., Boone D.R., Garrity G.M., De-Vos P., Goodfellow M., Rainey F.A., Schleifer K.H., Brenner D.J., Castenholz R.W., Holt J.G., Krieg N.R., Liston J., Moulder J.W., Murray R.G.E., Niven C.F., Pfennig N., Sneath P., Tully J.G., Williams S.T.** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2^{ème} édition (2001) 912.
85. **Saidani M., Boutiba I., Ghazzi R., Kammoun A., Ben Redjeb S.** Profil bactériologique des bactériémies à germes multirésistants à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis. *Med Mal Infect* (2006) 36 : 66-163.
86. **Sekhsokh Y., Chadli M., El Hamzaoui S.A.** Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Médecines et maladies infectieuses* (2008) 324-327.
87. **Sarma B., Ahmed G.** Characterization of methicillin resistant *S. aureus* strains and risk factors for acquisition in a teaching hospital in northeast India. *Indian J Med Microbiol* 9 (2010) 28:127.

-T-

88. **Touati A., Benallaoua S., Forte D., Madoux J., Brasme L., De Champs C.** First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 Beta β -lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae in Bejaia, Alegria. *Antimicrobial Agents Journal* (2006) 397-402.

-W-

89. **Weber S., Gold H., Hooper D., Karchmer A., Carmeli Y.** Fluoroquinolones and the Risk for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Hospitalized Patients 1^{ère} édition 0911 (2003) 141.

-Y-

90. **Yaméogo M.** Morbidité et mortalité dans l'unité d'hospitalisation de la chirurgie générale et digestive du Centre Hospitalier Universitaire- Yalgado Ouédraogo (CHU-YO) (2006) 105 :72.
91. **Yamashita S., Louie M., Simor A., Rachlis A.** Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in critical care unit Vol 11, N° 2 (2000) 107-111.
92. **Yvon M.** Une histoire de la résistance aux antibiotiques à propos de six bactéries. Edition le Harmattan (2009) 350.

-Z-

93. **Zapun A., Macheboeuf P., Vernet T.** Penicillin-binding proteins and beta-lactam resistance 3rd édition (2008) 145-170.
94. **Zegmout.** Les infections à bactéries multi-résistantes en réanimation : incidence, facteurs de risque et facteurs pronostiques. N°206 (2008) 45.

Annexes

-Annexe I-

Appareils

| Appareillage | Verrerie | réactifs |
|--|--------------------------------|------------------------|
| - Le Thermo-Scientific- Versa® TREK | - Bec bunsen | -Huile de vaseline |
| - MicroScan® WalkAway 96 plus | - Pipettes Pasteurs | - Eau physiologique |
| - Etuves bactériologiques (37°C) | - Tubes à essai stériles | - Pastorex-Staph |
| - Réfrigérateur | - Lame et lamelles | - Eau oxygénée 10V |
| - Microscope optique | - Les flacons d'hémoculture | - plasma de lapin |
| - Densitomètre | - Boites de Petri | - réactif pour Oxydase |
| - La hotte de sécurité | | - VP I et VP II |
| - Color Gram | | - Kovaks |
| - Plaques WalkAway | | - TDA |
| - Ecouvillons stériles | | - Huile d'immersion |
| - Disques imprégnés d'antibiotiques | | |



Figure 3: Le Thermo-Scientific-Versa® TREK



Figure 4: MicroScan® WalkAway 96 plus



Figure 5: Etuve bactériologique



Figure 6: Densitomètre



Figure 7: La hotte de sécurité



Figure 8: Color Gram



Figure 9: Plaque WalkAway



Figure 10: Les flacons d'hémoculture

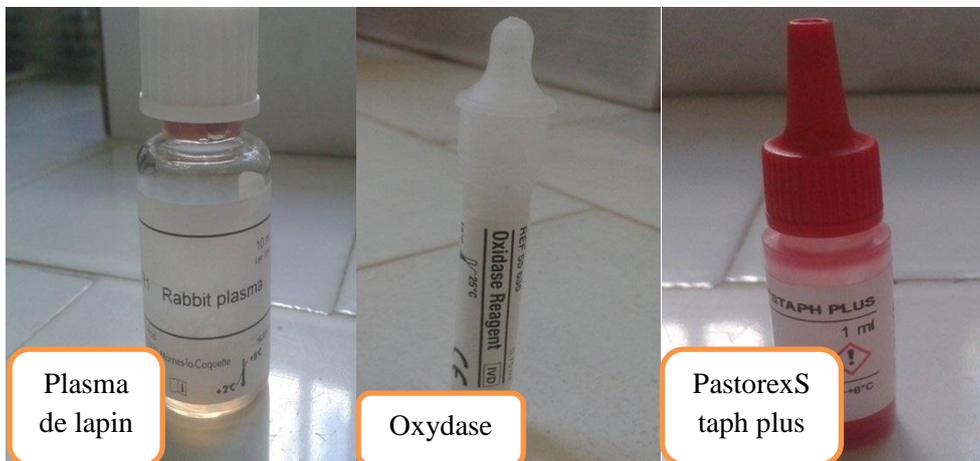


Figure 11: Les réactifs

Annexes

Tableau VIII: Principes et compositions des milieux de cultures

| Milieux de culture | Compositions | Principes |
|--|--|--|
| GN | Gélose ordinaire : Agar 15g/l, extrait de viande de bœuf 1g/l, extrait de levure 2g/l, peptone 5g/l, Chlorure de sodium 5g/l. | Permet la croissance des bactéries non exigeantes. |
| GSF | Gélose ordinaire additionnée de sang frais (mouton ou de cheval) à 50ml Mélange spécial de peptones 23g/l Amidon 1g/l, NaCl 5g/l, Agar 10g/l, Acide nalidixique 0,015ml Colistin.0, 015ml. | Permet la croissance des bactéries exigeantes grâce aux facteurs de croissance contenues dans le sang (hématies) et permet d'apprécier le type d'hémolyse. |
| GSC | Ce sont des géloses ordinaires 10g/l, additionnées de sang cuit (mouton, cheval ou lapin) à 5ml, NAD ou NADP 33 à 53mg/l, polypeptone 15g/l, Amidon de maïs 1g/l, Phosphate dipotassique 4g/l, Phosphate monopotassique 1g/l, Chlorure de sodium 5g/l. | Permettent la croissance des bactéries exigeantes. |
| Uriselect (milieux chromogènes) | Peptone 4g/l, extrait de bœuf 3g/l, Tryptone 4g/l, Lactose 10g/l L-Cystéine 128 mg/l, Agar 15g/l. | Permet de détecter les activités enzymatiques produites par les Entérobactéries et de les différencier par virage de couleur après clivage des substrats. |
| BCP (milieux électif) | Lactose 10g, Pourpre de bromocrésol 20mg (d'où la couleur du milieu), Tryptone 5g, Extrait de viande 3,0 g, Agar 13g. | Permet l'identification des bacilles à gram négatif fermentaires ou non du lactose. |

Annexes

Tableau VII: Population d'étude selon quelques critères étudiés

| Services | nombre | sexe | | Tranche d'âge (a) | ATB | |
|---------------------------------|--------|---------|------|---------------------------------|-----|-----|
| | | femelle | male | | oui | non |
| Néonatalogie | 385 | 146 | 169 | 1J≤a ≤30J | 162 | 120 |
| Pédiatrie | 177 | 60 | 97 | 2mois≤a≤20mois 2ans ≤a≤14ans | 88 | 21 |
| Réanimation | 155 | 85 | 64 | 15ans ≤a≤ 86ans | 69 | 17 |
| Cardiologie | 50 | 15 | 30 | 20ans≤a≤ 76ans | 11 | 22 |
| Néphrologie | 11 | 8 | 3 | adulte | 1 | 3 |
| Hépto-gastro-entérologie | 12 | 7 | 3 | 27ans≤a≤ 83ans | 1 | 4 |
| Gynécologie | 9 | 9 | 0 | Adulte | 2 | / |
| Médecine interne | 9 | 2 | 1 | 22ans≤a≤70ans | 2 | 1 |
| Pneumologie | 7 | 4 | 3 | 61ans≤a≤ 72ans | 2 | 2 |
| Dermatologie | 8 | 6 | 2 | 35ans≤a≤89ans | 2 | / |
| Chirurgie cardiaque | 8 | 4 | 3 | 18ans≤a ≤ 73ans | 4 | 2 |
| Chirurgie infantile | 9 | 4 | 5 | 14mois≤a ≤8ans | 6 | / |
| Gastro-entérologie | 10 | 6 | 2 | Adulte | 1 | / |
| Chirurgie générale | 6 | 3 | 3 | Adulte | 2 | / |
| Urgence | 7 | 4 | 2 | 70ans≤a≤ 25ans | 2 | 3 |
| ORL | 1 | 1 | 0 | 49ans | / | / |
| Chirurgie urologique | 1 | 1 | 0 | Adulte | / | / |
| Psychiatrie | 1 | 0 | 1 | 20ans | / | / |
| Chirurgie neurologique | 1 | / | / | 4ans | / | / |
| Médecine générale | 1 | / | 1 | 6ans | / | / |

*ORL :Ortho-rhino-laryngologie

-Annexe II-

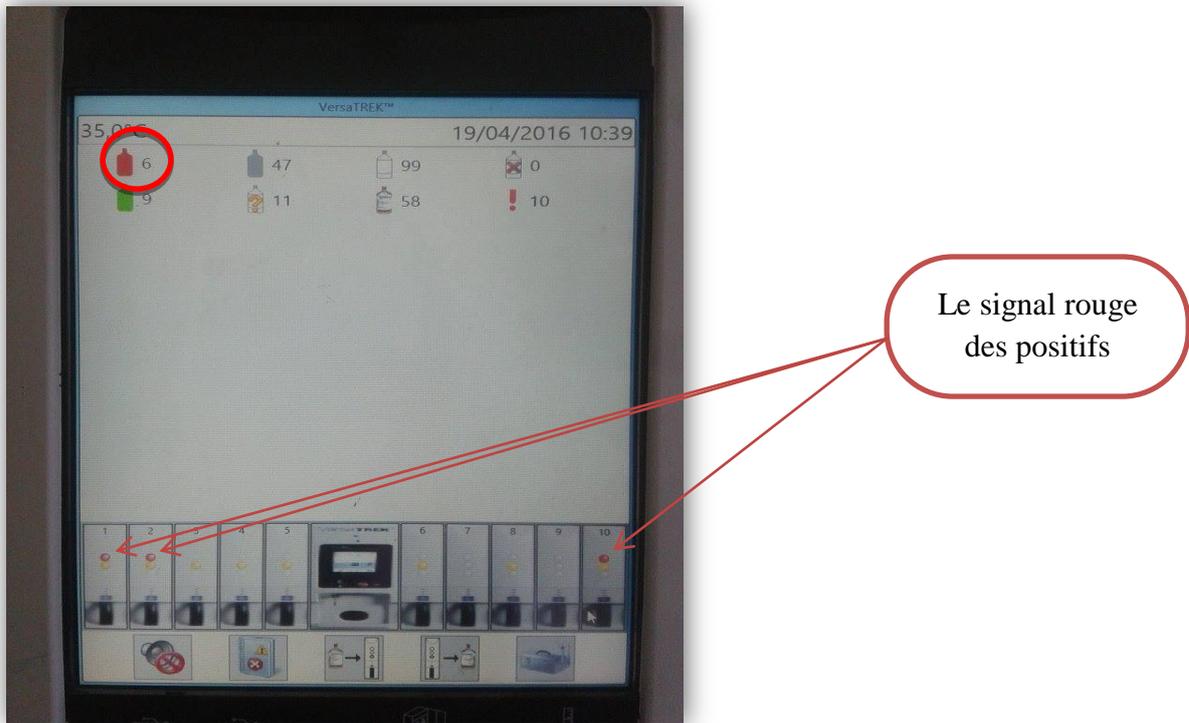


Figure 12 : Signale des flacons positifs



Figure 13: Isolements des *Staphylococcus aureus* sur GSC, GN et Uriselect de gauche à droite

Annexes



Figure 14: Isolements des Entérobactéries sur les milieux GSF, GSC, GN et BCP de gauche à droite



Figure 15: Isolement d'*Acinetobacter baumannii* sur les milieux GSC, GSF, GN et Uriselect de gauche à droite



Figure 16: Isolement de *Pseudomonas auruginosa* sur les milieux GSC, GSF et GN de gauche à droite



Figure 17: Isolements des principales Entérobactéries sur le milieu Uriselect

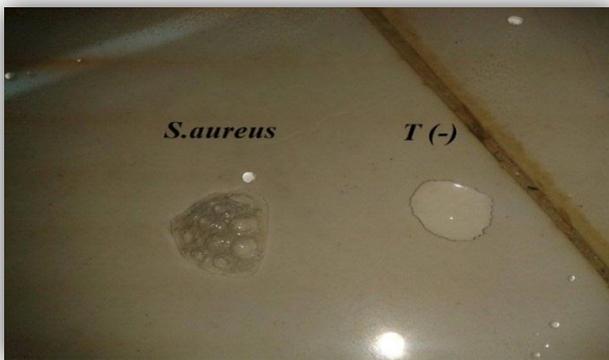


Figure 19: Test de catalase

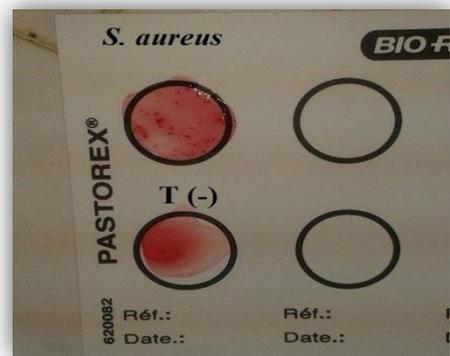


Figure 20: Test d'agglutination



Figure 21: Test de coagulase libre

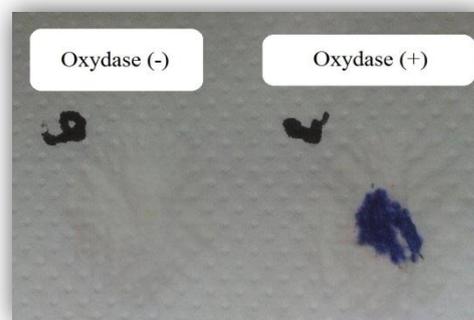


Figure 22: Test d'oxydase

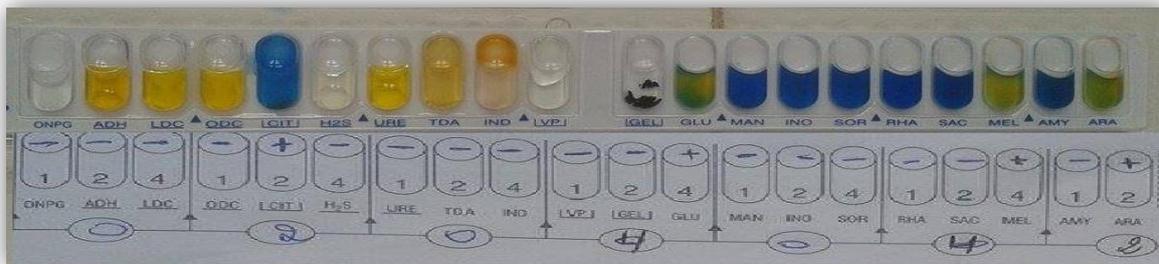


Figure 23: La galerie Api 20 E d'une souche d'*A. baumannii*



Figure 24: La galerie Api 20 E d'une souche de *P. aeruginosa*



Figure 25: La galerie Api 20 E d'une souche d'*E. cloacea*



Figure 26: La galerie Api 20 E d'une souche d'*E. coli*



Figure 27: La galerie Api 20 E chez d'une souche de *K. pneumoniae*

Annexes

Tableau IX: Type de plaque et antibiotiques testés par MicroScan® WalkAway 93 plus selon les espèces bactériennes

Types de plaques et antibiotiques testés par MicroScan® Walk-Away 96 plus selon les espèces bactériennes

| Types de plaques | Entérobactéries | Entérobactéries isolées d'urine | BGN non fermentants | Staphylococcus spp. Streptococcus B Enterococcus spp. POS COMBO 31 | Streptococcus spp. (excepté Streptococcus B) Haemophilus spp* MICROSTREP plus1 |
|---|---|--|---|---|---|
| Liste d'antibiotiques | NEG COMBO 53 Ampicilline Amoxicilline+Acide clavulanique Pipéracilline+Tazobactam Amikacine Tobramycine Aztréonam Céfazoline Céfépime Céftaxime Céfoxitine Céftazidime Céfuroxime Céftazidime Céfuroxime Céfalotine Ciprofloxacine Ertapénème Céftaxime+Acide clavulanique (ESBL Test) Céftazidime+Acide clavulanique (ESBL Test) (ESBL Test) Gentamicine Imipénème Acide nalidixique Triméthoprime+Sulfaméthoxazole Tigécycline Triméthoprime+Sulfaméthoxazole | NEG COMBO URINE 52 Ampicilline Amoxicilline+Acide clavulanique Pipéracilline+Tazobactam Tobramycine Céfazoline Céfépime Céftaxime Céfoxitine Céftazidime Céfuroxime Céfalotine Ciprofloxacine Norfloxacine Ertapénème Céftaxime+Acide clavulanique (ESBL Test) Céftazidime+Acide clavulanique (ESBL Test) Gentamicine Imipénème Acide nalidixique Triméthoprime+Sulfaméthoxazole Fosfomycine Nitrofurantoïne | NEG COMBO 54 Amikacine Ticarcliline Ampicilline+Subactam Pipéracilline+Tazobactam Aztréonam Céfépime Céftazidime Ciprofloxacine Colistine Fosfomycine Gentamicine Tobramycine Imipénème Lévofloxacine Méropénème Mincycline Tigécycline Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole | Ampicilline Céfoxitine screen Ciprofloxacine Clindamycine Daptomycine Erythromycine Fosfomycine Gentamicine Gentamicine synergy screen Inducible clindamycine test Lévofloxacine Linezolid Nitrofurantoïne Oxacilline Pénicilline Streptomycine synergy screen quinudalofopristine Técoplanine Tétracycline Vancomycine Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole | Ampicilline Amoxicilline+Acide clavulanique Azithromycine Céclacor Céfépime Céftaxime Céftroxone Céfuroxime Chloramphénicol Erythromycine Clindamycine Lévofloxacine Gatifloxacine Méropénème Pénicilline Tétracycline Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole Vancomycine |
| Antibiotiques appartenant aux listes standardisées mais ne figurant pas sur les plaques** | Cépirome Chloramphénicol Lévofloxacine Nitrofurantoïne Fosfomycine Colistine | Cépirome Chloramphénicol Lévofloxacine Colistine | Pipéracilline Ticarcliline+Acide clavulanique Cépirome Nétilmicine Doxycycline Rifampicine | Amikacine Kanamycine Ofloxacine Chloramphénicol Pristinamycine Rifampicine Acide fusidique Tigécycline | Amoxicilline Imipénème Gentamicine Rifampicine Pristinamycine Fosfomycine Gémifloxacine |

Annexes

Tableau X: Antibiotiques testés, valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et CMI pour *Staphylococcus aureus* (Benslimani et Benamrouche, 2014)

Antibiotiques testés, valeurs critiques des diamètres de zone d'inhibition et CMI pour *Staphylococcus aureus*
(Benslimani et Benamrouche, 2014)

| Antibiotiques testés | Charge des disques | Diamètres critiques (mm) | | | CMI critiques (µg/ml) | | | Commentaires |
|--|--------------------|--------------------------|---------|------|-----------------------|------|--------|--|
| | | R | I | S | R | I | S | |
| Pénicilline | 10 UI | ≤ 28 | --- | ≥ 29 | ≥ 0,25 | ---- | ≤ 0,12 | Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux (voir « Tests complémentaires »). Interprétation variable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamases (ampicilline, ticarcilline, pipéracilline....). |
| Oxacilline (<i>S. aureus</i> et <i>S. lugdunensis</i>) | ---- | ---- | ---- | ---- | ≥ 4 | ---- | ≤ 2 | Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S. aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative. |
| Céfoxitine (<i>S. aureus</i>) | 30 µg | ≤ 21 | --- | ≥ 22 | ≥ 8 | ---- | ≤ 4 | La résistance à la céfoxitine signifie la résistance à toute la famille des β-lactamines. |
| Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S. lugdunensis</i>) | ---- | ---- | ---- | ---- | ≥ 0,5 | ---- | ≤ 0,25 | Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S. aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative. |
| Céfoxitine (S.C.N. sauf <i>S. lugdunensis</i>) | 30 µg | ≤ 24 | --- | ≥ 25 | --- | ---- | --- | |
| Gentamicine | 10 µg | ≤ 12 | 13 – 14 | ≥ 15 | ≥ 16 | 8 | ≤ 4 | Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la |
| Kanamycine | 30 µg | ≤ 13 | 14 – 17 | ≥ 18 | ≥ 4 | 32 | ≤ 16 | La détermination de la résistance à l'amikacine est mieux détectée avec la kanamycine. ** |
| Amikacine | 30 µg | ≤ 14 | 15 – 16 | ≥ 17 | ≥ 4 | 32 | ≤ 16 | |
| Erythromycine | 15 µg | ≤ 13 | 14 – 22 | ≥ 23 | ≥ 8 | 1-4 | ≤ 0,5 | Détecter la résistance inducible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à érythromycine et clindamycine ». |
| Clindamycine | 2 µg | ≤ 14 | 15 – 20 | ≥ 21 | ≥ 4 | 1-2 | ≤ 0,5 | |
| Vancomycine (<i>S. aureus</i>) | ---- | --- | --- | ---- | ≥ 16 | 4-8 | ≤ 2 | Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vanco « S » et « I » de <i>Staphylococcus aureus</i> , ni de différencier les souches vanco « S », « I » et « R » de S.C.N., car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de vancomycine est obligatoire. |
| Vancomycine (SCN) | ---- | --- | --- | ---- | ≥ 32 | 8-16 | ≤ 4 | |
| Tercoplanine | 30 µg | ≤ 10 | 11 – 13 | ≥ 14 | ≥ 32 | 16 | ≤ 8 | |
| Ofloxacine | 5 µg | ≤ 14 | 15 – 17 | ≥ 18 | ≥ 4 | 2 | ≤ 1 | |
| Ciprofloxacine | 5 µg | ≤ 15 | 16 – 20 | ≥ 21 | ≥ 4 | 2 | ≤ 1 | |
| Lévofloxacine | 5 µg | ≤ 15 | 16 – 20 | ≥ 21 | ≥ 4 | 2 | ≤ 1 | |
| Triméthoprime+ sulfaméthoxazole | 1,25/23,75 µg | ≤ 10 | 11 – 15 | ≥ 16 | > 4/76 | ---- | < 0,38 | |
| Rifampicine | 5 µg | ≤ 16 | 17 – 19 | ≥ 20 | ≥ 4 | 2 | ≤ 1 | |
| Tétracycline | 30 µg | ≤ 14 | 15 – 18 | ≥ 19 | ≥ 16 | 8 | ≤ 4 | Les souches sensibles à la tétracycline sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline. |
| Chloramphénicol | 30 µg | ≤ 12 | 13 – 17 | ≥ 18 | ≥ 32 | 16 | ≤ 8 | |
| Quinupristine-dalfopristine | 15 µg | ≤ 15 | 16 – 18 | ≥ 19 | ≥ 4 | 2 | ≤ 1 | A reporter pour les souches de <i>S. aureus</i> méthicillino-sensibles. Interprétation variable pour la pristinamycine. |
| Acide fusidique** | 10 µg | < 24 | ----- | ≥ 24 | > 1 | --- | ≤ 1 | |
| Fosfomycine IV** | ---- | --- | ----- | --- | > 32 | --- | ≤ 32 | |

Annexes

Tableau XI: Antibiotiques testés, valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et CMI pour les Entérobactéries (Benslimani et Benamrouche, 2014)

| Antibiotiques testés | Charge des Disques | Diamètres critiques (mm) | | | CMI critiques (µg/ml) | | |
|--|--------------------|--------------------------|---------|-------|-----------------------|-------|--------|
| | | R | I | S | R | I | S |
| Ampicilline | 10µg | ≤ 13 | 14 – 16 | ≥ 17 | ≥ 32 | 16 | ≤ 8 |
| Amoxicilline +Ac. clavulanique | 20/10µg | ≤ 13 | 14 – 17 | ≥ 18 | ≥ 32/16 | 16/8 | ≤ 8/4 |
| Céfazoline | 30µg | ≤ 19 | 20 – 22 | ≥ 23 | ≥ 8 | 4 | ≤ 2 |
| Céfalotine | 30µg | ≤ 14 | 15 – 17 | ≥ 18 | ≥ 32 | 16 | ≤ 8 |
| Cefoxitine | 30µg | ≤ 14 | 15 – 17 | ≥ 18 | ≥ 32 | 16 | ≤ 8 |
| Céfotaxime | 30µg | ≤ 22 | 23 – 25 | ≥ 26 | ≥ 4 | 2 | ≤ 1 |
| Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire) | 30µg | ≤ 14 | ---- | ≥ 15 | ≥ 32 | ---- | ≤ 16 |
| Céftazidime | 30µg | ≤ 17 | 18 – 20 | ≥ 21 | ≥ 16 | 8 | ≤ 4 |
| Aztréonam | 30µg | ≤ 17 | 18 – 20 | ≥ 21 | ≥ 16 | 8 | ≤ 4 |
| Imipénème | 10µg | ≤ 19 | 20 - 22 | ≥ 23 | ≥ 4 | 2 | ≤ 1 |
| Ertapénème | 10µg | ≤ 18 | 19 - 21 | ≥ 22 | ≥ 2 | 1 | ≤ 0,5 |
| Amikacine | 30µg | ≤ 14 | 15 – 16 | ≥ 17 | ≥ 64 | 32 | ≤ 16 |
| Gentamicine | 10µg | ≤ 12 | 13 – 14 | ≥ 15 | ≥ 16 | 8 | ≤ 4 |
| Acide nalidixique | 30µg | ≤ 13 | 14 – 18 | ≥ 19 | ≥ 32 | --- | ≤ 16 |
| Ciprofloxacine | 5µg | ≤ 15 | 16 – 20 | ≥ 21 | ≥ 4 | 2 | ≤ 1 |
| Chloramphénicol | 30µg | ≤ 12 | 13 – 17 | ≥ 18 | ≥ 32 | 16 | ≤ 8 |
| Colistine** | CMI | ----- | ----- | ----- | >2 | ----- | ≤2 |
| Furanes | 300µg | ≤ 14 | 15 – 16 | ≥ 17 | ≥ 128 | 64 | ≤ 32 |
| Fosfomycine | 200µg | ≤ 12 | 13 – 15 | ≥ 16 | ≥ 256 | 128 | ≤ 64 |
| Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole | 1.25/ 23.75µg | ≤ 10 | 11 – 15 | ≥ 16 | ≥ 4/76 | ----- | ≤ 2/38 |

Annexes

Tableau XII : Antibiotiques testés, valeurs critiques des diamètres de zone d'inhibition et CMI pour *Pseudomonas aeruginosa* (Benslimani et Benamrouche, 2014)

| Antibiotiques testés | Charge des disques | Diamètres critiques (mm) | | | CMI critiques (µg/ml) | | |
|---------------------------------|--------------------|--------------------------|---------|------|-----------------------|-------------|--------|
| | | R | I | S | R | I | S |
| Ticarcilline | 75 µg | ≤ 15 | 16 - 23 | ≥ 24 | ≥ 128 | 32 - 64 | ≤ 16 |
| Ticarcilline + ac. clavulanique | 75/10µg | ≤ 15 | 16 - 23 | ≥ 24 | ≥ 128/2 | 32/2 - 64/2 | ≤ 16/2 |
| Pipéracilline | 100 µg | ≤ 14 | 15 - 20 | ≥ 21 | ≥ 128 | 32 - 64 | ≤ 16 |
| Céftazidime | 30 µg | ≤ 14 | 15 - 17 | ≥ 18 | ≥ 32 | 16 | ≤ 8 |
| Aztréonam | 30 µg | ≤ 15 | 16 - 21 | ≥ 22 | ≥ 32 | 16 | ≤ 8 |
| Imipénème | 10 µg | ≤ 15 | 16 - 18 | ≥ 19 | ≥ 8 | 4 | ≤ 2 |
| Amikacine | 30 µg | ≤ 14 | 15 - 16 | ≥ 17 | ≥ 64 | 32 | ≤ 16 |
| Gentamicine | 10 µg | ≤ 12 | 13 - 14 | ≥ 15 | ≥ 16 | 8 | ≤ 4 |
| Nétilmicine | 30 µg | ≤ 12 | 13 - 14 | ≥ 15 | ≥ 32 | 16 | ≤ 8 |
| Tobramycine | 10 µg | ≤ 12 | 13 - 14 | ≥ 15 | ≥ 16 | 8 | ≤ 4 |
| Ciprofloxacine | 5µg | ≤ 15 | 16 - 20 | ≥ 21 | ≥ 4 | 2 | ≤ 1 |
| Lévofloxacine | 5µg | ≤ 13 | 14 - 16 | ≥ 17 | ≥ 8 | 4 | ≤ 2 |
| Fosfomycine** | --- | --- | ---- | --- | --- | ---- | --- |
| Colistine | 10µg | ≤ 10 | ---- | ≥ 11 | ≥ 8 | 4 | ≤ 2 |

Tableau XIII: Antibiotiques testés, valeurs critiques des diamètres de zone d'inhibition et CMI pour *Acinetobacter baumannii* (Benslimani et Benamrouche, 2014)

| Antibiotiques testés | Charge des disques | Diamètres critiques (mm) | | | CMI critiques (µg/ml) | | |
|---------------------------------|--------------------|--------------------------|---------|-------|-----------------------|-----------|--------|
| | | R | I | S | R | I | S |
| Ticarcilline | 75 µg | ≤ 14 | 15 - 19 | ≥ 20 | ≥ 128 | 32-64 | ≤ 16 |
| Ticarcilline + ac.clavulanique | 75/10µg | ≤ 14 | 15 - 19 | ≥ 20 | ≥ 128/2 | 32/2-64/2 | ≤ 16/2 |
| Pipéracilline | 100 µg | ≤ 17 | 18 - 20 | ≥ 21 | ≥ 128 | 32-64 | ≤ 16 |
| Céftazidime | 30 µg | ≤ 14 | 15 - 17 | ≥ 18 | ≥ 32 | 16 | ≤ 8 |
| Imipénème | 10 µg | ≤ 18 | 19 - 21 | ≥ 22 | ≥ 8 | 4 | ≤ 2 |
| Amikacine | 30 µg | ≤ 14 | 15 - 16 | ≥ 17 | ≥ 64 | 32 | ≤ 16 |
| Gentamicine | 10 µg | ≤ 12 | 13 - 14 | ≥ 15 | ≥ 16 | 8 | ≤ 4 |
| Tobramycine | 10 µg | ≤ 12 | 13 - 14 | ≥ 15 | ≥ 16 | 8 | ≤ 4 |
| Nétilmicine | CMI | ---- | ---- | ---- | ≥ 32 | 16 | ≤ 8 |
| Ciprofloxacine | 5µg | ≤ 15 | 16 - 20 | ≥ 21 | ≥ 4 | 2 | ≤ 1 |
| Lévofloxacine | 5µg | ≤ 13 | 14 - 16 | ≥ 17 | ≥ 8 | 4 | ≤ 2 |
| Doxycycline | 30µg | ≤ 9 | 10 - 12 | ≥ 13 | ≥ 16 | 8 | ≤ 4 |
| Triméthoprime+ sulfaméthoxazole | 1.25/23.75µg | ≤ 10 | 11 - 15 | ≥ 16 | ≥ 4/76 | ---- | ≤ 2/38 |
| Colistine | CMI | ----- | ----- | ----- | ≥ 4 | ----- | ≤ 2 |

Annexes

Tableau II: Classification des antibiotiques

| Famille | | Antibiotiques | Spectre antibactérien |
|--|---|--|---|
| Bêta-lactamines (Permuter et Permuter. 2007) | Pénames (Pilly, 2008) | Pénicilline G et V | bactéries à gram positif et cocci à gram négatif |
| | | Aminopénicilline : ampicilline et amoxicilline | Bacilles gram négatif |
| | | Méthylpénicilline : oxacilline et méticilline | Cocci gram positif |
| | | Ureidopénicilline : pipéracilline | Bacilles gram négatif |
| | | Carboxypénicilline : ticarcilline | BGN et les Entérobactéries productrice de C3G |
| | Céphèmes (Pilly, 2008) | C1G : céfazoline | Cocci a gram positif |
| | | C2G : céfoxitine | Cocci a gram positif et BGN |
| | | C3G : céftazidime et céfotaxime | Large spectre |
| | | C4G : céfépime(Branger, 2007). | |
| | carbapénèmes | imipénème, ertapénème et méropénème | Cocci Gram positif et négatif, aérobies et anaérobies |
| monobactame | Aztréoname | BGN | |
| Aminosides (Pilly, 2008) | gentamicine, amikacine, kanamycine, tobramycine, streptomycine, netilmicine | Les bactéries à Gram positif et négatif sauf les Streptocoques | |
| Macrolides et apparentés (Guimenez et <i>al.</i> , 2002) | Erythromycine, clindamycine, pristinamycine | Cocci à gram positif et négatif et bacilles à gram positif | |
| Quinolones et fluoroquinolones (Yaméogo, 2006) | acide nalidixique, oflaxacine, ciprofloxacine, levofloxacine | les Entérobactéries, cocci à gram positif, <i>Acinetobacter</i> , <i>P. aeruginosa</i> et bactéries à Gram positif (Sanou, 2012) | |
| Tétracyclines | tétracycline | bactéries à développement | |

Annexes

| | | |
|---------------------------------------|---------------------------|--|
| (Sanou, 2012) | | intracellulaire et bactéries à gram positif et négatif |
| Phénicolés (Sanou, 2012) | chloramphenicol | Bactéries à gram positif et négative |
| Nitro-imidazolés | Imidazole | les bactéries anaérobies strictes |
| Glycopeptides (Sanou, 2012) | Vancomycine, teicoplanine | Etroit : bactéries à Gram positif |
| Sulfamides et triméthoprim | cotrimoxazole | les bactéries à gram positif et négatif |
| Nitrofuranes | Nitrofurane | les Entérobactéries |
| Polymyxines | colistine | Bacilles à gram négative (Singleton, 2005) |

Glossaire

Glossaire

Thrombus : Corps obtenu après coagulation du sang, de consistance à moitié solide, de nature spongieuse et constitué par une variété de protéine : la fibrine contenue dans le sang.

Métastase septique : qui n'ont rien à voir avec le cancer, mais donnent cette idée que les bactéries issues d'un foyer peuvent coloniser une autre partie du corps.

Les ganglions mésentériques : sont des ganglions lymphatiques disposés autour des vaisseaux qui irriguent et drainent les viscères (tube digestif) et les organes intestinaux.

La prothrombine : désigne une protéine qui intervient dans le cadre de la coagulation sanguine.

La thrombophlébite : ou thrombose veineuse profonde, est un trouble de la circulation provoqué par la formation d'un caillot sanguine dans une veine profonde d'un membre.

La mucoviscidose : est une maladie génétique et héréditaire qui touche les cellules qui tapissent différents organes tels que les voies respiratoires, le tube digestif, les glandes sudorales en altérant leurs sécrétions (mucus, sueur, etc.).