

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB – BLIDA 1–



FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

Thèse d'exercice de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en
Pharmacie

Session : juillet 2021

BMR impliquées dans les infections diagnostiqués aux laboratoire central
de CHU Blida chez les sujets hospitalisés (etude prospective)

Présentée par :

- **BOUCHALI Mohammed Elamin.**
- **KLAAI Brahim.**

Encadrée par :

**Dr : M. BENAMARA , Maitre-Assistant en Microbiologie CHU
BLIDA Unité Frantz Fanon.**

Devant le jury :

Président : Dr. S. AZROU , Maitre-Assistante en Microbiologie.

Examineur : Dr. G. OUCIF , Maitre-Assistante en Microbiologie.

2020-2021

REMERCIEMENTS

Tout d'abord on Remercie **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la santé, la volonté et surtout la patience pour pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous souhaitons exprimer aussi notre gratitude à l'ensemble de l'équipe pédagogique et administrative du département de pharmacie de la faculté de médecine de l'université de Blida 1.

Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à notre promotrice Docteur **BENAMARA Mounia**, qui n'a ménagé aucun effort pour que ce mémoire puisse voir le jour, Merci chère Docteur pour votre disponibilité, votre tolérance, votre orientation et vos conseils. Vous avez valorisé notre thèse par un thème minutieusement choisi, ce qui nous a permis non seulement d'acquérir beaucoup de connaissances mais aussi de nous rappeler que la conscience professionnelle et l'intérêt du patient sont la première priorité de notre travail, Veuillez croire Docteur à l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre grand respect.

Nous remercions également les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger notre soutenance.

Nous souhaitons vous exprimer ici aux Dr AZROU.S et au Dr OUCIF.G notre gratitude pour avoir examiné et évalué cette thèse.

Un grand merci aussi à l'ensemble du personnel du laboratoire du CHU Frantz fanon à leur tête madame le professeur ABDI.

Un remerciement particulier à Madame TAFET.A ; qui nous a orienté et accompagné tout au long de notre travail expérimentale au sein de l'unité de microbiologie.

On conclut en remerciant toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation et à l'aboutissement de ce modeste travail.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

A mon pilier, mon guide, mon exemple, mon repère dans la vie.

A la personne qui m'a toujours soutenu, guider

A mon cher père **KLAAI ABDELKADER**

A la personne qui ma donné la vie, l'amour et la générosité.

A la source de mes efforts,

A ma mère que j'adore **K.GUELLABE**

A mon cher frère **MOHAMMED** et mes chères sœurs, qui m'ont
toujours

Encouragé et aider tout au long de mon parcours avec beaucoup

De tendresse et d'affection.

A toute ma famille paternelle et maternelle (**KLAAI** et **GUELLABE**)

A mon binome **BOUCHLI MOHAMMED ELAMIN** pour sa patience et sa
Compréhension

Une dédicace particulière pour mes enseignants, mes collègues et mes
Amies

A tous ceux qui ont contribuén de prés ou de loin à finaliser ce travail.

Je vous dis merci

Enfin, à tous ceux qui m'aiment.

KLAAI BRAHIM

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

A mon pilier, mon guide, mon exemple, mon repère dans la vie.

A la personne qui m'a toujours soutenu, guider

A mon cher père **BOUCHALI HAMIDE**

A la personne qui ma donné la vie, l'amour et la générosité.

A la source de mes efforts,

A ma mère que j'adore **M.KASRI**

A mes chers frères **AKRAM, ABDELBASSET** et le petit **AYOUB**

et ma chère sœur, qui m'ont toujours

Encouragé et aider tout au long de mon parcours avec beaucoup

De tendresse et d'affection.

A toute ma famille paternelle et maternelle (**BOUCHALI** et **KASRI**)

A mon binome **KLAAI BRAHIM** pour sa patience et sa compréhension

Une dédicace particulière pour mes enseignants, mes collègues et mes
Amies

A tout ceux qui ont contribuén de prés ou de loin à finaliser ce travail.

Je vous dis merci

Enfin, à tous ceux qui m'aiment.

BOUCHALI MOHAMED EL AMIN

RÉSUMÉ

Les infections liées aux soins hospitaliers, causées par les bactéries multi-résistantes (BMR) constituent un véritable problème de santé publique.

Le but de notre travail est d'évaluer le taux des bactéries multi-résistantes à l'origine d'infections chez le sujet hospitalisé et diagnostiqué au niveau du laboratoire central du CHU Blida.

Nous avons mené une étude Prospective s'étalant sur une période de 03 mois allant du 01 Janvier au 31 Mars 2021 , durant cette période nous avons analysés et traités avec l'équipe de travail de l'unité de microbiologie du laboratoire centrale du CHU Blida 1288 prélèvements provenant de différents services, 256 (19.88 %) sont revenus positifs ,

La plupart des BMR soit un taux de 26,92 % (21/78) étaient issues de prélèvements adressés du Centre anticancer de Blida

25.32% (78 / 256) des bactéries incriminées dans les infections diagnostiquées chez le sujet hospitalisés étaient des BMR.

55.13% (43 / 78) des BMR détectées appartenaient à la famille des entérobactéries.

Sur 78 bactéries multirésistantes aux antibiotiques 11 étaient des bactéries hautement résistantes émergentes

La sensibilité aux glycopeptides était conservée chez les souches de *Staphylococcus aureus*.

La surveillance et la lutte contre la Multi-résistance Bactériennes est la responsabilité de tous et doit être en priorité.

Mots Clés :

Bactérie multi-résistante - Entérobactéries -Bactérie hautement résistante émergente -Centre anti Cancer.

نبذة مختصرة:

تشكل العدوى المرتبطة بالرعاية في المستشفى ، والتي تسببها البكتيريا ذوات المقاومة المتعددة ، مشكلة صحية عامة حقيقية.

الهدف من عملنا هو تقييم معدل البكتيريا المقاومة المتعددة المسببة للعدوى عند المرضى الذين تم إدخالهم إلى المستشفى وتم تشخيصهم في المختبر المركزي في لوحة الميكروبيولوجيا بالبيدة.

لقد أجرينا دراسة استباقية تمتد على فترة 3 أشهر من 1 يناير إلى 31 مارس 2021 ، خلال هذه الفترة قمنا بتحليل وعلاج بإشراف فريق عمل وحدة الأحياء الدقيقة في المختبر المركزي في 1288 عينة من أقسام مختلفة ، 256 (19.88%) كانت موجبة حيث تم عزل 78 سلالة بكتيرية متعددة المقاومة.

تم تسجيل معظم حالات المقاومة من عينات مرسله من مركز مكافحة السرطان.

25.32% من البكتيريا المسجلة في العدوى التي تم تشخيصها في المستشفى كانت ذوات مقاومة متعددة.

Enterobacteriaceae 55.13% من معدلات الأيض الأساسي المكتشفة تنتمي إلى عائلة

من بين 78 بكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية ، كان 11 منها على دراية ببكتيريا ناشئة عالية المقاومة (البكتيريا المعوية التي تنتج الكاربابينيماتز والمكورات المعوية المقاومة للجلوكوببتيدات).

. تم الحفاظ على الحساسية تجاه الغليكوبيبتيد في سلالات *Staphylococcus aureus*

يجب أن تكون المراقبة ومحاربة المقاومة البكتيرية المتعددة أولوية.

الكلمات الدالة :

البكتيريا متعددة المقاومة – المعوية – البكتيريا الناشئة عالية المقاومة – مركز مكافحة السرطان.

ABSTRACT:

Infections linked to hospital care, caused by multi-resistant bacteria (BMR) constitute a real public health problem.

The aim of our work is to assess the rate of multi-resistant bacteria causing infections in patients hospitalized and diagnosed at the central laboratory of CHU Blida.

We conducted a Prospective study spanning a period of 03 months from January 01 to March 31, 2021, during this period we analyzed and treated with the work team of the microbiology unit of the central laboratory of CHU Blida 1288 samples from different departments, 256 (19.88%) came back positive, from which 78 multi-resistant bacterial strains were isolated.

Most of the BMRs came from samples sent from the Cancer Center.

25.32% of the bacteria implicated in the infections diagnosed in the hospitalized subject were BMR.

55.13% of BMRs detected belonged to the Enterobacteriaceae family.

Out of 78 bacteria resistant to antibiotics 11 were aware of emerging highly resistant bacteria (enterobacteriaceae producing carbapenemases and enterococcus resistant to glycopeptides).

Sensitivity to glycopeptides was preserved in *Staphylococcus aureus* strains.

The surveillance and the fight against Bacterial Multi-resistance must be a priority.

Keywords :

Multi-resistant bacteria - Enterobacteriaceae - Emerging highly resistant bacteria
- Anti Cancer Center.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification des antibiotiques selon leurs mécanismes d'action.

Tableau 02 : Résultat des tests d'orientation pour l'identification bactérienne.

Tableau 03 : les valeurs critiques de diamètre d'inhibition et des CMI des C3G pour les *Entérobactéries* selon les recommandation des CLSI.

Tableau 04 : les valeurs critiques de diamètre d'inhibition et des CMI des carbapénème pour les *Entérobactéries* selon les recommandation des CLSI.

Tableau 05 : les valeurs critiques de diamètre d'inhibition de Céftazidime, l'imipénème et Ciprofloxacine pour les *P. aeruginosa* et *A.baumannii* selon les recommandation des CLSI.

Tableau 06 : les valeurs critiques de diamètre d'inhibition de Céfoxitine pour *Staphylococcus aureus* selon les recommandation des CLSI.

Tableau 07 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus spp.*

Tableau 08: repartition des souches isolées selon les services d'hospitalières.

Tableau 09 : repartition des germes isolées selon le type de traitement .

Tableau 10 : repartition des germes BMR isolées et leur taux .

Tableau 11 : repartition des BMR selon le sexe du patient .

Liste des figures

Figure 01 : Structure de bactérie.

Figure 02 : Coloration de Gram d'*Escherichia coli* sous microscope optique (100X).

Figure 03 : L'aspect d'Entérobactérie sous un microscope électronique.

Figure 04 : Coloration de Gram d'*Acinetobacter baumannii* sous microscope optique (100X).

Figure 05 : L'aspect d'*Acinetobacter baumannii* sous un microscope électronique.

Figure 06 : Coloration de Gram de *Pseudomonas aeruginosa* sous microscope optique (100X).

Figure 07 : L'aspect de *Pseudomonas aeruginosa* sous microscope électronique.

Figure 08 : Coloration de Gram de *Staphylococcus aureus* sous microscope optique (100X).

Figure 09 : L'aspect de *Staphylococcus aureus* sous un microscope électronique.

Figure 10 : Coloration de Gram d'Entérocoque sous microscope optique (100X).

Figure 11 : L'aspect d'Entérocoque sous un microscope électronique.

Figure 12 : cibles de l'action des antibiotiques.

Figure 13 : la résistance bactérienne aux ATB.

Figure 14 : Séchoir des milieux de culture.

Figure15 : Bain marie.

Figure 16: Utive pour l'incubation des cultures bactériennes.

Figure 17 : tube et l'écouvillon stérile.

Figure 18 : tubes stériles dans la portoir.

Figure 19 : gélose nutritive.

Figure 20 : L'étude de la sensibilité à l'ATB par un antibiogramme standard.

Figure 21 : Des souches BLSE positive identifié par le test de synergie (bouchon de champagne).

Figure 22 : Test de double disque avant l'incubation.

Figure 23 : Test de double disque après l'incubation.

Figure 24 : L'étude de la sensibilité aux carbapénèmes par le test de hodge modifié. Avant l'incubation.

Figure 25 : L'étude de la sensibilité aux carbapénèmes par le test de hodge modifié. Après l'incubation.

Figure 26 : test de confirmation (TDD) pour *P.aeruginosa*.

Figure 27: Récapitulatif des résultats globaux de l'étude..

Figure 28: schéma représente la répartition des prélèvements selon leur nature

Figure 29 : répartition des prélèvements en culture positif et négative .

Figure 30 : répartition des prélèvements positifs reçus selon les types des prélèvements .

Figure 31 : Répartition des différentes BMR détectées .

Figure 32 : répartition des BMRs selon les services .

LISTES DES ABREVIATIONS

µm: micro mètre.

ABMR: *Acinetobacter baumannii* multirésistant.

ADN: Acide Désoxyribonucleique.

AMC: Amoxicilline + acide clavulanique .

AmpC: Adénosine monophosphate cyclique

API 20E : Analytical Profile Index 20 Entérobactérie.

ATCC : American Type Culture Collection

ATB : Antibiotique .

AZT : Aztréoname.

BGN : Bacille à Gram négatif .

BHRe: Bactéries Hautement Résistante Émergeante .

BHIB : Brain Heart Infusion Broth.

BMR: Bacterie MultiRésistantes.

CAC : Centre Anti Cancer.

C2G : Céphalosporine de deuxième Génération.

C3G : Céphalosporines de troisième Génération .

C4G : Céphalosporine de 4eme Génération.

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

CAZ : Ceftazidime .

CGP : Cocci à Gram positif.

CLSI : Clinical and Laboratory standards Institute .

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice .

CTX : Céfotaxime.

° C : Degrés Celsius.

DCI : Dénomination Commun International

E .coli : Escherichia coli.

EBLSE : Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi.

EBRC3G : Entérobactérie Résistant au C3G.

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines.

EDTA : acide éthylène diamine Tétracétique .

EPC : Entérobactérie productrice de carbapénémase .

ETP : Ertapénème .

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

ERG: enterocoque Résistant aux glycopeptides.

ERV : Enterocoque résistant à la vancomycine .

GSC : Gélose au Sang Cuit.

HC : Hémoculture.

HK : Hecktoen .

HIA : Heart Infusion Agar

IPM : Imipénème .

KT : prélèvement du cathéter.

LCR : Liquide céphalo-rachidien.

LP : Liquide de Ponction.

LPS : Lipopolysaccharide .

MBL : Métallo-bêta-lactamase .

McF : Macfarland .

MH : Mueller Hinton .

PAMR : Pseudomonas aeruginosa multirésistant.

MCR-1 : mélanocortine récepteur-1.

PDP : Prélèvement distale Protege.

PEtN : Phosphoéthanolamine

PLP : Protéine Liant la Pénicilline.

R : Résistante.

S : Sensible.

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la métiline .

TCC : Ticarcilline + Acide clavulanique .

TH: test de Hodge.

TSA : Tryptone Soy Agar (Gélose Tryptone Soja).

TSA : Tryptone Soy Agar (Gélose Tryptone Soja).

TDD : Test de Double Disque.

USI : Unité de soins intensifs .

VP : reaction de Voges Proskauer

XDR : Extensively Drug-Résistant

Glossaire

- . **ADN chromosomique** : Une macromolécule biologique présente dans toutes les cellules et constitue le support des informations génétiques.
- . **ADN extra-chromosomique (plasmide)** : C'est une molécule d'ADN transmissible qui présente chez certaines bactéries.
- . **Adhésine** : Protéine permet la liaison spécifique des glucides.
- . **Affection Intercurrente** : Une affection intercurrente ou maladie intercurrente est une maladie survenant au cours d'une autre maladie, soit en venant aggraver la première, soit en s'y ajoutant.
- . **Bactéricide** : Une substance dit bactéricide lorsqu'elle tue les bactéries.
- . **Bactériostatique** : Substance qui a la propriété d'inhiber la multiplication des bactéries sans les tuer.
- . **Capsule** : L'enveloppe qui entoure la paroi de certaines bactéries.
- . **Comorbidité** : Présence simultanée chez quelqu'un de plusieurs troubles ou de plusieurs diagnostics, pouvant découler d'une maladie initiale.
- . **Ciliature Péritriche** : est un système de flagelles recouvrant de tous côtés la surface d'une bactérie, permettant à la bactérie de se déplacer en tournoyant dans le milieu liquide.
- . **Commensale** : Qualifie les micro-organismes qui colonisent l'organisme (généralement la peau ou les muqueuses) sans provoquer de maladie.
- . **Cytobactériologie** : est l'étude des cellules, des microbes et déchets des cellules contenues dans le liquide prélevé dans l'organisme.
- . **Diffusion** : Phénomène par lequel deux ou plusieurs fluides en contact acquièrent une répartition homogène.
- . **Emergence** : Apparition de nouvelles propriétés.
- . **Endémie** : Présence habituelle d'une maladie dans une région déterminée.
- . **Gélose Cétrimide** : est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et l'identification présomptive de *Pseudomonas aeruginosa*.
- . **In vitro** : En éprouvette, au laboratoire, en dehors de l'organisme vivant.

- . **Inoculum** : Echantillon contenant des germes vivants, destiné à être introduit au sein d'un milieu favorable à la multiplication.
- . **Mucoviscidose** : Affection héréditaire, caractérisée par une trop grande viscosité des sécrétions bronchiques et digestives.
- . **Nosocomial** : Se dit d'une maladie infectieuse contractée dans un établissement de santé et affectant soit le malade du fait de son admission ou des soins qu'il a reçus, soit le personnel hospitalier du fait de son activité.
- . **Opportuniste** : germe normalement présente dans l'organisme sans l'affecter, mais qui peut provoquer une maladie à la suite d'une diminution des défenses de l'organisme .
- . **Organoleptique** : Qui agit sur la perception sensorielle, par exemple pour les aliments : goût, odeur, couleur, aspect, consistance...
- . **Peptidoglycane** : Polymère de la paroi des bactéries, constitué de longues chaînes de dérivés glucidiques reliées par des unités tétrapeptidiques.
- . **Perméabilité** : la perméabilité d'un milieu poreux mesure son aptitude à se laisser traverser par un fluide sous l'effet d'un gradient de pression ou d'un champ de gravité.
- . **Phénotype** : Le phénotype décrit les caractères observables d'un individu, il dépend de l'expression des gènes (génotype) et de l'environnement.
- . **Porine** : sont des protéines membranaires formant des canaux permettant la diffusion de petites molécules hydrophiles à travers la membrane des cellules .
- . **Pression de sélection** : un phénomène qui se traduit par évolution des espèces vivantes soumises à certaines contraintes environnementales.
- . **Procaryote** : Est un organisme unicellulaire qui ne possède pas de noyau.
- . **Pyocyanique** : Qualifie le bacille *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la synthèse de la pyocyanine et d'infections provoquant suppuration et de surinfection de plaies et de brûlures.
- . **Pigments** : Substance colorante généralement insoluble et se fixant à la surface du support sur lequel on l'applique.
- . **Résistance naturelle (Résistance intrinsèque)** : est le caractère de toutes les souches d'une même espèce bactérienne vis-à-vis d'un antibiotique donnée.

- . **Résistance acquise** : est le caractère acquis par certaines souches bactériennes préalablement sensibles vis-à-vis d'un antibiotique donné.
- . **Sérotype** : Ensemble des caractéristiques de certains micro-organismes (bactéries, virus...) permettant de différencier des souches appartenant à une même espèce.
- . **Spore** : est une structure qui se forme au sein du cytoplasme de certaines espèces des bactéries lorsque les conditions environnementales sont défavorables.
- . **Synergie** : est un type de phénomène par lequel plusieurs facteurs agissant en commun ensemble créent un effet global.
- . **Système d'efflux** : est un mécanisme de transport actif par lequel les cellules rejettent à l'extérieur des composés toxiques.
- . **Ubiquitaire** : est la capacité d'être présent en tout lieu ou en plusieurs lieux simultanément.

- **Résumé**
- **Liste des tableaux.**
- **Liste des figures.**
- **Liste des abréviations.**
- **Glossaire.**

Table de matière

Introduction:	1
---------------------	---

Chapitre I : Rappel Bactériologique

I.1- Généralités et définitions :.....	4
I.1.1- Bactéries.....	4
I.1.1.1- Eléments constants :.....	4
I.1.1.2- Eléments facultatifs :.....	5
I.1.2- Caractères bactériologiques des principales bactéries impliquées en pathologie infectieuse humaine :.....	5
I.1.2.1- Les entérobactéries :.....	5
I.1.2.2- Acinetobacter baumannii	7
I.1.2.3: Pseudomonas aeruginosa:.....	10
I.1.2.4- Staphylococcus aureus:	12
I.1.2.5: Les entérocoques:.....	15
I.1.3- les antibiotiques :.....	17
I.1.3.1- Définition :.....	17
I.1.3.2- Mode d'action :.....	17
I.1.3.3- Classification des antibiotiques :.....	18

I.2- La résistance bactérienne aux antibiotiques :.....	22
I.2.1- Résistance bactérienne naturelle :.....	22
I.2.2- Résistance bactérienne acquise :.....	23

Chapitre II :

II.1- Bactérie multi-résistance :.....	26
II. 2. Bactéries Hautement résistants émergentes BHRe.....	27
II. 3. Bactéries Ultra Résistants XDR.....	27
II.4- Bactéries toto-résistantes :	26

Chapitre III :

III.I- Les entérobactéries multi-résistantes:	28
III.1.1- Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3 eme génération :	28
III.1.2- Les entérobactéries productrices des bêta-lactamas à spectre étendu (EBLSE) :.....	28
III.1.3- Les entérobactéries productrices des carbapénimases :.....	29
III.1.4- Les entérobactéries résistantes à la colistine :.....	30
III.2- <i>Acinetobacter baumannii</i> multi-résistants.....	30
III.2.1- <i>A.baumannii</i> résistante aux céphalosporines de 3 eme génération :	31
III.2.2- <i>A.baumannii</i> résistante aux carbapénèmes :.....	31
III.2.3- <i>A.baumannii</i> résistante à la colistine :	31
III.3- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Multi-Résistant:	32
III.3.1- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistant au beta-lactamine:.....	32
III.3.1.1- Phénotype sauvage:	32
III.3.1.2- Résistance Acquise { souche sensible à la Ceftazidime } :	32

III.3.2- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> résistant à la Céftazidime :	34
III.3.3 - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> productrice de Carbapénèmase :.....	35
III.3.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> résistant à la Colistine :	35
III.4- Staphylocoque multi-resistant:	36
III.4.1- <i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méricilline (SARM) :.....	36
III.4.2- Staphylocoque résistant aux glycopeptides :	37
III.5- Entérocoque résistant à la vancomycine :.....	37

Chapitre IV

IV.1- Mauvaise usage des antibiotiques en médecine humaine :.....	40
IV.1.1- Sur consommation:.....	40
IV.1.2- Transfert des gènes de résistance:.....	41
IV.1.3- Dose Sub optimale:	41
IV.1.4- Recours à la monothérapie:.....	42
IV.2- Usage massive des antibiotiques dans l'élevage (L'élevage et antibioresistance):.....	42

Chapitre V

V.1- Le bon usage des antibiotiques:.....	46
V.2.1- Prévention de la transmission croisée:.....	47
V.2.1.1- Les précautions standard: (PS)	47
V.2.1.2- Les précautions complémentaires « contact »:.....	48
V.2.1.3- les mesures maximales « search and isolate »:.....	49
PARTIE PRATIQUE.....	50
Présentation de l'étude :	51

I.1- Type, durée et lieu de l'étude :	51
I.2- Critères d'inclusion :	51
I.3- Critères d'exclusions : On été exclus :	52
Matériels et méthodes :	52
II.1- Matériels :	52
II.1.1- Matériel biologique :	52
II.1.2- Matériel non biologique :	52
II.2- Méthodes :	55
II.2.1- Recueil des données :	55
II.2.2- isolement et identification des bactéries :	55
II.2.2.1- Isolement des bactéries incriminées:	55
II.2.2.2- Identification des bactéries :	56
II.2.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques :	57
II.2.3.- L'antibiogramme par diffusion des disques :	57
II.2.4- Détection de la résistance au C3G chez les Entérobactéries :	58
II.2.4- Recherche de la production de la BLSE :	58
II.2.5- La détection des entérobactéries résistante aux carbapénèmes :	60
II.2.6- La détection des <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i> résistant à la céftazidime et/ou l'imipinème et/ou ciprofloxacine :	63
II.2.6.1- Recherche des BLSE chez les <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i> :	63
II.2.6.2- Recherche des carbapénémase chez <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i> :	64
II.2.7- La détection des SARM (<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline): ..	65
II.2.8- Recherche de la sensibilité diminuée aux glycopeptide chez <i>Staphylococcus aureus</i> :	65

II.2.9- La détection des entérocoques résistant au vancomycine (glycopeptide) :	66
II.3- Conservation des souches bactériennes par la congélation :	66

RESULTATS ET COMMENTAIRES

PARTIE I:	70
I.1- Nature du Prélèvement:	70
I.2- Taux de Prélèvement de chaque type :	Erreur ! Signet non défini.
I.3- Taux de positivité des cultures bactériennes des différents prélèvements faisant partie de notre échantillonnage:	70
I.4 - Taux de positivité des cultures bactériennes de chaque type de prélèvements :	71
I.5- Distribution des différents prélèvements inclus selon le service expéditeur:	72
I.6- Répartition des germes isolées selon les types de traitement par Genre :	75
PARTIE II :	75
II.1 - Taux de multirésistantes des différentes bactéries :	75
II.2- Répartition des différentes BMR détectées :	76
II.3- Résultats des tests complémentaires renseignant sur les mécanismes de résistances impliqués :	77
II.4- Répartition des germes Multi-résistante selon le sexe :	78
Conclusion	80
BIBLIOGRAPHIE	81

Liste des annexes.....88

ANNEXES.....89

Introduction:

La découverte des antibiotiques, qui ont sauvé tant de vies humaines et amélioré l'espérance de vie nous a fait croire que la bataille contre les infections bactériennes était gagnée. Malheureusement, les infections microbiennes sont devenues parfois récurrentes du fait de l'apparition progressive des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques (Bactéries multirésistantes). (1)

Les bactéries multi-résistantes sont responsables de plusieurs types d'infections et sont parfois à l'origine d'infections à caractère épidémique dans les milieux hospitaliers.

Ces bactéries provoquent chez l'homme des infections plus difficiles à traiter que celles dues à des bactéries non résistantes.

L'adaptation rapide des bactéries multi-résistantes et la propagation de leurs résistances dans les services hospitaliers est un Phénomène complexe. (2)

Cette grave menace n'est plus une prévision, mais bien une réalité dans chaque région du monde.

Au cours de cette thèse, les différents aspects de la résistance bactérienne aux antibiotiques seront abordés, avec tout d'abord une première partie qui relate des généralités sur les bactéries, les antibiotiques et la résistance bactérienne, et le développement de cette dernière et la définition des différentes bactéries multirésistantes.

Dans la deuxième partie une étude pratique portant sur la détection des bactéries multi-résistantes au niveau du laboratoire et une description des infections causées seront présentées.

Objectifs de notre étude est :

- Détection des différentes BMR incriminées en pathologies infectieuses chez les sujets hospitalisés au niveau des services inclus dans notre étude

- Evaluation du taux de BMR parmi les étiologies des infections diagnostiquées chez le sujet hospitalisé

- Détermination des principaux mécanismes de multirésistance ou caractérisation phénotypique.

- Détermination des profils de sensibilité associés aux différentes BMR

-Conseils en antibiothérapie et rôle d'alerte pour Mettre en place les précautions standards et les précautions complémentaires d'hygiène requises afin de limiter la transmission croisé des BMR aux autres patients.

CHAPITRE I
RAPPEL BACTERIOLOGIQUE

I.1- Généralités et définitions :

I.1.1- Bactéries : la bactéries est un organisme vivant microscopique de 0.5 et 10-15 μm , unicellulaire et sans noyau (procaryote) mais possèdent un ADN chromosomique circulaire situé dans le cytoplasme, et parfois de l'ADN extra-chromosomique (plasmide). (3)

La structure des bactéries est relativement simple caractérisée par l'absence de noyau et autres organites (la mitochondrie, réticulum endoplasmique, l'appareil de golgi et chloroplastes): (4)

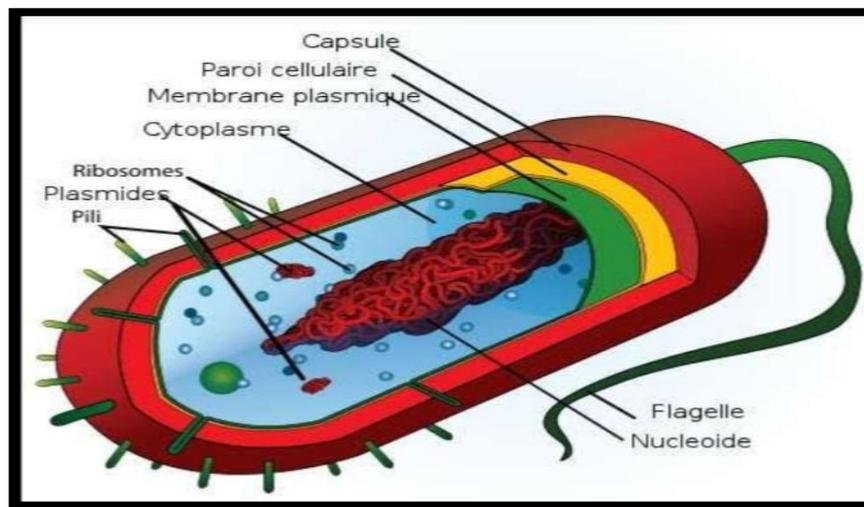


Figure01 : Structure de bactérie. (5)

La bactérie est constituée d'éléments constants et facultatifs :

I.1.1.1- Eléments constants :

- **La paroi** : le peptidoglycane en est le composant principal, elle a une structure complexe varie selon le Gram de la bactérie.(6)
- **La membrane cytoplasmique** : est une bicouche lipidique associée à des protéines.
- **Le ribosome** : est le seule organite du cytoplasme et il est de petit taille.
- **Le génome bactérien** : est le support de l'information génétique, il circule directement dans le cytoplasme. (7)

I.1.1.2- Eléments facultatifs :

- **L'ADN extra-chromosomique (plasmide)** : est une molécule d'ADN non chromosomique capable de répliquer de façon autonome. Il n'est pas essentiel à la survie de la cellule qui le contient. (8)

- **La capsule** : elle est le composant la plus externe de nature polysaccharidique qui joue un rôle très important dans la pouvoir pathogène de certaines espèces bactériennes. (9)

- **Flagelles (cils)** : est un appareil locomoteur constitué d'une flagiline qui se fixe à la surface de la cellule contrairement à les eucaryotes (prolongement du cytoplasme). (10)

- **Les pilis (fimbriae)** : est une structure fibrillaire, rigide et plus fine que des flagelles. Ils constituent de la polymérisation d'une sous-unité polypeptidique (piline) et des polypeptides mineurs (adhésine).

- **Pili communs** : ils attachent les bactéries à la surface des supports.

- **Pili sexuels (facteur F)** : ils sont plus longs et sont codé par des plasmides. (11)

I.1.2- Caractères bactériologiques des principales bactéries impliquées en pathologie infectieuse humaine :

Nous présentons ci après les principaux caractères bactériologiques des bactéries impliquées en pathologie infectieuse humaine et pouvant être à l'origine d'infection associées aux soins

I.1.2.1- Les entérobactéries :

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries Gram négatif, qui sont à l'origine de maladies de gravité très variable, en raison de mécanisme pathogénique distincts.

Cette famille hétérogène se compose d'environ 30 genres et plus de 100 espèces, cependant, tous ces germes ont en commun leur localisation préférentielle au niveau du système digestif, certains faisant partie de la flore normale, bien qu'ils soient également présents dans l'environnement. (12)

les entérobactéries constituent plus de 80% des germes isolés en laboratoire.
(13)

- taxonomie:

- domaine: bacteria.
- phylum: proteobacteria.
- classe: gammabacteriaceae.
- ordre: enterobacterials.
- famille: enterobacteriaceae. (14)

-habitat:

Le nom d'entérobactérie a été donné par ce que ces bactéries sont en générale des hôtes normaux ou pathologique du tube digestif de l'homme et des animaux.(8)

L'environnement (sols et l'eau, végétaux) peut être contaminé par la matière fécale et constitue une source de contamination indirecte.

Cependant, ce caractère ubiquitaire n'est pas général puisque quelques espèces occupent des niches écologiques précises. Par exemple, salmonella typhi n'est retrouvées que chez l'homme. (15)

- caractères bactériologiques:**-caractères morphologiques:**

Les entérobactéries sont des bacilles Gram négatif dont les dimensions varient de 1 à 6 micromètre de longueur et de 0,3 à 1 de largeur.

Elles sont mobiles par une ciliature péritriche ou immobile.

Habituellement non sporulées, elles sont parfois capsulées. (16) (17)



Figure02 : Coloration de Gram d'*Escherichia coli* sous microscope optique (100X).
(18)



Figure03 : L'aspect d'Entérobactérie sous un microscope électronique. (19)

- Caractère cultural:

Bacille gram négatif, aero-anaérobie facultatif, non exigeante. Généralement, ces bactéries poussent dans le gélose ordinaire (colonie bombée, lisse, rond à des bords réguliers 1,5 à 3 mm). Elles résistent à divers composés chimiques (sels biliaires, cristal violet) ce qui est utilisé pour leur culture sélective (un milieu de culture sélectif/indicateur important est le gélose de MacConkey). (20) (21)

- caractères biochimiques:

Les principaux caractères biochimiques en commun aux entérobactéries sont les suivants :

- Oxydase négative, catalase positive.
- Fermente le glucose avec gaz.
- Nitratase positive. (20)

I.1.2.2- *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii est un bacille à Gram négatif non fermentaire. Il s'agit d'une bactérie de l'environnement hospitalier, caractérisée par sa rapidité d'acquisition de mécanismes d'antibiorésistance et leurs accumulations, faisant

de cette bactérie une bactérie multi résistance aux antibiotiques restreignant souvent les possibilités thérapeutiques (22) (23)

Acinetobacter baumannii est un pathogène opportuniste, peu ou pas virulent chez l'individu sain, cependant, la bactérie peut compter sur un certain nombre de facteur de virulence pour se développer chez des patients fragiles.(24)(25)

- taxonomie:

- domaine: bacteria.
- phylum: proteobacter.
- classe: gammaproteobacteria.
- ordre: acinetobacter.
- famille: moraxelaceae.
- genre: acinetobacter. (25)(26)

-habitats:

Bactérie ubiquitaire.

Acinetobacter se trouve principalement dans le sol et de l'eau (douce, marin), les aliments, par fois dans le lait et les produit laitières, elle est très fréquemment isolée s chez l'homme: peau, salive, urine, conjonctive, elle figure parmi les bactéries de la flore résidente normale du revêtement cutané.

Les sources d'infection nosocomiales a *acinetobacter* sont nombreuses (colonise des nombreux matériels), elle peut être véhiculée par les mains du personnel soignant. (24)

- caractères bactériologiques:

- caractères morphologiques:

Acinetobacter baumannii sont des bacilles ou des coccobacilles Gram négatif mais ils peuvent résister partiellement à la décoloration par l'éthanol, c'est pourquoi, sur un même frottis il est fréquent que coexistent des bactéries a gram négatif et a gram positif.

Le diamètre de ces germes est légèrement supérieur à 1µm et leur longueur varie de 1µm (forme coccoïde) à 3-5 µm (forme bacillaires habituelles).

Elles sont immobiles, non sporulé mais parfois capsulés. (27)(7)

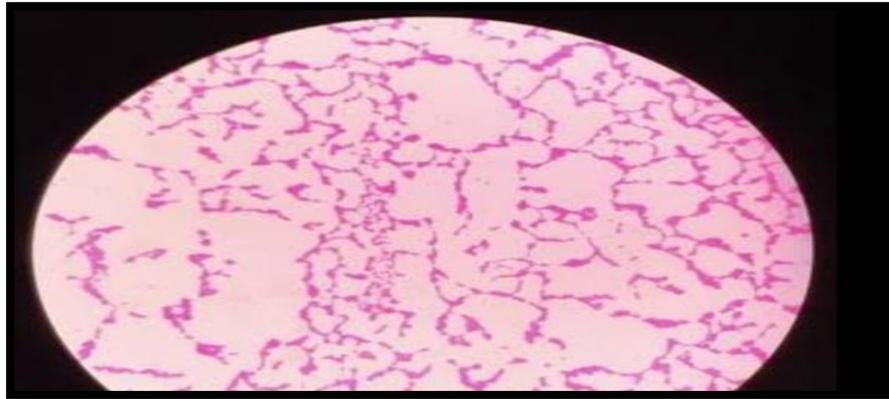


Figure04 : Coloration de Gram d'*Acinetobacter baumannii* sous microscope optique (100X). (28)

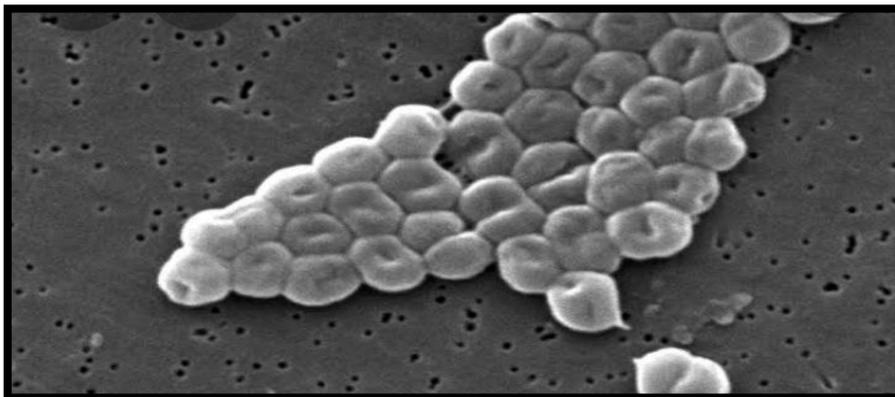


Figure 05 : L'aspect d'*Acinetobacter baumannii* sous un microscope électronique. (29)

- caractère culturaux:

- *Acinetobacter* sont des aérobie stricte.
- Isolement des *acinetobacter* est très aisé.
- Ils poussent sur gélose nutritive (non exigeante)
- Les colonies sont arondes, lisses, borde régulière de 2-3 mm de diamètre.

- Pousse à 37 °C mais la croissance de 41 °C à 44 °C caractérise l'espèce *acinetobacter baumannii*. (20)(15)

- Caractères biochimiques:

- oxydase négative, catalase positive.
- ils utilisent de façon limitée de glucide en tant que source d'énergie.
- thiosulfate réductase négative.
- nitrate réductase négative.
- LDC, ODC, ADH sont négatives. (30)(31)

I.1.2.3: Pseudomonas aeruginosa:

P.aeruginosa est aussi appelé le bacille pyocyanique à cause de pigments qu'il synthétise.

Pseudomonas aeruginosa est l'espèce de ***Pseudomonas*** la plus rencontrée en pathologie infectieuse le plus souvent responsable des infections nosocomiales. (32)(33)

- Taxonomie:

- Règne: Bacteria
- Division : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Pseudomonadales
- Famille : Pseudomonadaceae
- Genre: Pseudomonas (34)

- Habitat:

Bactéries ubiquitaires capables de survivre dans les eaux, surfaces, air, aliments et aussi dans les endroits humides.

En milieu hospitalier *P.aeruginosa* peut être rencontré dans l'environnement proche du malade (35)(36)(37)

Caractères bactériologiques:**- Caractères morphologiques:**

L'espèce *P.aeruginosa* comprend des bacilles en forme de bâtonnet fin de 2 à 4 μm de diamètre, présentent sous forme isolés ou diplobacilles.

Parfois ils sont entourés par une capsule (pseudocapsule, slim), non sporulé et mobile par une flagella polaire ou péritriche. (33)

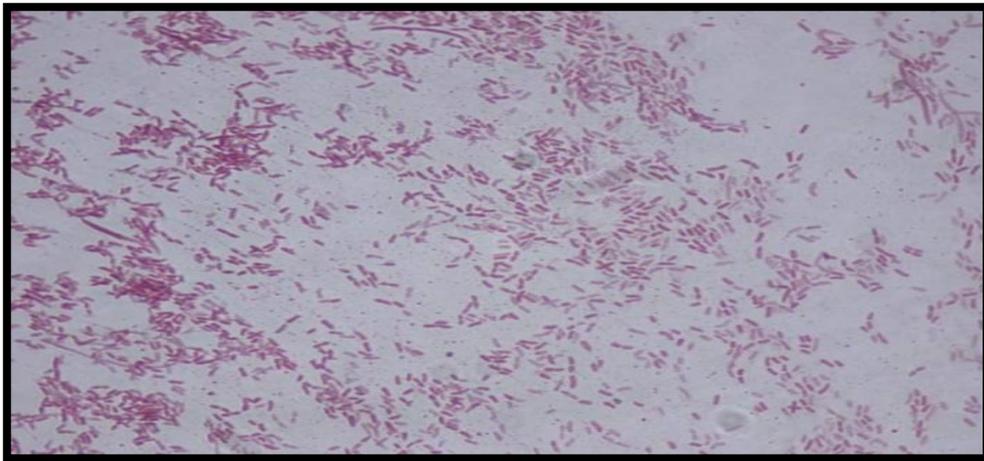


Figure06 : Coloration de Gram de *Pseudomonas aeruginosa* sous microscope optique (100X). (38)



Figure07 : L'aspect de *Pseudomonas aeruginosa* sous un microscope électronique. (39)

- Caractères cultureux:

Pseudomonas aeruginosa sont des bactéries aérobies stricte, non exigeantes et pousse facilement dans les milieux ordinaires et les milieux humides à temperature optimale de 30 à 37°C (mais il pousse à 4°C – 41°C)

L'aspect des colonies est soit large à bord irrégulié et rugueuse ou petite lisse et bombé à bord régulié ou muqueuse bombée et coalescence. (35)(40)(41)(42)

P. aeruginosa et d'autres membres du genre sont connus pour produire divers pigments, y compris la pyoverdine / fluorescéine (un pigment hydrosoluble vert-jaune), pyocyanine (un pigment dérivé de phénazone liposoluble vert-bleu), pyorubine (pigment soluble). (43/44/45)

Parmi les caractéristiques phénotypiques de *P. aeruginosa*, l'odeur caractéristique (46)

- Caractères biochimiques:

- Oxydase positif
- Nitrate réductase positif
- ADH positif
- **Metabolisme non fermentaire.**
- Hydrolyse : Gélatine + / Lécithinase et Uréé variable.
- Acidification: (Glucose, Mannitol, Xylose +) (Tréhalose, Maltose -). (40)(47)

I.1.2.4- Staphylococcus aureus:

Staphylococcus aureus fait partie de la flore commensale de la peau et des muqueuses chez l'homme, de ce fait ils sont fréquemment isolées en bactériologies médicales. (40)

Il Tient une place très important dans les infections communautaires et nosocomiales. (48)

- Taxonomie :

- Famille : Staphylococcaceae.
- Genre : Staphylococcus.
- Espece : *S.aureus*. (49) (50)

- Habitat:

Staphylococcus aureus est une bactérie très répandue dans l'environnement.

Il est souvent présent de manière asymptomatique sur des parties du corps humain telles que la peau, les glandes cutanées et les muqueuses, y compris le nez et les intestins d'individus en bonne santé. (48) (51)

Des études ont montré qu'environ 20% des individus sont des porteurs nasaux persistants de *S.aureus* et environ 30% sont des porteurs intermittents, tandis qu'environ 50% sont des non porteurs (52) (53) (54)

-Caractères bactériologiques :**- caractères morphologiques :**

Staphylococcus aureus sont des cocci qui se présentent en amas (grappe de raisin), ne sont ni capsulé ni sporulé et elles sont immobiles. (49) (50)

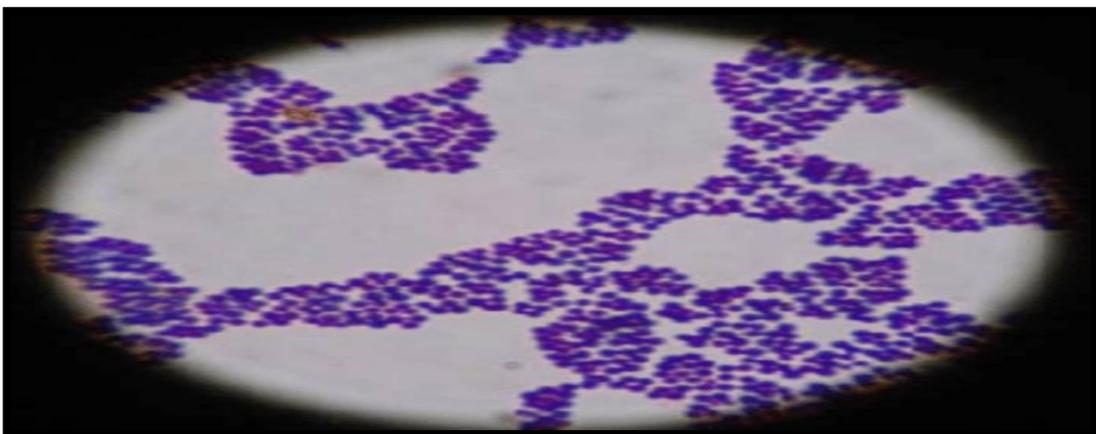


Figure08 : Coloration de Gram de *Staphylococcus aureus* sous microscope optique (100X). (55)

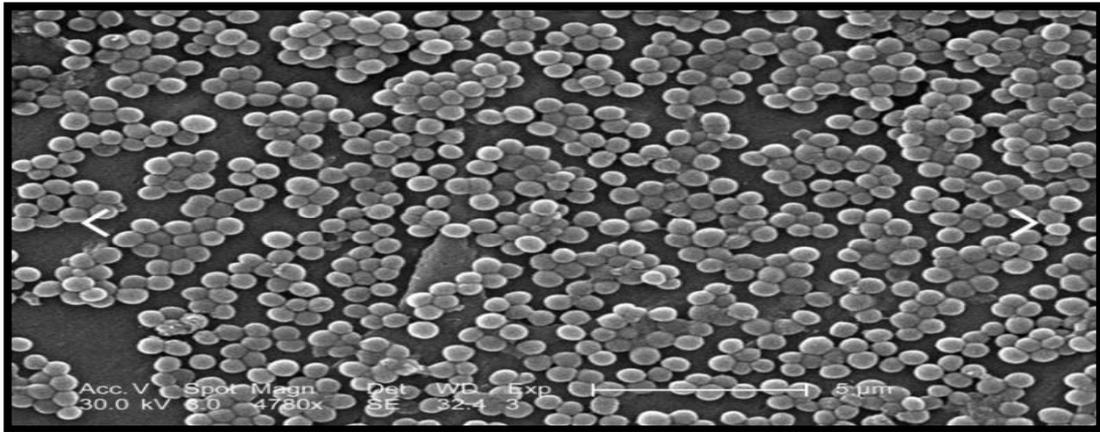


Figure09 : L'aspect de *Staphylococcus aureus* sous un microscope électronique.
(56)

- caractères cultureux :

Bactérie aéro-anaérobie facultative, non exigeante, pousse sur les milieux ordinaires (GN), Chapman à des températures comprises entre 18 °C et 40 °C (Cultivées aussi dans les milieux riches en NaCl).

La culture donne des colonies souvent hémolytiques a aspect crémeuses pigmentées (jaune d'or), mais certaines colonies (les plus petites) poussent plus lentement et ne sont pas hémolytiques et peuvent être exigent en CO₂ et Mannitol.

(40) (53) (54)

- caractères biochimiques :

Le *S.aureus* présente les caractères suivants :

- Oxydase négatif
- Catalase positif
- Dnase **positifs**
- Coagulase libre + / liée + (enzymes provoque la coagulation de plasma)
- Mannitol + (35) (40) (49)

I.1.2.5: Les entérocoques:

Les entérocoques sont des micro-organismes qui ont une remarquable capacité à s'adapter à leur environnement. Cette famille englobe une trentaine d'espèces qui ont longtemps été classées dans le genre des streptocoques au vu de leurs similitudes avec les streptocoques du groupe D.

Deux espèces ont une implication clinique notable, l'*enterococcus faecalis* et l'*enterococcus faecium*, ou le premier se retrouvant plus fréquemment que le second. (57)

- taxonomie :

- domaine: Bacteria.
- phylum: Firmicutes.
- classe: Bacillia.
- ordre: Lactobacillales.
- famille: Enterococaceae. (58)

- Habitat :

Les entérocoques sont de nature ubiquiste, leur capacité d'adaptation à des environnements inhospitaliers permet de les retrouver dans différentes eaux (usées, douces et de mer), dans le sol, sur les végétaux et dans le tractus gastro-intestinal des animaux à sang chaud. (59)

- Caractères bactériologique :**- Caractères morphologiques :**

Les entérocoques se présentent comme des cocci à Gram positif, légèrement ovoïdes, groupés par deux ou plus rarement en courte chaînette de quatre à six éléments. (60)

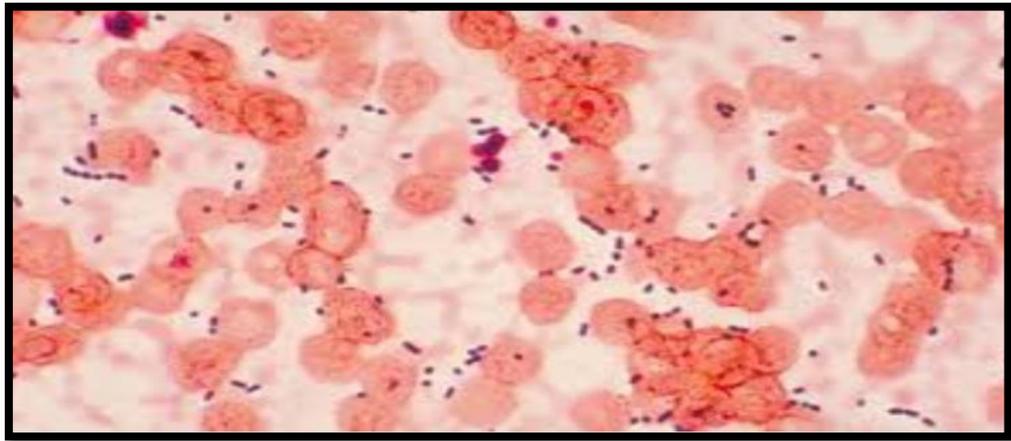


Figure 10 : Coloration de Gram d'Entérocoque sous microscope optique (100X). (61)

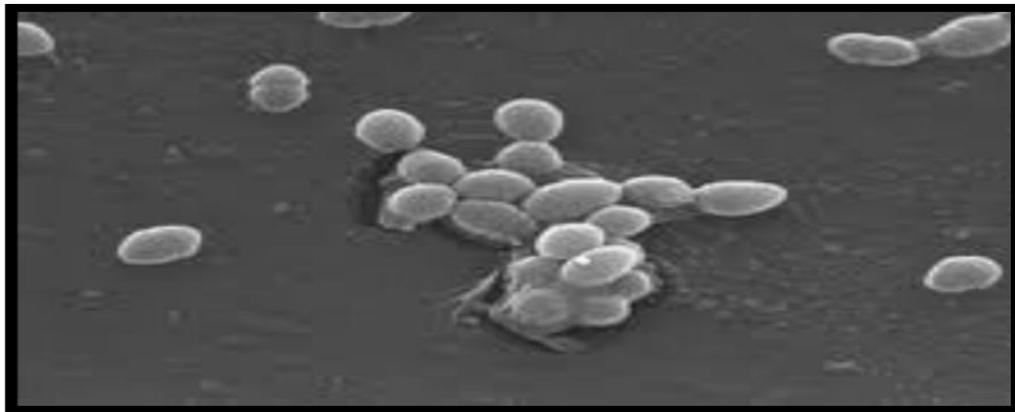


Figure 11 : L'aspect d'Entérocoque sous un microscope électronique. (62)

- **Caractères cultureux** : (non hémolytique)

Leur culture est plus aisée en 24h sur milieux usuels en atmosphère aérobie ou anaérobie. Ils sont comme les streptocoques, catalase négatives. Ils se distinguent des autres streptocoques par plusieurs caractères sélectifs (croissance à 10 et 45C, croissance en bouillon hyper salé, croissance en présence de bile, production de pyrrolidonyl-arylamidase-, hydrolyse de l'esculine).

On peut les isolés de manière sélective en utilisant des milieux bile-esculine du commerce.

La plupart des entérocoques ont un antigène de groupe D et sont donc agglutinables. (60)

- Caractères biochimiques :

- Oxydase et catalase négatives.
- Esculine positif. (63)

I.1.3- les antibiotiques :**I.1.3.1- Définition :**

On appelle antibiotique toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne.
- Activité en milieu organique.
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme.

Selon leur type d'activité, les antibiotiques peuvent être bactériostatiques (en inhibant le développement des bactéries), ou bactéricide (en tuant les bactéries) (56)

I.1.3.2- Mode d'action :

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

- Toxicité sélective au niveau de la :
 - Synthèse de la paroi bactérienne.
 - Membrane cytoplasmique.
 - Synthèse des protéines.
 - Acide nucléiques.

- Inhibition compétitive : l'antibiotique est un analogue structural et interfère avec une fonction essentielle à la bactérie.(64)

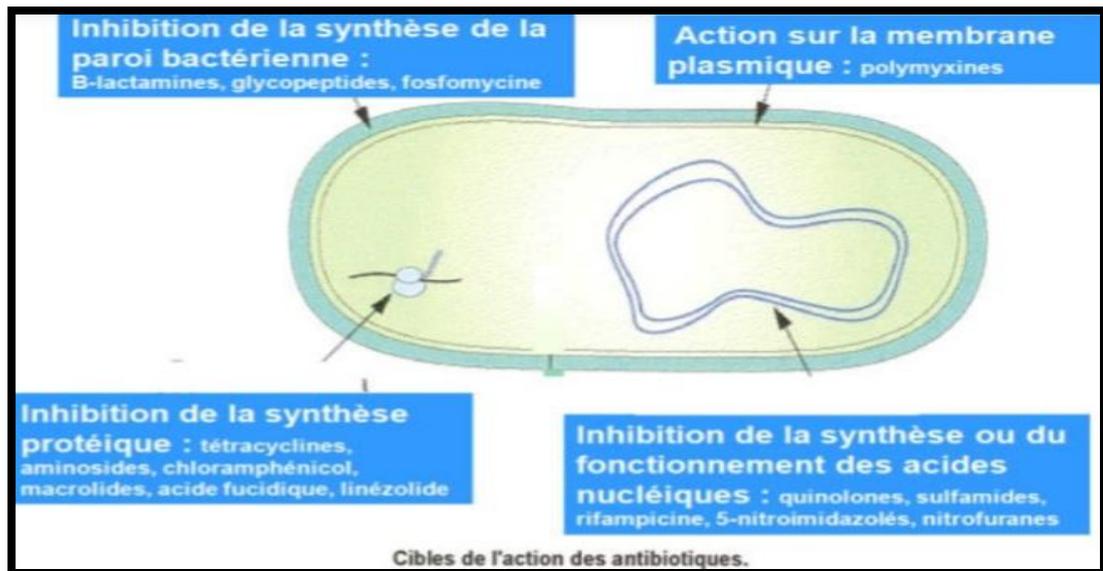


Figure 12 : cibles de l'action des antibiotiques. (65)

I.1.3.3- Classification des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être classés en basant sur différents critères tels que leur origine, leur structure et leur mécanisme d'action.

- Selon leur mécanisme d'action, on peut les classer en quatre classes :
 - les inhibiteurs de la synthèse des constituants de la paroi.
 - les inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques.
 - les inhibiteurs de la synthèse des protéines.
 - les ATB qui agissent par l'altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique (**Fomba, 2006**).
- Selon leurs origines les ATB sont divisés en :
 - Produit naturel élaboré par un organisme.
 - Produit synthétique.
 - Produit semi-synthétique. (66)
- Selon la nature chimique, les ATB sont classés en plusieurs familles :

Les beta-lactamines, les aminosides, les macrolides et apparentés, les polypeptides, les glycopeptides, les cyclines, les quinolones, les phénicoles, les sulfamides et leur apparentés, les nitrofuranes.

- Il existe d'autres ATB qui ne sont pas classé comme : rifampicine, acide fucidique et fosfomycine. (67)

		FAMILLE		DCI	
Inhibiteurs de la synthèse des enveloppes Bactériennes	BETALACTAMINES	Pénicillines	Pénicillines A		Amoxicilline Ampicilline AMC
			Pénicilline G et V		Benzaathine benylpenicilline Benzathine pénicilline Pénicilline G Pénicilline V
			Pénicillines M		Cloxacilline Oxacline
			Carboxypénicillines		Ticarcilline TCC
			Ureidopénicillines		Pipéracilline Pipéracilline+tazobactam
			Aminidopénicillines		Pivmécillinam
			Témocilline		Témocilline
		Carbapénèmes			Ertapénèm Imipénèm + Cilstatine Méropénem
		Monobactame			Aztréonam
		Céphalosporines	Céphalosporines de 1ère Génération		Céfaclor Céfadroxil Céfalexine Céfazoline
			C2G		Céfamandole Céfoxitone Céfuroxime
			C3G	C3G Orales	Céfixime Cefpodoxime Céfodiam
				C3G Injectables	Céfépime Céfotaxime Céfprome Céftazidime Ceftriaxone

		Fosfomycine	Fosfomycine Fosfomycine trométamol
		Glycopeptides	Teicoplanine Vancomycine
		Lipopeptides	Daptomycine
		Polymyxines	Polymyxine E ou colistine

	FAMILLE		DCI
Inhibiteur de la synthèse des protéines	Aminosides		Amicacine sulfate Gentamycine Neomycine Nétilmycine Spectinomycine Streptomycine Tobramycine
	Macrolides et Apparentés	Macrolides vrais	Amphotéricine B Azithromycine Claritromycine Erythromycine Josamycine Midécamycine Roxithromycine
		Lincosamides	Clindamycine Lincomycine
		Kétolides	Télithromycine
		Synergistines	Pristinamycine
	Phénicoles		Thiamphénicol
	Cyclines		Chlortetracycline Doxycycline Lymécycline Méthyllénecycline Minocycline Tigécycline
	Acides fucidiques		Acide fusidique
Oxazolidinones		Linézolide Tedizolide	

	FAMILLE			DCI
Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques	Quinolones	Quinolones Urinaires	Quinolones de 1 G	Acide pipémidiques Fluméquine
			Fluoro-quinolones	Enoxacine Loméfloxacine Norfloxacine
		Quinolone Systémiques	Fluoro-Quinolones	Ciprofloxacine Ofloxacine Péfloxacine
		Quinolone Antipneumococciques	Fluoro-quinolone	Lévofloxacine Moxifloxacine
	Quinoléine			Hydroxyquinolone
	Mupirocine			Mupirocine
	Autres			Rifamycine

	FAMILLE	DCI
Inhibiteurs de la synthèse de l'acide Folique	Sulfamides	Sulfadiazine Sulfaméthiazol Sulfadiazine+pyréméthamine Sulfafurazole+érythromycine Sulfaméthoxazole+trémithoprime (Cotrimoxazole)

	FAMILLE		DCI
Mécanismes complexes Ou méconnus	Produit Nitrés	Nitrofuranes	Nitrofurantoin Nifuroxazide
		Nitro-imidazoles	Métronidazole Omidazole Tindazole
	Antituberculeux		Ethambutol Isoniaside Isoniazide+Rifampicine Pyrazinamide Pyrazinamide+Isoniazide+Rifampicine Rifabutine Rifampicine

Tableau 01 : Classification des antibiotiques selon leurs mécanismes d'action. (68)

I.2- La résistance bactérienne aux antibiotiques :

L'efficacité remarquable des antibiotiques a motivé leur utilisation massive et répétée en santé humaine et animale. Cela a créé une pression de sélection sur les populations bactériennes, entraînant l'apparition des souches résistantes. (69)

- **Definition de la résistance bactérienne :**

Une souche bactérienne est dite résistante lorsqu'il est capable de se développer en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.

Cette résistance se caractérise par :

- Son caractère naturel ou acquis.
- Son support génétique.
- Son mécanisme. (70)

I.2.1- Résistance bactérienne naturelle :

La résistance naturelle est une caractéristique d'une espèce bactérienne. Elle délimite le spectre naturel de l'antibiotique et constitue une aide à l'identification. La résistance naturelle se traduit habituellement par des CMI supérieures à la valeur critique basse de concentration (C) de l'antibiotique concerné. Les quelques souches apparemment sensibles aux antibiotiques auxquels l'espèce est naturellement résistante devraient donc être interprétées (R). (69)(71)

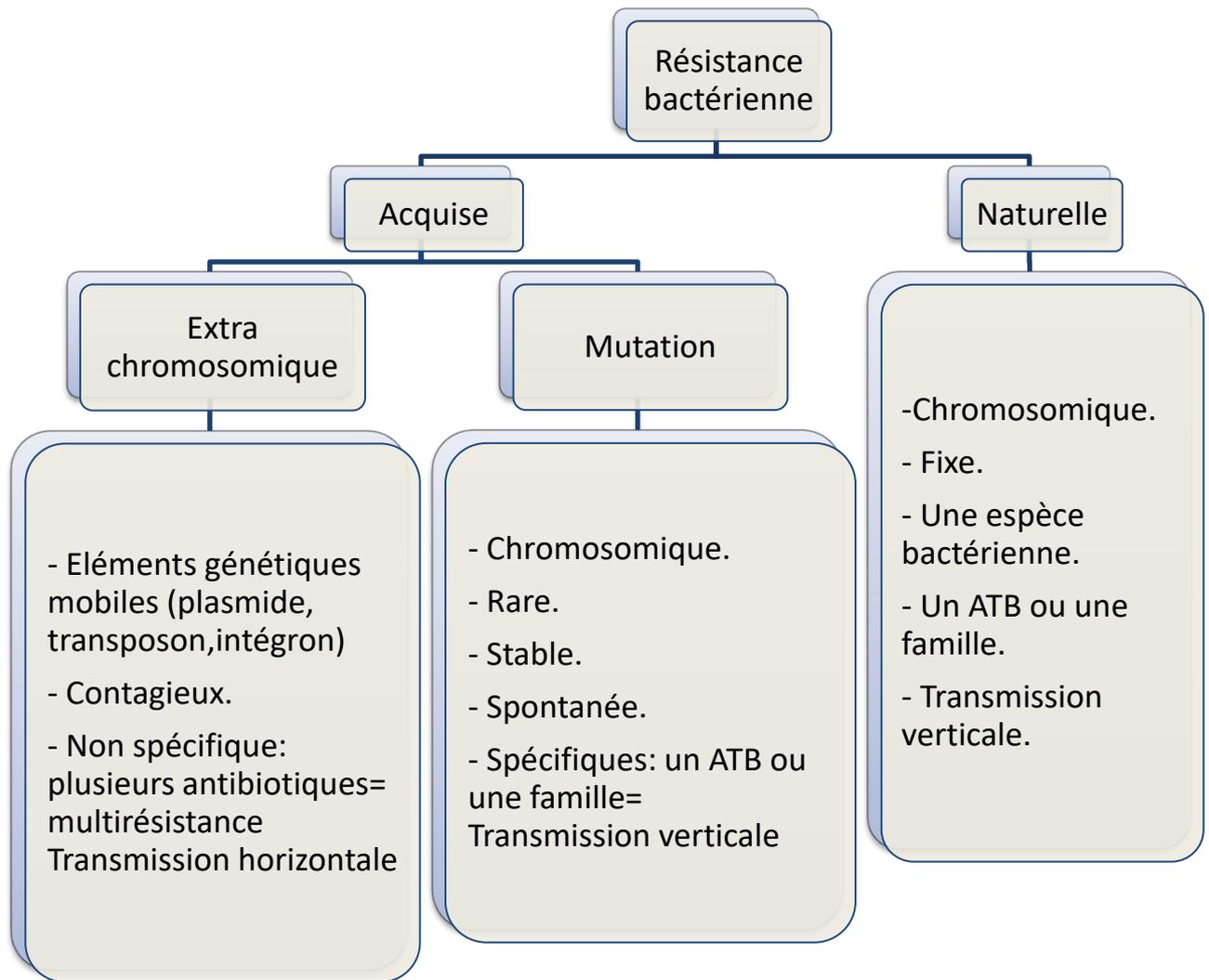


Figure13 : la résistance bactérienne aux ATB. (72)

I.2.2- Résistance bactérienne acquise :

Caractérise uniquement certaines souches de l'espèce bactérienne habituellement sensible, par acquisition d'un mécanisme de résistances. C'est un caractère instable (peut être perdu ou acquis), avec un support soit chromosomique (sélection de mutation, exemple : fluoroquinolone), soit extrachromosomique avec acquisition des nouveaux gènes (plasmide, transposon..).

La résistance aux antibiotiques est issue d'un certain nombre de mécanismes, dont plusieurs peuvent agir de manière concomitante :

- a- Altération de la cible de l'antibiotique, ce qui est le cas pour les PBP (penicillin-binding-proteins) avec une faible affinité à l'antibiotique.
- b- Pompe à efflux qui expulse l'antibiotique de cytosol bactérien et diminue donc sa concentration intracellulaire.
- c- Altération de l'antibiotique (par exemple : par les betalactamases)
- d- Développement de voies métaboliques alternes.(69)(71)

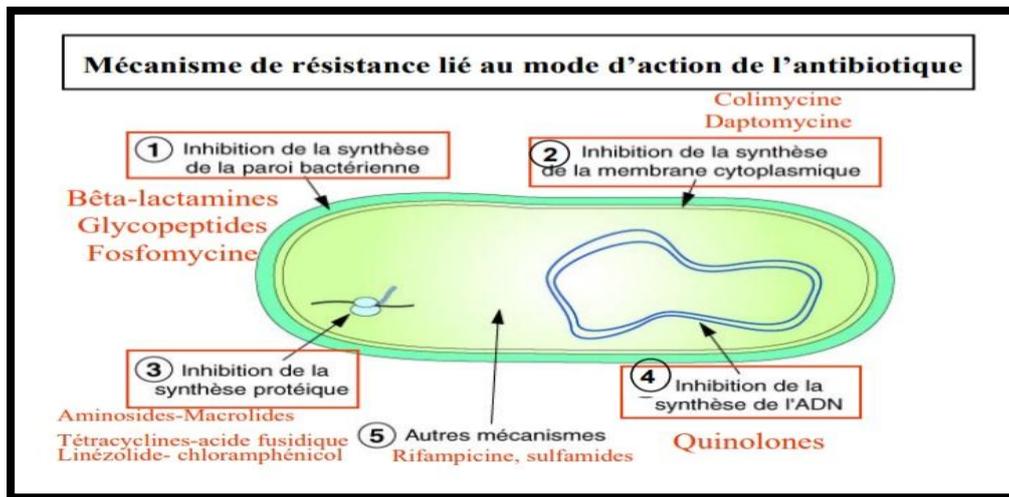


Figure 14 : mécanisme de résistance aux l'ATB. (73)

CHAPITRE II :
BACTERIES MULTI-RESISTANTES

II.1- Bactérie multi-résistance :

Les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) sont des bactéries qui conjuguent plusieurs mécanismes de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques. Ces multi-résistances conduisant à des impasses thérapeutiques. Sont observées essentiellement chez les bacilles Gram négatif. Notamment les entérobactéries. *pseudomonas aeruginosa* et *acinetobacter baumannii*. (74)

II.2- bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) :

Les bactéries hautement résistantes aux antibiotiques émergentes, sont des bactéries commensales du tube digestif et résistantes à des nombreux antibiotiques, les mécanismes de résistance sont plasmidiques et transférables.

Actuellement, deux groupes de BHRe doivent être l'objet de toute notre attention : - Entérocoque résistant à la vancomycine.

- Entérobactérie productrice de carbapénimase. (75)

II.3- bactéries ultrarésistantes (XDR : extensively drug-resistant) :

Sont des bactéries à degrés de résistances plus importants, ou elles résistent aux toutes les classes d'antibiotiques usuellement utilisés pour un espèce donné sauf une ou deux classes. (76)

II.4- Bactéries toto-résistantes :

Une souche toto résistante (pandrug résistant PDR) se définit comme non-susceptible à tous les agents dans toutes les catégories d'ATB. Autrement dit, c'est une XDR ayant acquis une résistance aux polymyxines et la tigécycline. (76)

CHAPITRE III :
PRINCIPALES BMR IMPLIQUEES
DANS LES IAS

III.I- Les entérobactéries multi-résistantes:

La membrane externe des entérobactéries, imperméable aux molécules trop grandes ou hydrophobes comme les glycopeptides, la daptomycine ou la rifampicine, freine l'entrée des substances parvenant à la traverser, augmentant ainsi l'efficacité de la deuxième ligne de défense. Celle-ci inclut entre autres les pompes à efflux qui repoussent les antibiotiques à l'extérieur et les bêta-lactamases qui les hydrolysent. (77)

III.1.1- Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération :

L'expansion de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération (C3G/C4G) constitue probablement l'un des faits les plus marquants des deux dernières décennies en matière d'antibiorésistance humaine et animale.

Cette résistance est principalement assurée par la production de la bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) et - des céphalosporinases plasmidiques (AmpC). Ces enzymes confèrent une résistance élevée à la plupart des bêta-lactamines thérapeutiques (à l'exception notable des carbapénèmes chez l'homme). (76)

III.1.2- Les entérobactéries productrices des bêta-lactamas à spectre étendu (EBLSE) :

une BLSE hydrolyse tous les antibiotiques de type bêta-lactames à l'exception des céphamycines et carbapénèmes, c'est-à-dire qu'elle rend inefficace les pénicillines ,

les céphalosporines et les monobactames . Ces bactéries peuvent être responsables d'un spectre étendu d'infections acquises tant en communauté qu'en milieu hospitalier : infections urinaire, respiratoire, intra-abdominales, des voies biliaires ou de site opératoire suite à une chirurgie digestive. (76)

III.1.3- Les entérobactéries productrices des carbapénimases :

Les EPC sont des entérobactéries productrices d'enzymes (c'est-à-dire carbapénémases) qui rendent inactifs les carbapénèmes et plusieurs autres classes d'antibiotiques. Cela cause des infections difficiles à traiter ainsi que la mort chez plus de 50 pour 100 des patients aux prises avec une infection grave.(78)

Les carbapénémases appartiennent à la famille des bêta-lactamases sont des enzymes bactériennes capables d'hydrolyser le cycle de bêta-lactame en rendant l'antibiotique inactif avant qu'il n'atteigne les PLP.(79)

Les bêta-lactamases sont divisés en 4 classes (A à D) selon la structure primaire des enzymes. Les classes moléculaires A, C et D incluant des bêta-lactamases ayant une sérine pour site actif. Tandis que la classe moléculaire B est constituée de métallo-enzymes, dont le site actif contient des ions zinc.(80)

- Carbapénémases de classe A : (sérine protéases)

- NmcA, SME, IMI, SFC, GES, KPC : *Klebsiella pneumoniae* carbapénimase.
- hydrolyse toutes les bêta-lactamines (sauf céfoxitine +/- CAZ : mauvais substrats).
- inhibées par l'acide clavulonique.
- entérobactéries.(81)(82)

- Carbapénémases de classe B : (métallo-bêta-lactamases,Zn²⁺)

- IMP, VIM, GIM, KHM, NDM.
- Hydrolysent toutes les bêta-lactamines sauf l'Aztréonam, activé inhibé par EDTA
- Entérobactériacées et *P.aeruginosa*. (82)

- Carbapénémase de classe D : (oxacillinase, sérine protéases)

- OXA 48, OXA 23, OXA 48 like.
- Hydrolyse les carbapénèmes mais pas les C3G/C4G.
- Entérobactéries +++ (82)

III.1.4- Les entérobactéries résistantes à la colistine :

Au cours des dix dernières années, l'augmentation de la multi-résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif, a engendré le retour de la colistine (ou polymyxine E) comme traitement de dernier recours.

Jusqu'à récemment, les mécanismes de résistance à la colistine résultaient essentiellement de modification de gènes chromosomiques impliqués dans les voies de synthèse et de modifications du lipopolysaccharide (LPS), cible des polymyxines.

En novembre 2015, une étude a identifié pour la première fois un gène plasmidique, nommé *mcr-1*, responsable de la résistance acquise à la colistine.

- **Résistances chromosomiques aux polymyxines :**

Une des stratégies les plus utilisées est la modification du LPS, pour diminuer la charge négative du LPS, essentiellement via l'ajout de résidus chargés positivement, entraînant ainsi une répulsion des polymyxines, elles-mêmes chargées positivement. D'autres stratégies sont également utilisées comme la synthèse d'une capsule ou l'expression de certaines pompes d'efflux. (83)

- **Résistance acquise (plasmidique) aux polymyxines :**

La probabilité de retrouver un mécanisme de résistance transférable pour les polymyxines était assez largement rejeté par la communauté scientifique. Cependant en novembre 2015 a été rapportée pour la première fois l'émergence d'une résistance plasmidique à la colistine, nommé *MCR-1*. Mais les niveaux de résistance aux polymyxines conférés par *MCR-1* sont relativement faibles avec des CMI à la colistine comprise entre 2 mg/L et 8 mg/L. (84)

III.2- *Acinetobacter baumannii* multi-résistants

Acinetobacter baumannii est naturellement résistant à de nombreux antibiotiques en raison de l'existence de plusieurs mécanismes intrinsèques : Membrane externe peu perméable, Production d'une céphalosporinase à large spectre de type AmpC, production d'une oxacillinase de type OXA-51, production du système d'efflux actif. Par ailleurs, elle est capable d'accroître son niveau de résistance à un ou plusieurs d'antibiotiques, soit par le biais de mutations modifiant ses mécanismes intrinsèques, soit par l'acquisition de matériel génétique étranger codant des mécanismes transférables. La multi-résistance de

cette bactérie tend à devenir un problème de santé publique suite à l'isolement des souches résistantes à la quasi-totalité des antibiotiques disponibles. (85)

III.2.1- *A.baumannii* résistante aux céphalosporines de 3^{eme} génération :

La résistance aux céphalosporines de troisième génération telles que la ceftazidime et le céfotaxime chez *Acinetobacter baumannii* est souvent due à une expression accrue d'un gène ampC intrinsèque. L'expression augmente lorsque la séquence d'insertion ISAba1 est présente dans l'orientation appropriée en amont du gène ampC, fournissant un promoteur orienté vers l'extérieur qui semble être plus fort que le promoteur intrinsèque car il augmente la transcription. (86)

III.2.2- *A.baumannii* résistante aux carbapénèmes :

La résistance aux carbapénèmes est expliquée, en grande partie, par des oxacillinases aux propriétés de carbapénémases spécifiques à *Acinetobacter* spp, dont l'activité d'hydrolyse des carbapénèmes qu'exercent ces oxacillinases est plus faible que celle des métallo-B-lactamases.

Ces oxacillinases n'hydrolysent pas les céphalosporinases de troisième génération. Il s'agit des bêta-lactamases de types OXA-23, OXA-40, OXA-58 et OXA-143. Leur détection est impossible car leur activité n'est inhibée ni par l'acide clavulonique, ni par l'EDTA.

La plupart des gènes codant ces bêta-lactamases sont plasmidiques , ce qui assurerait leur bonne diffusion. (87)

III.2.3- *A.baumannii* résistante à la colistine :

Cette résistance due principalement à une mutation chromosomique, en provoquant, soit une modification de LPS (+++) par addition de groupements phosphoethanolamine (pEtN) au lipide A, mutation dans l'opéron pmrCAB suite à une activation constitutive du système à deux composants (pmrA/ pmrB) ou hyper expression de la pEtN transférase (pmrC). Soit par une perte de LPS résultant de diminution du gène de synthèse du lipide A (lpxA, lpxC, lpxD), le cas de haut niveau de résistance (CMI supérieur de 128mg/l). (88)

III.3- *Pseudomonas aeruginosa* Multi-Résistant:

P. aeruginosa présente une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques, restreignant les possibilités thérapeutiques à un nombre limité d'agents antimicrobiens.

En plus de ces résistances naturelles, les résistances acquises sont très fréquentes pour les antibiotiques habituellement actifs sur *P. aeruginosa* et tout isolement en situation clinique de cette espèce bactérienne doit entraîner la réalisation d'un antibiogramme effectué et interprété suivant les recommandations précises. (89)

III.3.1- *Pseudomonas aeruginosa* résistant au beta-lactamine:

III.3.1.1- Phénotype sauvage:

Pseudomonas aeruginosa est caractérisé par la faible perméabilité de sa membrane externe (10 à 100 fois inférieure à celle d'*Escherichia coli*, liée au nombre restreint de pores perméables formés par la porine principale de *P. aeruginosa* OprF), associée à l'existence de pompes d'efflux actifs et à la présence d'une céphalosporinase inductible AmpC. Ces caractéristiques expliquent la résistance naturelle de cette espèce à des B-lactamines habituellement actives sur les bacilles à Gram négatif comme les aminopénicillines, les céphalosporines dites de 1er et 2eme génération, mais aussi de 3eme génération comme les oxyaminocéphalosporines (céfotaxime ou ceftriaxone) et même certains carbapénèmes (ertapénème).

Ainsi, *Pseudomonas aeruginosa* est naturellement sensible aux B-lactamines suivantes: carboxypénicillines (carbénicilline et ticarcilline), uréidopénicillines, céphalosporines anti-*Pseudomonas* (cefsulodine, cefopérazone, céfépime, cefpirome et surtout ceftazidime), monobactames (aztréonam), carbapénèmes à l'exception de l'ertapénème (imipénème, méropénème, doripénème).

III.3.1.2- Résistance Acquise { souche sensible à la Ceftazidime } :

- phénotype { surproduction du système MexAB-OprM } :

Ce phénotype est lié à une mutation dans les gènes impliqués dans la régulation de l'opéron mexAB-oprM (mexR, nalC, nalD). MexAB-OprM est produit

de façon permanente au bas niveau (production constitutive) chez les souches sauvages et permet à la bactérie d'excréter plusieurs familles d'antibiotiques dont les B-lactamines (excepté l'imipénème), le chloramphénicol, les cyclines et les fluoroquinolones à travers la membrane bactérienne. (90) (91)

- phénotype { Carbénicillinase/Pénicillinase } :

La présence d'une pénicillinase se traduit par une résistance à la ticarcilline, à un moindre niveau à la pipéracilline, et de manière variable selon le type de pénicillinase et le niveau de production, à la cefsulodine, au céfépime et au cefpirome.,

La ceftazidime, l'imipénème et à moindre titre l'aztréonam restent actifs s'il n'y a pas d'autres mécanismes associés.

De très nombreuses pénicillinases ont été identifiées chez *P. aeruginosa* La pénicillinase la plus fréquente est la carbénicillinase PSE-1. Les autres pénicillinases les plus fréquemment isolées sont les enzymes de type OXA à spectre restreint, dont certaines peuvent toucher le céfépime ou de type TEM (TEM-2, TEM-1). Le déterminant génétique peut être porté par une plasmide ou un élément transposable de localisation chromosomique. (92) (93)

- phénotype { altération de porine OprD } :

Ce phénotype de résistance aux carbapénèmes est évoqué devant une souche sensible à la ticarcilline, à la pipéracilline, à la ceftazidime mais intermédiaire ou résistante à l'imipénème.

Cette résistance est liée à une diminution (baisse de l'expression du gène oprD) ou une altération de la porine OprD qui est la voie d'entrée principale des carbapénèmes dans la bactérie, à la différence des autres antibiotiques. (94)

L'altération de la porine OprD sous l'effet de mutations est un événement fréquent chez les souches cliniques, Seule, elle est responsable de résistances de bas niveau. Son association à l'hydrolyse plus ou moins importante de la molécule par une céphalosporinase hyperproduite dans l'espace périplasmique et à la surproduction du système d'efflux MexAB- OprM aboutit à l'augmentation des CMIs des carbapénèmes.

III.3.2- *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la Céftazidime :

- phénotype de hyper production naturel de Céfalosporinase AmpC :

Ce phénotype de résistance est très fréquent, c'est le mécanisme de résistance principal aux céphalosporines. Sur un antibiogramme standard, l'hyperproduction de la céphalosporine AmpC se traduit par une résistance à toutes les B-lactamines testées à l'exception des carbapénèmes s'il n'y a pas d'autres mécanismes associés.

Ce phénotype hyperproducteur de céphalosporinase est lié à une dépression partielle ou totale de la céphalosporinase chromosomique AmpC et s'accompagne d'un niveau de résistance plus ou moins important (stable dans une souche donnée)

selon la quantité d'enzyme produite. L'hyper- production de AmpC est liée à des mutations isolées ou associées dans le gène ampD répresseur de AmpC ou par l'inactivation de dacB, qui code pour une protéine de liaison aux pénicillines (PLP-4) qui piège les B-lactamines.

- phénotype Béta-lactamase à spectre élargie (BLSE)

Les BLSEs sont des enzymes dont le spectre plus ou moins large, inclut les C3G et les C4G (céfépime). Elles appartiennent aux classes A ou D de Ambler.

a- Les BLSE de classe A ont la particularité d'être inhibées par l'acide clavulanique. Plusieurs enzymes distinctes ont été rapportées chez *P. aeruginosa*: PER, VEB, GES, SHV2A, BEL...

b- Les BLSES de classe D sont également appelées « oxacillines à spectre élargi » (ES-OXA) par opposition aux « oxacillines à spectre restreint » et aux oxacillines à activité carbapénémase. (95) (96)

Pour la plupart, ces BLSEs dérivent d'oxacillines à spectre restreint par des mutations ponctuelles (OXA-14, OXA-19, OXA-28, OXA-32, OXA-45...). Leur activité enzymatique, variable sur les uréidopénicillines, les carboxypénicillines, l'aztréonam et les C3G, est peu inhibée par l'acide clavulanique sauf en ce qui concerne OXA-18 et OXA-45.

À l'antibiogramme, la souche apparaît résistante à la ceftazidime. Dans le cas des B-lactamases à spectre étendu sans autre mécanisme associé, l'activité des carbapénèmes est respectée.

Pour les BLSEs de classe A, qui ont la particularité d'être inhibées in vitro par l'acide clavulanique, une synergie avec les inhibiteurs de B-lactamases est

observée dans certains cas. L'antibiogramme peut d'emblée mettre en évidence une image de synergie mais ceci est rare, excepté pour les enzymes de type PER ou VEB. Le recours à des tests complémentaires est donc souvent nécessaire. (97)

III.3.3 - *Pseudomonas aeruginosa* productrice de Carbapénémase :

Les carbapénémases sont des B-lactamases dont le spectre s'étend aux carbapénèmes (imipénème, méropénème et/ou doripénème). Les carbapénémases les plus répandues et les plus significatives chez *P. aeruginosa* sont des métallob-lactamases (classe B de Ambler). Six groupes ont été décrits chez *P. aeruginosa*: IMP (active on Imipenem), VIM (Verona Integron-encoded Metallo-B-lactamase), SPM (Sao-Paulo Metallo-B-lactamase), AIM (Australia IMipenemase), GIM (German IMipenemase), DIM (Dutch IMipenemase) et plus récemment NDM-1 (New Delhi Metallo-B-lactamase).

Elles possèdent une activité hydrolytique importante sur de nombreuses B-lactamines à l'exception notable de l'aztréonam et une activité parfois moins marquée sur la pipéracilline.

À l'antibiogramme, la souche apparaît intermédiaire ou résistante à la majorité des B-lactamines y compris les carbapénèmes. Une large diamètre d'inhibition isolé autour du disque d'aztréonam est un élément d'orientation fiable vers une métallob-lactamase. (98) (99)

III.3.4. *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la Colistine :

la colistine est une polymyxine active sur *P. aeruginosa*. Ce produit agit comme un détergent cationique en se combinant aux phospholipides de la membrane cytoplasmique et provoque une lyse cytoplasmique. Les résistances acquises sont rares parmi les souches cliniques.

Le phénotype « *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la colistine » est même considéré comme exceptionnel, il est liée à des mutations chromosoliques dans divers gènes conduisant à des modifications de la charge des LPS.

Cependant, ces résistances peuvent être rencontrées chez les patients atteints de mucoviscidose. (100)

L'identification des mutants résistants repose sur : la détermination de la CMI de la colistine . La bandelette imprégnée type E - Test est utilisée dans cette

indication par la majorité des laboratoires . Cependant , la détermination de la CMI par dilution en milieu liquide demeure la référence . Pour les

souches isolées chez des patients atteints de mucoviscidose , la détermination de la CMI de la colistine par dilution en gélose est la méthode la plus sensible pour détecter des résistances à la colistine. (101)

III.4- Staphylocoque multi-résistant:

Les infections à *staphylococcus aureus* sont courantes à la fois dans les milieux communautaires et hospitaliers et le traitement reste difficile à gérer en raison de l'émergence de souches multirésistantes telles que le SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline). (102) (103)

III.4.1- *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline (SARM) :

Staphylococcus aureus méticillino résistant (SARM) est un staphylocoque doré sur lequel certains antibiotiques ont perdu leur efficacité. Le SARM est en particulier résistant aux antibiotiques du type bêtalactamines certaines souches de MRSA sont devenues résistantes à pratiquement tous les antibiotiques. Cet épuisement des ressources thérapeutiques est la raison pour laquelle des mesures de prévention doivent être mises en place pour éviter la dissémination du MRSA. Ces mesures doivent être adaptées au type d'établissement et de patients,

Aujourd'hui , environ 20 % des souches hospitalières de *S. aureus* sont résistantes à la méthicilline (SARM) . Les SARM hébergent généralement le gène *mecA* qui code pour une PLP2a additionnelle , protéine de liaison à la pénicilline de faible affinité , responsable de la résistance intrinsèque à toutes les B - lactamines , ainsi qu'aux inhibiteurs des B - lactamases , à l'exception de nouvelles céphalosporines actives sur les SARM récemment mises sur le marché (ceftaroline , ceftobiprole) .

Un variant de *mecA* , nommé *mecc* , a été décrit en 2011 chez *S. aureus* et est également responsable de résistance à la méthicilline (PLP2c additionnelle) . L'expression phénotypique de la résistance à la méthicilline peut être homogène (

l'ensemble de la population apparaît résistante) ou hétérogène (une fraction plus ou moins importante de la population apparaît résistante). (104) (105)

III.4.2- Staphylocoque résistant aux glycopeptides :

Depuis les années 1990, ont été rapportées les premières souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée. Pour *S. aureus*, les phénotypes de résistance suivants sont décrits:

* Résistance homogène (GISA, glycopeptide - intermediate *S. aureus*) , pour laquelle les CMI de la vancomycine et de la teicoplanine sont strictement supérieures à 2 mg/l.

* Résistance hétérogène (hGISA, heterogeneous GISA) pour laquelle les CMI de la vancomycine et de la teicoplanine sont inférieures ou égales à 2 mg/l.

Cette diminution de sensibilité aux glycopeptides est liée à une anomalie de synthèse du peptidoglycane avec épaissement de la paroi, responsable d'un défaut de pénétration et de fixation des glycopeptides au niveau de leur site d'action . Ces anomalies sont dues à une accumulation de mutations et non à l'acquisition de matériel génétique.

Il est à noter que , outre le mécanisme de sensibilité diminuée aux glycopeptides liée à un épaissement de la paroi bactérienne , un second mécanisme a été décrit comme conférant la résistance aux glycopeptides chez *S. aureus* , cette fois - ci à haut niveau . En effet, des souches de *S. aureus* résistantes à la vancomycine (VRSA) avec des CMI à la vancomycine et à la teicoplanine > 16 mg / l ont été rapportées, majoritairement aux États - Unis . Ces souches possédaient l'opéron *vanA*, responsable de la résistance aux glycopeptides chez les entérocoques, mais ce phénomène reste rarissime. (105)

III.5- Entérocoque résistant à la vancomycine :

Les entérocoques sont des bactéries commensales de la flore digestive et sont peu pathogènes. Deux espèces sont retrouvées chez l'homme:

* *Enterococcus faecalis* (plus fréquent et plus sensible aux antibiotiques)

* *Enterococcus faecium* (dominant après antibiothérapie).

CHAPITRE III : PRINCIPALES BMR IMPLIQUEES DANS LES IAS

Les Entérocoques Résistant aux glycopeptides, aussi appelé ERG sont des bactéries devenues résistantes à certains antibiotiques en particulier à la classe des glycopeptides (vancomycine et teicoplanine). La résistance aux glycopeptides concerne principalement *E.faecium* et à un moindre degré *E.faecalis*. (106)

Les gènes de résistance (codés VanA à VanG) permettent à la bactérie de synthétiser des précurseurs modifiés de la paroi (peptidoglycane), cible d'action des glycopeptides, ce qui aboutit à une perte d'action des glycopeptides.

Le gène *vanA* (le plus fréquent) entraîne une résistance de haut niveau à la vancomycine et à la teicoplanine. Les souches porteuses du gène *vanB* (moins fréquentes) restent sensibles *in vitro* à la teicoplanine. Ces gènes de résistance sont localisés sur des séquences d'ADN transposables appelées transposons rendant ainsi leur transfert possible à d'autres bactéries Gram positif et en particulier aux staphylocoques.

La pathogénicité des VRE semble faible mais ils ont un haut risque de transmissibilité et de développement croisé de résistance aux antibiotiques raison pour laquelle il est nécessaire de limiter leur diffusion. La présence d'un VRE est identifiée par un dépistage (frottis) au niveau rectal ou par un prélèvement clinique (examen microbiologique) lors d'une infection. En collectivité, ces bactéries ne provoquent habituellement pas d'infection et son portage/colonisation ne représente pas un réel danger pour le patient. A l'hôpital, ces bactéries se propagent très facilement d'un patient à l'autre. (107)

**CHAPITRE IV:
LES CAUSES DE L'EMERGENCE ET
DE LA DIFFUSION DES BMR EN MILIEU
HOSPITALIER.**

CHAPITRE IV: LES CAUSES DE L'EMERGENCE ET DE LA DIFFUSION DES BMR EN MILIEU HOSPITALIER.

IV.1- Mauvaise usage des antibiotiques en médecine humaine :

L'usage abusif ou excessif des antibiotiques accélère le phénomène de la résistance, de même que des mauvaises pratiques de prévention et de lutte contre l'infection.

IV.1.1- Sur consommation:

La surutilisation des antibiotiques est la principale cause de l'augmentation de l'antibiorésistance, c'est à dire l'émergence et le maintien de souches bactériennes résistantes. Plus nous comptons sur les antibiotiques, plus les bactéries développent une résistance par rapport à ces derniers, ce qui rend le traitement des infections beaucoup plus difficile.

Les antibiotiques ne sont efficaces que sur les infections bactériennes. Ils sont encore trop souvent prescrits pour des infections virales comme la grippe.

L'administration répétée d'antibiotiques chez l'homme ou l'animal est responsable de l'augmentation des résistances bactériennes aux antibiotiques en créant ce qu'on appelle une "pression de sélection" : le niveau d'antibiotique dans l'organisme atteint favorise les mutations et les échanges plasmidiques responsables d'acquisition de résistances aux antibiotiques. Ce phénomène tend à éliminer les bactéries sensibles pour laisser place aux bactéries résistantes.

Plus on prend d'antibiotiques, plus le risque de faire émerger des bactéries résistantes s'accroît. Ces dernières rendent les traitements antibiotiques ultérieurs moins efficaces pour le patient et pour la collectivité. **(santé publique du France le 12 mai 2021)**

Les problèmes liés au développement et à la propagation de la résistance aux antibiotiques dans les hôpitaux a augmenté depuis le début des années 1960 et sont actuellement considérées comme un risque majeur pour la pratique clinique avec des taux de mortalité et couts de soins tres importants. À cet égard, de nombreux experts ont estimé qu'il faut réduire le mésusage et la surutilisation des antibiotiques si nous voulons réduire la prévalence des résistances. (108) (109)

En plus de l'automédication des antibiotiques sont surconsommés pour les raisons suivantes:

CHAPITRE IV: LES CAUSES DE L'EMERGENCE ET DE LA DIFFUSION DES BMR EN MILIEU HOSPITALIER.

- . Manque de tests microbiologiques.
- . Pression commerciale.
- . La demande et les attentes perçues par les médecins
- . Les pharmaciens copiant les prescriptions.
- . Médecins de quartier et dispensation d'antibiotiques pour des affections courantes comme le rhume, maux de gorge et diarrhée.
- . Incitations pour les pharmaciens à faire des bénéfices.(110)

IV.1.2- Transfert des gènes de résistance:

Les bactéries ont développé différents mécanismes de défense contre les antibiotiques, Certaines bactéries résistantes ont la capacité de se transmettre leur matériel génétique par transfert horizontal de gènes (entre deux bactéries non parentes), ou via des éléments génétiques mobiles comme les intégrons, les transposons, les plasmides ou les prophages.

À travers ces mécanismes, des morceaux d'ADN s'insèrent dans n'importe quelle bactérie (y compris celles naturellement présentes dans notre corps) pour lui conférer une résistance aux antibiotiques. (111)

IV.1.3- Dose Sub optimale:

Plus on prend d'antibiotiques, moins le traitement risque de fonctionner, « Chaque fois que l'on prend un antibiotique contre une infection due à une bactérie, celui-ci va la détruire mais sur son chemin, il croise d'autres bactéries et en particulier celles qui peuplent notre tube digestif, Certaines d'entre elles, sous l'effet d'un antibiotique pris à répétition, peuvent développer une résistance. », puis en se multipliant, elles donneront des lignées entières de bactéries susceptibles. « Beaucoup de nos infections sont causées par nos propres bactéries, rien ne dit qu'un jour ce ne soit pas l'une de celles devenues efficaces qui causera la maladie» Certains paramètres seront alors inefficaces.

La réduction de la durée ou la dose du traitement expose à un risque de rechute, car toutes les bactéries ne seront pas définitivement détruites. De plus, cela favorise l'apparition de résistances chez les bactéries restantes.

A la longue, la prise d'antibiotiques augmente la probabilité de rendre certaines bactéries de notre flore intestinale et susceptibles un jour de nous

CHAPITRE IV: LES CAUSES DE L'EMERGENCE ET DE LA DIFFUSION DES BMR EN MILIEU HOSPITALIER.

contaminer. Cela peut arriver en particulier avec les infections à répétition. Si les mêmes infections récidivent après un ou deux traitements, il faut identifier le germe et choisir l'antibiotique plus ciblé. (112)

IV.1.4- Recours à la monothérapie:

Optimisation de l'utilisation des antibiotiques impose la recherche d'une efficacité maximale, de conséquences écologiques minimales sur l'évolution des flores bactériennes, d'une moindre toxicité, et du meilleur rapport coût/bénéfice. Dans le but d'augmenter la bactéricidie, d'élargir le spectre antibactérien, voire de prévenir l'émergence de mutants résistants,

Les antibiotiques sont souvent utilisés en association. L'apparition de molécules dotées de CMI plus basses ou d'un spectre plus étendu n'a cependant pas conduit les cliniciens à remettre en cause l'intérêt des associations.

Les recommandations établies par le groupe d'experts ont exclu :

- Les pneumopathies communautaires;
- Les méningites communautaires;
- La maladie tuberculeuse;
- Les endocardites primitives;
- Les infections primitives du tractus digestif (typhoïde...);
- Les infections fongiques isolées ou associées;
- La pathologie infectieuse néonatale.

Les β -lactamines prescrites avec un inhibiteur des β -lactamases ne sont pas considérées comme une association. Dans l'expression des recommandations, la nécessité d'un traitement chirurgical associé, parfois élément essentiel de la guérison. (113) (114)

IV.2- Usage massive des antibiotiques dans l'élevage (L'élevage et antibioresistance):

l'utilisation d'antibiotiques chez les animaux peut-elle favoriser le développement des bactéries résistantes aux antibiotiques difficiles à traiter et qui rendent les gens malades? Et si c'est possible, qu'elles peuvent engendrer comme maladie par la suite, et s'il existe des risques théoriques, ou l'utilisation actuelle chez les animaux pourrait menace pour la santé humaine?

CHAPITRE IV: LES CAUSES DE L'EMERGENCE ET DE LA DIFFUSION DES BMR EN MILIEU HOSPITALIER.

La menace pour la santé publique de la surutilisation des antibiotiques chez les animaux destinés à l'alimentation est réelle et en augmentation. Les humains sont en risque en raison de la présence potentielle de superbactéries dans la viande et la volaille, et à la migration générale de ces superbactéries dans l'environnement, où elles peuvent transmettre leur immunité génétique à antibiotiques contre d'autres bactéries. De nombreuses organisations de santé, y compris l'American Medical Association, l'American Public Health Association, Infectious Disease Society of America et l'Organisation mondiale de la santé, se sont mis d'accord et ont appelé à une réduction significative de l'utilisation d'antibiotiques pour l'alimentation animale. (115) (116)

Considérée pendant de nombreuses années comme un problème relevant de la médecine hospitalière, on sait désormais que la résistance aux antibiotiques connue depuis longtemps concerne également la médecine vétérinaire. En effet, l'Homme et l'animal partageant le même environnement (bactéries, virus, etc.) et les mêmes antibiotiques, leur santé relève de fait d'une seule et même santé « One Health ». (117)

Certaines voies de transmission de bactéries antibiorésistantes de l'animal à l'Homme, et réciproquement sont bien connues, par exemple la voie alimentaire. Lorsqu'un aliment est contaminé par une bactérie comme *Salmonella* ou *Campylobacter*, le consommateur peut être infecté. Si cette bactérie est résistante aux antibiotiques, il y a transmission des bactéries antibiorésistantes chez l'Homme.

Un autre exemple est l'exposition professionnelle. Par exemple, des éleveurs de porcs ont davantage de risque que la population générale d'être infectés par le staphylocoque doré résistant à la méticilline (SARM) de leurs porcs.

On peut enfin citer des exemples de transmission inverse, de l'Homme à l'animal. Par exemple, on a trouvé des souches de SARM d'origine hospitalière à l'origine d'infections chez des chiens ou des bovins.

Actuellement, la voie alimentaire et le contact direct (professionnels d'élevage, propriétaires d'animaux) sont les deux voies reconnues de transmission de bactéries antibiorésistantes entre l'animal et l'Homme. »

Des axes de recherche existent également sur le rôle de l'environnement dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques (eau, sol, effluents d'élevage et d'hôpitaux, etc.). Il est important de comprendre comment l'antibiorésistance (les

CHAPITRE IV: LES CAUSES DE L'EMERGENCE ET DE LA DIFFUSION DES BMR EN MILIEU HOSPITALIER.

bactéries et/ou les gènes) circule entre ces différents compartiments. Enfin, on peut citer des programmes de recherche pour identifier de nouvelles pistes thérapeutiques (vaccins, nouveaux antibiotiques, etc.) ou de nouveaux moyens de diagnostic, plus rapides et plus précis. (118)

CHAPITRE V:
PREVENTION DE L'EMERGENCE ET DE
LA DIFFUSION DES BMR

La maîtrise de la résistance aux antibiotiques passe par deux leviers:

- Une meilleure utilisation des antibiotiques pour réduire la pression de sélection.
- Prévention pour limiter la transmission bactérienne.

V.1- Le bon usage des antibiotiques:

Les antibiotiques sont efficaces uniquement pour traiter les infections causées par des bactéries. Ils ne doivent pas être prescrits pour une infection causée par un virus. Donc il faut préserver seulement pour les infections bactériennes confirmées, pour assurer une meilleure efficacité et limiter le développement des résistances.

La dose d'antibiotique prescrite doit être adaptée au type d'infection mais aussi à la personne (âge, poids.). Si la dose est insuffisante, risque de ne pas guérir de l'infection et risque d'apparition de résistance bactérienne.

La durée de prescription doit toujours être respectée.

Un traitement antibiotique ne doit jamais être pris ni réutilisé (même pour une infection du même type) sans avis médical.

Il existe aujourd'hui des tribunaux de traitement (dose unique, 3, 5 ou 7 jours) qui sont efficaces. (119)

V.2- Des mesures de prévention de la transmission :

La prévention des infections est le 1er pilier de la lutte contre l'antibiorésistance. En effet, tout antibiotique comporte un risque de résistance au traitement bactérien.

Le respect des précautions d'hygiène est la principale mesure pour limiter la transmission des bactéries. (120)

V.2.1- Prévention de la transmission croisée:

La prévention de la diffusion par transmission croisée des bactéries multirésistantes repose sur trois niveaux de précautions: les précautions standards, les précautions complémentaires et les mesures maximales. (121)

V.2.1.1- Les précautions standard: (PS)

Les PS d'hygiène doivent être appliquées systématiquement pour tout patients, quels que soient son statut infectieux et le lieu de sa prise en charge afin de limiter la transmission croisée des BMR et assurer une protection systématique des autres patients, du personnel et de l'environnement du soin.

-L'hygiène des mains:

Les germes multirésistants colonisent les mains du personnel soignant et sont à l'origine des infections nosocomiales donc le lavage des mains doit être systématique au moins à chaque entrée et sortie de la chambre du patient, l'utilisation des solutions hydroalcooliques avant et après contact avec le patient et son environnement est nécessaire

- Le port des gants:

Non stériles à usage unique sachant que les gants constituent une barrière physique.

- Le port de tenues protectrices:

Le port d'une blouse, de sur-chaussures et des masques lors des Interventions au chevet des malades infectés est obligatoire.

- L'hygiène des surfaces:

La maîtrise de l'environnement avec un bio-nettoyage efficace, une désinfection et stérilisation du matériel autour des patients sont des éléments clés, pour limiter les risques de contamination des mains des soignants lors de contact avec l'environnement et la transmission croisée des BMR.

- La hiérarchisation des soins:

Les soins médicaux et paramédicaux doivent toujours commencer par les patients Indemnes et se terminer par les patients porteurs de BMR. Chez ceux-ci, les soins non contaminants doivent précéder les soins contaminants, ces derniers s'effectuent obligatoirement avec une paire de gants et sont immédiatement suivis d'un lavage antiseptique des mains, après le retrait de la paire de gants. (121)

V.2.1.2- Les précautions complémentaires « contact »:

Les précautions complémentaires (PC) d'hygiène, sont des mesures appliquées en cas de mise en évidence de BMR telles que les EPC, BLSE en plus des PS, les précautions complémentaires consistent la prise en charge du patient dans une chambre individuelle.

Les PCC impliquent une prise en charge rapide des patients dont les principes sont les suivants:

- L'identification les porteurs de BMR (détection, signalisation.....)

- Leur isolement géographique: Il repose sur l'hospitalisation en chambre individuelle des patients fortement disséminateurs de BMR, tout le matériel nécessaire aux soins du malade doit être présent dans la chambre et réservé à ce seul malade. Les entrées et les sorties dans cette chambre doivent être réduites au maximum.

- La signalisation pour tous les intervenants au sein du service, elle doit être aisément reconnue par l'ensemble du personnel du service , elle se fait au moyen d'un logo connu au sein du service, non explicite pour le patient ou sa famille. Cette signalisation est recommandée sur la porte de la chambre du patient et sur le dossier médical et le portage de BMR doit être mentionné clairement dans les comptes rendus d'hospitalisation et lors des transferts des patients vers d'autres services gestion des visites et des circulations. (121)

V.2.1.3- les mesures maximales « search and isolate »:

Dont le but est d'empêcher la circulation des BHRé, les objectifs sont alors de dépister tous les cas contacts, de regrouper les cas dans des secteurs dédiés et de mettre en place un personnel spécifiquement dédié.

V.2.2- La mise en place de mesures spécifiques:

La lutte contre la diffusion de l'antibiorésistance doit être pragmatique et adaptée à la situation épidémiologique par la mise en place d'une stratégie convenable par exemple:

le concept international « One Health, une seule santé » reconnaît que la santé humaine est étroitement dépendante de la santé des animaux et de l'environnement (1er Plan National Antibiotiques ECDC (2018-2022), comme dans le cas de la résistance à la colistine liée au plasmide mcr-1 transférable de la volaille à l'être humain donc cette approche s'applique à la conception et la mise en œuvre de programmes, de politiques, législations et travaux de recherche pour lesquels plusieurs secteurs communiquent et collaborent (OMS avec FAO et OIE) en vue de répondre aux menaces qui pèsent sur la santé publique. (OMS 2017)
(121)

PARTIE PRATIQUE

Présentation de l'étude :

I.1- Type, durée et lieu de l'étude :

Il s'agit d'une étude prospective d'une durée de trois mois, allant du 1er janvier 2021 au 30 mars 2021 au niveau de l'unité de bactériologie du laboratoire central, du CHU BLIDA.

I.2- Critères d'inclusion :

- **Patients** : tout patient hospitalisé au niveau des différents services du CHU BLIDA FRANTZ FANON et au niveau des structures d'envirennantes à savoir le Centre anticancer(CAC) et l'EHS de transplantation d'organes et de tissus aussi que l'EHS psychiatrie.

- **Prélèvements** :

Tout prélèvement clinique à visée diagnostic.

- **Bactérie** :

- Nous avons ciblés les bactéries suivantes :
 - les bactéries appartenant à la famille des Entérobactéries.
 - *Staphylococcus aureus*.
 - *Enterococcus faecalis* et *enterococcus faecium*.
 - *Pseudomonas aeruginosa*.
 - *Acinetobacter baumannii*.
- Ont été considérées comme BMR les souches suivantes :
 - Les entérobactéries résistantes aux C3G.
 - Les entérobactéries productrices des carbapénémases.
 - Les *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* résistants à la céftazidime (CAZ) et/ou ciprofloxacine(CIP) et/ou l'imipénème (IMP).
 - les *Staphylococcus aureus* résistant à la métiline (SARM).
 - Les *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminué aux glycopeptides.
 - Les *Enterococcus faecalis* et *Entéroccoccus faecium* résistants aux glycopeptides.

I.3- Critères de non inclusion :

- Les souches bactériennes redondantes : les souches bactériennes présentant le même profil antibiotiques isolées chez le même patient.

Matériels et méthodes :

II.1- Matériels :

II.1.1- Matériel biologique :

- Souches de référence :
 - a- *Escherichia coli* ATCC 25922.
 - b- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SARM(-).
 - c- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 SARM(+).
 - d- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- Souche connue productrice de carbapénémase appartenant à l'espèce *Klebsiella Pneumonie*.
- Les souches bactériennes isolées de différents types de prélèvements reçus.

II.1.2- Matériel non biologique :

- **Equipements** : pailasse, eau physiologie, bec benzène, microscope optique, étuve, séchoir, réfrigérateur, bain-marie, densitomètre, congélateur, ances, ciseaux, pinces, disques d'antibiotiques, écouvillons, pied à coulisse, seringues stériles.



Figure 14 : Séchoir des milieux de culture (Original).





Figure15 : Bain marie (Original).

Figure16 : Etuve pour l'incubation des milieux de culture (Original).

- **Verrerie** : boîte de pétrie, tube stériles, pipettes pasteur, lame, lamelle

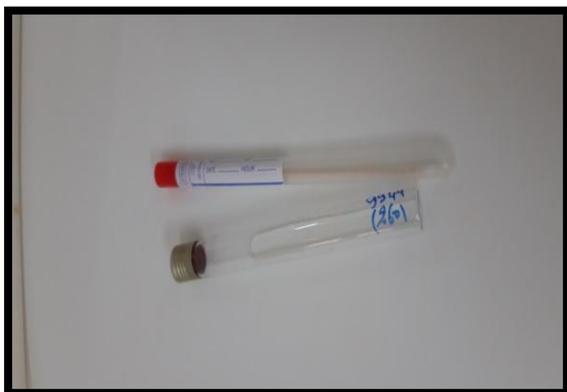


Figure 17 : tube et écouvillon stérile (Original)



Figure 18 : tubes stériles dans le portoir (Original).

- **Milieux de culture** :

- Milieu liquide : bouillon B.H.I.B.
- Milieux solides : gélose nutritive, milieu de Muller Hinton, milieu Hektoen.

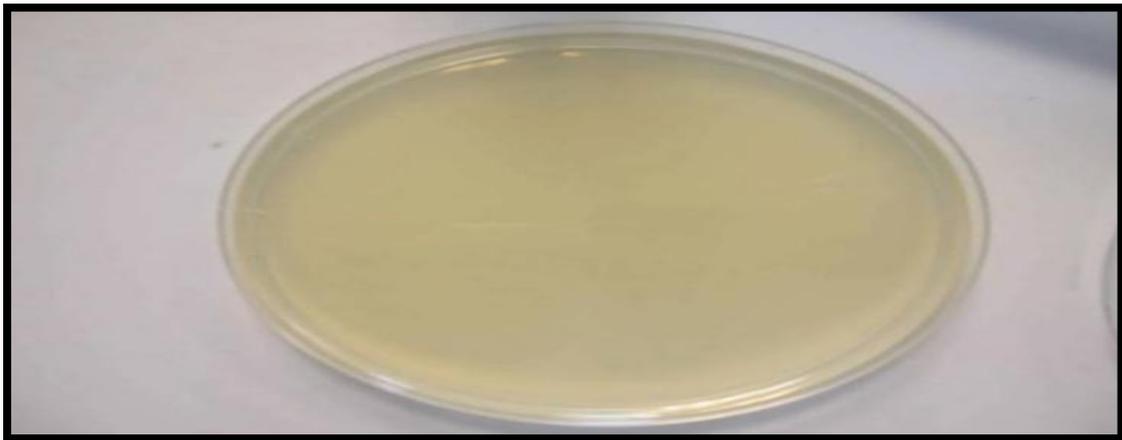


Figure 19 : gélose nutritive (Original).

- **Reactifs et solution de coloration:** reactifs de VP, kovacs, reactifs pour TDA, reactifs NR1 et NR2, disques d'ONPG et d'oxydase, solution de gentiane, lugol, bleu de méthylène, fuschine et l'alcool éthylique à 95°.

II.2- Méthodes :

II.2.1- Recueil des données :

Le recueil des données a été effectué par consultation des registres de laboratoires et de registre de conservation, en marquant le numéro d'ordre attribué au prélèvement et le numéro d'enregistrement, les informations relatives au patient : Nom, Prénom, type et la date de prélèvement, service d'hospitalisation.

II.2.2- isolement et identification des bactéries :

II.2.2.1- Isolement des bactéries incriminées:

Devant tout prélèvement reçu au laboratoire, l'identification des bactéries est basée sur la détection des caractères morphologiques, biochimiques et culturaux.

- **Examen microscopique :**

L'étude des caractères morphologiques à l'aide d'un microscope optique permet la détermination de la mobilité des bactéries et après la coloration on détermine leur affinité tinctoriale, leur forme, leur taille et leur mode de groupement, aussi on détermine la présence ou non du capsule et des spores.

• **Culture des bactéries :**

A partir des prélèvements, l'isolement des bactéries dans des milieux de culture consiste une étape très importante dans le diagnostic des bactéries.

Les milieux de culture sont choisis selon la souche qu'on veut isoler :

- Gélose nutritif(GN) pour les souches non exigeantes, les géloses au sang frais et le gelose au sang cuite pour les souches exigeantes.
- Milieux sélectifs sont :
 - Milieu Hektoen et BCP (pourpre de bromocrésol) pour les BGN (bacille à gram négatif).
 - Milieu de chapman pour les staphylocoques.

Après l'incubation à 35°C pendant 18 à 24 H, si la culture est positive, on différencie entre les types des colonies selon la taille, l'aspect et la couleur.

II.2.2.2- Identification des bactéries :

La détection des bactéries est basée sur l'étude des caractères morphologiques et biochimiques de chaque souche.

L'identification des bactéries a été effectuée par les techniques standards de laboratoire à savoir la coloration de Gram, les tests d'orientation (test d'oxydase et de catalase) et les galeries biochimiques classiques et miniaturisées (API 20 E).

Test Bactérie	Coloration de Gram	Test d'orientation		Galerie biochimique
		Catalase	Oxydase	
<i>Entérobactérie</i>	BGN	+	-	Galerie classique Et API20E
<i>P.aeruginosa</i>	BGN	+	+	API20 NE
<i>A.baumannii</i>	Coccobacille A Gram négative	+	-	API20 NE
<i>S.aureus</i>	CGP	+	-	API staph
<i>Entérocoques</i>	CGP	-	-	API20 strept

Tableau 02 : Résultat des tests d'orientation pour l'identification bactérienne.

II.2.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

Après l'isolement et l'identification des bactéries, l'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée pour chaque bactérie selon les recommandations du CLSI de la 8^{ème} édition 2020 en utilisant un antibiogramme de diffusion standard et des tests complémentaires de confirmation.

- L'antibiogramme par diffusion des disques :

L'antibiogramme standard est un test de routine de laboratoire visant à étudier la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques selon des référentiels élaborés par des comités experts.

Le principe consiste à placer la culture des bactéries dans une gélose de Mueller-Hinton en présence des disques d'antibiotiques et l'observation du diamètre d'inhibition qui nous permet de classer les bactéries en bactéries sensibles (S), intermédiaire (I) et résistante (R).

- **Mode opératoire :**

- Travailler dans la zone de stérilité devant le Bec benzène (20cm).
- Frotter l'écouvillon humide sur la totalité de la surface de gélose de haut en bas en stries serrées (en pivotant l'écouvillon sur lui-même), on tourne la boîte de 60° et on répète l'opération en deux fois, à la fin, on passe l'écouvillon sur la périphérie de la boîte.
- Lorsque l'ensemencement sera terminé, on applique les disques d'ATB sur la surface de MH en les pressant à l'aide d'une pince bactériologique stérile (ne déplace pas les disques après leurs fixations) et on l'incube à 37°C pendant 18 à 24 heures.



Figure 20 : L'étude de la sensibilité à l'ATB par un antibiogramme standard (Original).

II.2.4- Détection de la résistance au C3G chez les Entérobactéries :

- Recherche de la production de la BLSE :

Selon les recommandations du CLSI, On recherche les entérobactéries productrice des beta-lactamase à spectre étendu devant toute diminution de la sensibilité aux cephalosporines de 3eme génération:

Antibiotiques testés	Diamètre critiques (mm)			CMI critiques ($\mu\text{g/ml}$)		
	R	I	S	R	I	S
Cefotaxime 30 μg	≤ 22	23-25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Cefoxitine 30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8

Tableau 03 : Valeurs critiques de diamètre d'inhibition et des CMI des C3G pour les Entérobactéries selon les recommandation des CLSI.

- **Test de synergie :**

La recherche des BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC 20/10 μg) à 30 mm centre à centre d'un disque de CTX (30 μg).

Après incubation à 37°C pendant 16-18 h, la production de BLSE se traduit par l'apparition d'une image de synergie (bouchon de champagne) entre les disques : AMC-CTX ou TCC-CTX.

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

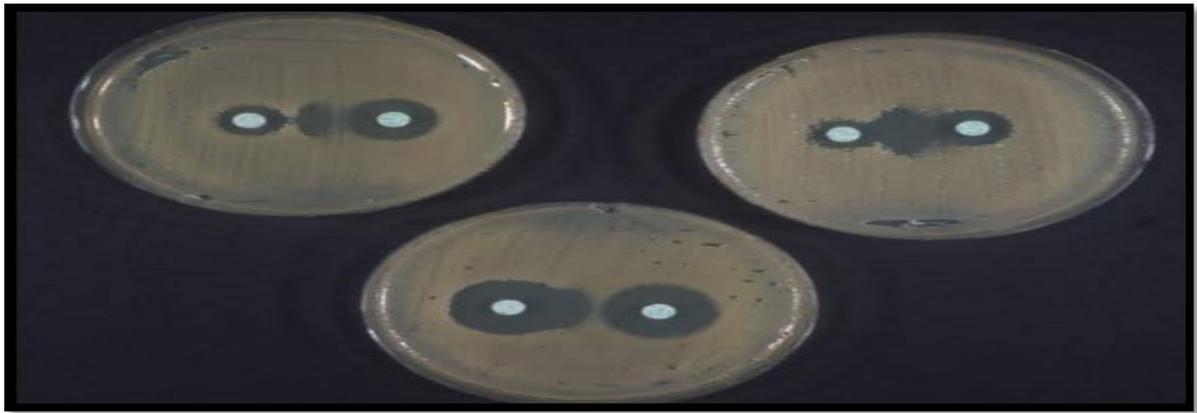


Figure 21 : Des souches BLSE positive identifié par le test de synergie (bouchon de champagne).

- **Test du double disque : (TDD)**

C'est un test de confirmation effectué systématiquement devant l'absence de l'image de synergie avec diminution des diamètres des C3G.

- **Mode opératoire :**

Ce test se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme

Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX et CRO)    une distance de 30 mm centre à centre.

Laisser diffuser les ATB pendant une heure sur la paillasse (couverture de boîte vers le haut)    température ambiante.

Remplacer le disque d'AMC par un disque de C3G (CTX ou CRO) et incuber les boîtes à température 37  c pendant 18 à 24 heures.

- **Interprétation :**

Le test de double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du disque du C3G appliqué après la diffusion du disque AMC est supérieur ou égale 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.

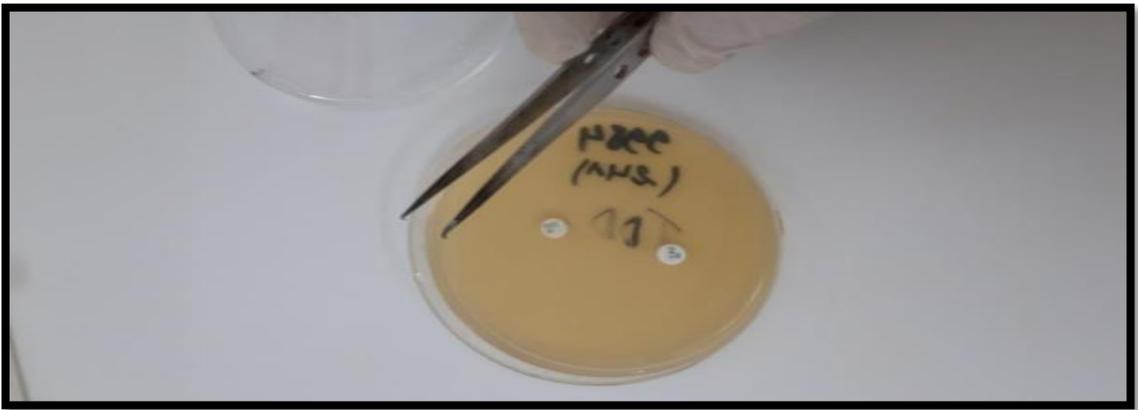


Figure 22 : Test de double disque avant l'incubation (Original).

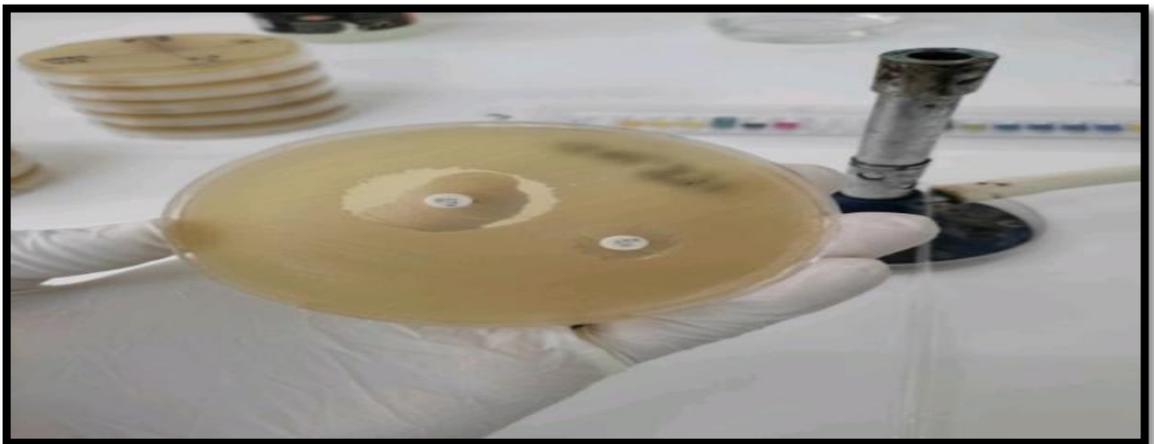


Figure 23 : Test de double disque après l'incubation (Original).

II.2.5- La détection des entérobactéries résistante aux carbapénèmes :

- **Test de Hodge modifié (MHT)** : (actuellement est réservé pour les études épidémiologiques).

Le test de Hodge modifié est un test simple qui peut être effectué en routine devant toute diminution de diamètre d'inhibition à l'une des carbapénèmes.

Antibiotiques testés	Diamètre critiques (mm)	CMI critiques ($\mu\text{g/ml}$)
----------------------	-------------------------	------------------------------------

	R	I	S	R	I	S
Imipénème 10µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Ertapénème 10µg	≤ 18	19-21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0.50.

Taleau 04 : Valeurs critiques de diamètre d’inhibition et des CMI des carbapénème pour les *Entérobactéries* selon les recommandation des CLSI.

La détection de carbapénémases est basée sur l’inhibition de l’activité des carbapénèmes vis-à-vis d’une souche indicatrice sensible (*E.coli* ATCC 25922) lorsqu’elle est au contact d’une souche productrice de carbapénémase (souche à tester).

On utilise les disques de carbapénème suivantes : Ertapénème (meilleur indicateur pour la détection des carbapénemases), Imipénème ou Méropénème.

- Mode opératoire :

- Préparer une suspension de 0.5 Mcf (à l’aide d’un densitomètre) dans un tube stérile d’une souche *E. coli* ATCC 25922 dans 5ml d’eau physiologique.
- diluer l’inoculum au 1/10 éme (ajouter 4.5ml d’eau physiologique à 0.5ml de l’inoculum).
- Ensemencer la dilution sur la gélose (MH) à l’aide d’un écouvillon stérile.
- Déposer un disque d’ertapénème (10µg) ou imipenème au centre de la boite ensemecée.
- On ensemence les souches d’essai en ligne droite du bord du disque au bord de la plaque et ont répété la même chose avec une souche témoin positif (*K.Pneumoni*carbapénémase positif) et une souche témoins négatif (*E. Coli* ATCC 25922 carbapénémases négatifs).
- Le milieu de culture a été incubé à 37°C pendant 16 à 24 heures.

- Interprétation :

Après la période d’incubation les souches productrices de carbapénémases vont pousser jusqu’au contact du disque d’ertapénème ou imipenème.

Un test de Hodge modifié est positif indique la production de carbapénémase par le micro-organisme testé qu'inactive le carbapénème diffusé à partir du disque en permettant la souche E. Coli ATCC 25922 sensible aux carbapénèmes de se développer vers le disque et va donner un aspect d'invagination de la culture.

Un test de hodge modifié est négatif ne montre aucune croissance de E. Coli ATCC 25922 le long de la strie de croissance de la souche d'essai dans la zone de diffusion du disque.

Remarque : le test de Hodge modifié détecte la présence des carbapénémases mais il ne peut pas typer ces enzymes.



Figure 24 : Etude de la sensibilité aux carbapenemes par le test de hodge modifié. Avant l'incubation (**Original**).

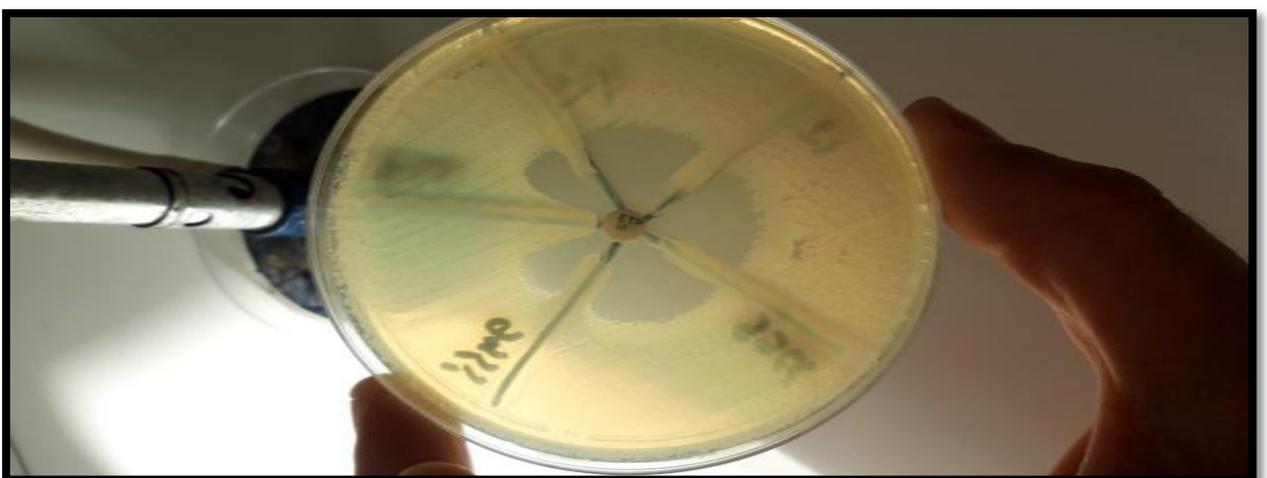


Figure 25 : Etude de la sensibilité aux carbapenemes par le test de hodge modifié. Après l'incubation (**Original**).

II.2.6- Détection des *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* résistant à la céftazidime et/ou l'imipénème et/ou ciprofloxacine :

La sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* a été étudié par la méthode conventionnelle de diffusion des disques en milieu gélosé de Mueller-Hinton (MH) et par la concentration minimale d'inhibitrice (CMI).

Les souches multi-résistantes présentent un diamètre d'inhibition autour un disque de céftazidime (CAZ) ou imipénème (IMP) inférieur à leur valeur critique.

Teste	Céftazidim CAZ (30ug)			Imipénème IMP (10ug)			Ciprofloxacine CIP (5µg)		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≤14	15-17	≥18	≤ 15	16-18	≥ 19	≤15	16-20	≥21
<i>Acinetobacter baumannii</i>	≤14	15-17	≥ 18	≤18	19-21	≥22	≤15	16-20	≥21

Tableau 05 : Valeurs critiques de diamètre d'inhibition de la Céftazidime, de l'imipénème et de la Ciprofloxacine pour les *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* selon les recommandation des CLSI.

II.2.6.1- Recherche des BLSE chez les *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* :

La recherche des *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* productrice de BLSE se fait par :

- **Test de synergie :**

Dans les conditions standards de l'antibiogramme, la recherche des souches productrice des BLSE se fait par un disque AMC ou TCC et un disque de la Ceftazidime CAZ (30µg) qui sont déposés à distance de 30mm centre à centre.

Après l'incubation à 35°C pendant 16 à 18 h, la production d'enzyme se traduit par l'apparition d'une image de synergie entre les disques : AMC-CAZ ou TCC-CAZ.

- **Test de double disque (TDD) :**

Dans les conditions standards de l'antibiogramme.

On dispose un disque de TCC et un disque de la céftazidime (CAZ) à distance de 30 mm (centre à centre) et on laisse l'ATB diffuser pendant une heure à la température ambiante (la boîte sera déposée couvercle vers le haut).

On remplace le disque TCC par un disque de la céftazidime et on l'incube à 35°C pendant 16-18 h.

On dit que le test de double disque quand le diamètre d'inhibition autour de disque de céftazidime appliqué après diffusion du disque AMC est ≥ 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de CAZ.



Figure 26 : test de confirmation (TDD) pour *Pseudomonas aeruginosa* (Original).

II.2.6.2- Recherche des carbapénémase chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* :

A fin d'identifier les *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* productrices carbapénémases, on va faire :

- **Test de Hodge modifié :**

On dilue un inoculum (densité égale à 0.5 Mc) de la souche *E.coli* ATCC 25922 au 1/10 et on l'ensemence par un écouvillon sur la surface de gélose (MH).

On dépose un disque d'imipénème au centre de la boîte ensemencée, après on ensemence les souches en stries radiales à partir de disque et on incube la boîte à 35°C pendant 16 à 20 heures.

Les souches qui ont ensemencé sont :

- Souche témoin positif *Klebsiella pneumoniae*.
- Souche témoin négatif *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Les souches à tester.

Le test est considéré positif lorsqu'on observe une repousse de la souche indicatrice le long de la strie de la souche à tester.

II.2.7- La détection des SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline):

Pour les *Staphylococcus aureus*, les gènes mec A sont les gènes codants responsables de la résistance à la méticilline et d'une résistance croisée entre la différente beta lactamines.

On identifier les *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline par la technique de diffusion des disques d'antibiotiques dans la condition standard de l'antibiogramme à l'aide d'un disque de Céfoxitine FOX (30ug).

Après la période d'incubation (18h à 37°C), les souches méticillinorésistance sont définies par un diamètre d'inhibition ≤ 21 mm.

Antibiotique testé	Diamètre critique (mm)		
	R	I	S
Céfoxitine (30 µg)	≤ 21	-----	≥ 22

Tableau 06 : Valeurs critiques de diamètre d'inhibition de Céfoxitine pour *Staphylococcus aureus* selon les recommandation des CLSI.

II.2.8- Détection de la sensibilité diminuée aux glycopeptide chez *Staphylococcus aureus* :

La détection de la sensibilité des *Staphylococcus aureus* à la glycopeptide a été effectuée par la détermination de la CMI à la

vancomycine par méthode de diffusion en gélose utilisant la bandelette E-test avec une concentration critique fixée à 2 mg/l selon CLSI.

II.2.9- Détection des entérocoques résistant glycopeptides:

La détection des ERV a été réalisée par des techniques phénotypiques (méthode de culture) en basant sur la méthode de diffusion des disques avec l'établissement de l'antibiogramme et la méthode de dilution avec détermination des CMI.

Les souches sensibles à la vancomycine sont indiquées dans la méthode des disques à diffusion par des zones d'inhibition nets et des bords francs.

Les souches résistant à la vancomycine sont indiquées par des bords flous ou la présence des colonies dans la zone d'inhibition.

Antibiotique testé	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
	R	I	S	R	I	S
Vancomycine (30µg)	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 32	8-16	≤ 4

Tableau 07 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus spp.*

II.3- Conservation des souches bactériennes par la congélation :

On conserve les souches bactériennes à une température égale à -20°C.

- **Mode opératoire :**

Inoculer la pente d'un milieu TSA ou HIA et on l'incube à 35-37°C.

Récolter les bactéries sur la pente et réaliser des suspensions bactériennes dans des cryotube en plastique (tube de congélation servant à la conservation à des températures très faibles) contenant un bouillon nutritive (BHIB).

Mettre les cryotubes dans le congélateur.

RESULTATS ET COMMENTAIRES

Après une introduction sur logiciel EXCEL de l'ensemble des résultats des tests microbiologiques et ceux de des données démographiques et cliniques, une analyse a été faite et plusieurs taux et paramètres ont été calculés ;

– Resultats de l'étude prospective :

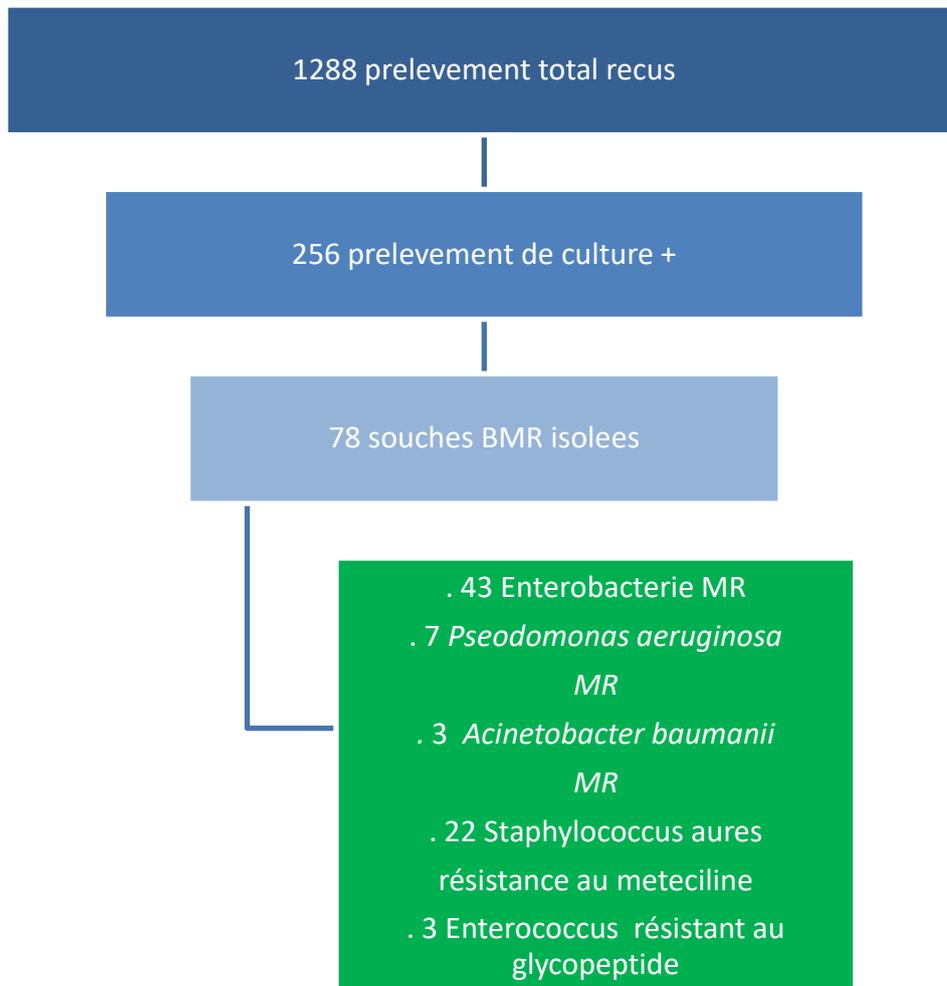


Figure 27: Récapitulatif des résultats globaux de l'étude.

PARTIE I:

I.1- Nature du Prélèvement:

- Durant la période d'Etude, nous avons reçus **1288** prélèvements à visée diagnostic répondant à nos critères d'inclusion.
- Ces 1288 prélèvements sont répartis selon leur type comme montré dans la figure suivante:

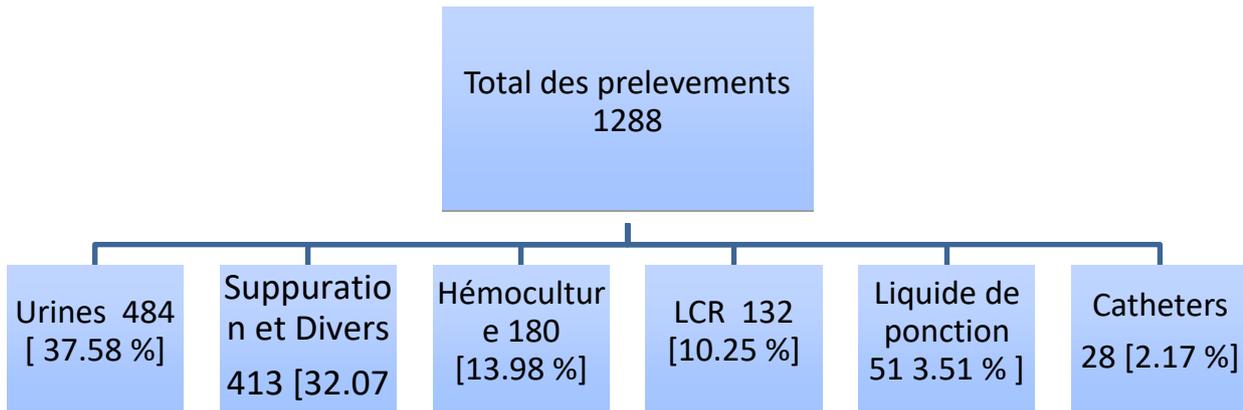


Figure 28: schema represente la repartition des prelevements selon leur nature

Les urines représentent le prélèvement que l'on reçoit le plus fréquemment au niveau du laboratoire pour diagnostic de l'infection urinaire chez le sujet hospitalisé, en effet l'infection urinaire est parmi les infections associées aux soins les plus fréquentes . [ref]

Les suppurations viennent en seconde position, ils s'agit là dans la majorité des cas d'infections sur site opératoire; suivi des hémocultures effectué dans le cadre du diagnostic des bactériémies très fréquentes chez le sujet neutropénique atteint d'hémopathie maligne [ref], sujet faisant partie de notre population d'étude.

I.2- Taux de positivité des cultures bactériennes des différents prélèvements faisant partie de notre échantillonnage:

Sur les 1288 prélèvements inclus 256 ont présenté une culture bactérienne positive soit un taux de positivité de 19.88%

Ce qui revient à dire que pratiquement le 1/5 eme des prélèvements reçus sont revenues positifs,

En ce qui concerne les prélèvements négatifs en culture il peut s'agir soit de réels négatifs et de faux positifs, cette fausse positivité peut être attribué à une antibiothérapie en cours lors du prélèvement, à un transport inadéquat des prélèvements [ref].

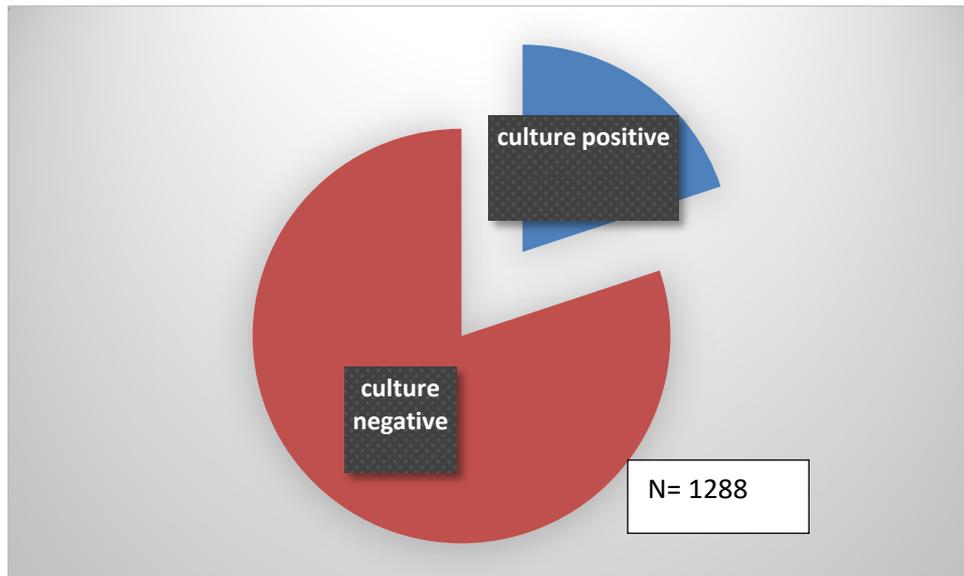


Figure 29 : repartition des cultures bacteriennes selon la positivite .

I.3 - Taux de positivité des cultures bactériennes de chaque type de prélèvements :

- ECBU on a 43 prélèvement de culture positive soit un taux de positivité de 8,88 % (43 / 484) .
- Cathéters : 05 prélèvements de culture positive sur les 25 reçus donc 17.86 % (05 / 28)
- Hémocultures : 27 sont revenues positives sur les 180 soit un taux de 15,00 % (27 / 180) .

- Lequide Cephalo Rachidienne on a 06 prélèvements de culture positif donc 4,55 % (06 / 132) .
- Liquides de Ponction :on a enregistré 04 prélèvements de culture positive donc 7,84 % (04/ 51) .
- Et enfin pour les suppurations diverses on a 171 prélèvements de culture positive donc 41,40 % (171 / 413) . On note de ce fait un taux très élevé de positivité des cultures des prélèvements de suppurations.

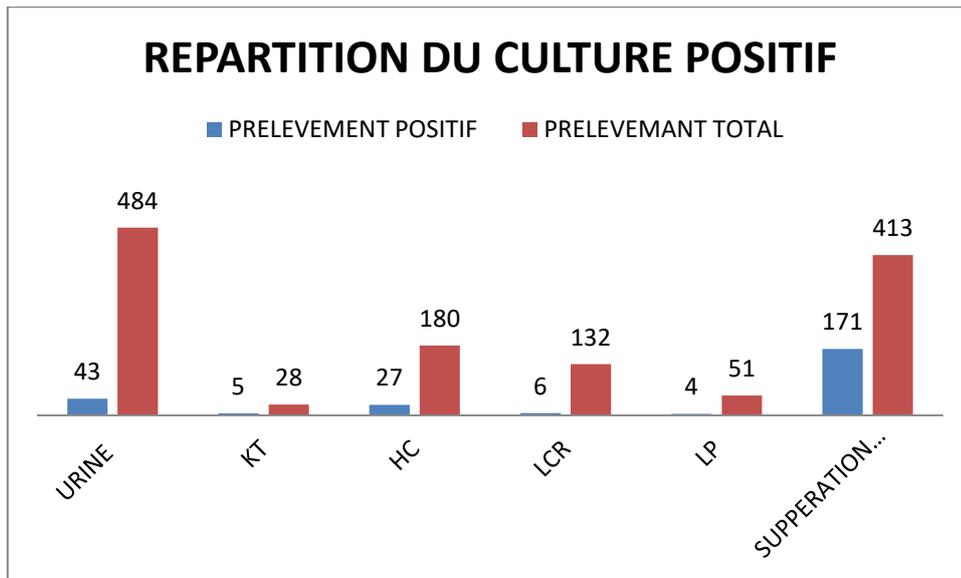


Figure30 : repartition des prelevement positif recus selon les types des prélèvements .

I.4- Distribution des différemments prélèvements inclus selon le service expéditeur:

Différents services étaient demandeurs d'examens cyto bactériologiques comme montré dans le tableau 7 page 72 :

	Chirg	Cardio	Rea	TOT	Nephro	Neuro/Chir	MPL	Covid	Onco
	4	0	5	3	12	2	3	4	2
	0	0	0	0	5	0	0	0	0
	1	3	4	3	5	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	6	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	15	4	5	2	3	7	0	2	1
	21	7	14	8	25	15	3	6	3

Tableau 08: repartition des souches isolees selon les services d'hospitaliaires

Abreviations:

MI : medicine interne .

LP : liquid de ponction .

LCR : liquid cephalo rachidien

CAC : centre anti cancer .

Nous remarquons que le service le plus demandeur d'examen cyto bactériologiques et donc le plus de pourvoyeurs de prélèvements sont ceux du centre anticancer, les patients hospitalisés au sein du CAC sont des sujets immunodéprimés fragilisés, soit opérés dans le cadre du traitement chirurgical de leur pathologie cancéreuse. ou bien il s'agit de sujets neutropéniques souvent en aplasie atteints d'hémopathie maligne, qui constitue une population à risque infectieux [ref].

I.5- Répartition des germes isolés selon les types de Prelevements par Genre :

Des 256 prélèvements, inclus et revenus positifs nous avons sélectionné 308 souches bactériennes qui répondent à nos critères d'inclusion comme mentionné dans le tableau ci après

Germe	Urines	KT	HC	LCR	LP	Supperation et Divers	Total
<i>Enterobacterie s</i>	36	1	14	2	4	98	155
<i>S.aureus</i>	3	3	7	2	0	66	81
<i>P.aeruginosa</i>	2	0	4	1	0	46	53
<i>Enterococcus feacalis et Enterococcus feacium</i>	2	0	1	1	0	8	12
<i>A.baumannii</i>	0	1	1	0	0	5	7
Total	43	5	27	6	4	223	308

Tableau 09 : repartition des germes isolees selon le type de prelevement .

Sur les 308 bactéries constituant notre échantillonnage 155 étaient des entérobactéries ,elles arrivent donc en tete suivi du *S.aureus* avec 81 souches

PARTIE II :

- Le protocole établi pour la détection des souches multirésistantes a permis de mettre en évidence 78 souches multirésistantes.

II.1 - Taux de multirésistantes des différentes bactéries :

Genre	<i>Enterobacteries MR</i>	<i>S.aureus RM</i>	<i>P.aeruginosa MR</i>	<i>A.baumannii MR</i>	<i>Enterocoque ERG</i>	<i>S.a</i> de sensibilité	Total
-------	---------------------------	--------------------	------------------------	-----------------------	------------------------	---------------------------	-------

RESULTATS ET COMMENTAIRES

						dim aux Gly	
BMR	43	22	7	3	3	0	78
Total	155	81	53	7	12	0	308
Taux de souches MRs	43/155 (27.74%)	22/81 (27.16%)	7/53 (13.20%)	Faible Effectif	Faible Effectif	0	78/308 (25.32%)

Tableau 10 : repartition des germes BMR isolees et leur taux .

MR: multirésistant

RM :resistant à la méticilline

ERG:entérocoque resistant aux glycopeptides

FE: faible effectif

Gly : Glycopeptide .

Environ ¼ des bactéries répondant aux critères d'inclusion étaient des BMR ,

II.2- Répartition des différentes BMR détectées :

Les proportions des différentes BMR détectées sont les suivantes :

- *Entérobactéries* multirésistantes : 55,13 % (43 / 78)
- *S.aureus* méticillinorésistants : 28,21 % (22 / 78)
- *P.aeruginosa* multirésistantes : 8,97 % (7 / 78)
- *A.baumannii* multirésistants : 3,85 % (3 / 78)
- *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* résistants aux glycopeptides: 3,85 % (3 / 78)

Les entérobactéries représentent plus de la moitié 43 souches des BMR détectées lors de notre etude suivi des souches *Staphylococcus aureus* méticillinorésistantes 22 souches au contraire en 2016 Les souches multi résistantes d'*Acinetobacter baumannii* étaient prédominantes suivies des ERC3G (Entérobactéries résistantes aux Céphalosporines 3eme Génération) , des SARM (puis des *Pseudomonas aeruginosa* résistants à la Ceftazidime [la these Etat des

lieux de la consommation des antibiotiques au CHU de Blida et de l'antibiorésistance Présentée par :DERBAL AMINA FAID MOUNIR ,HARRATH RABAH mars 2021] .

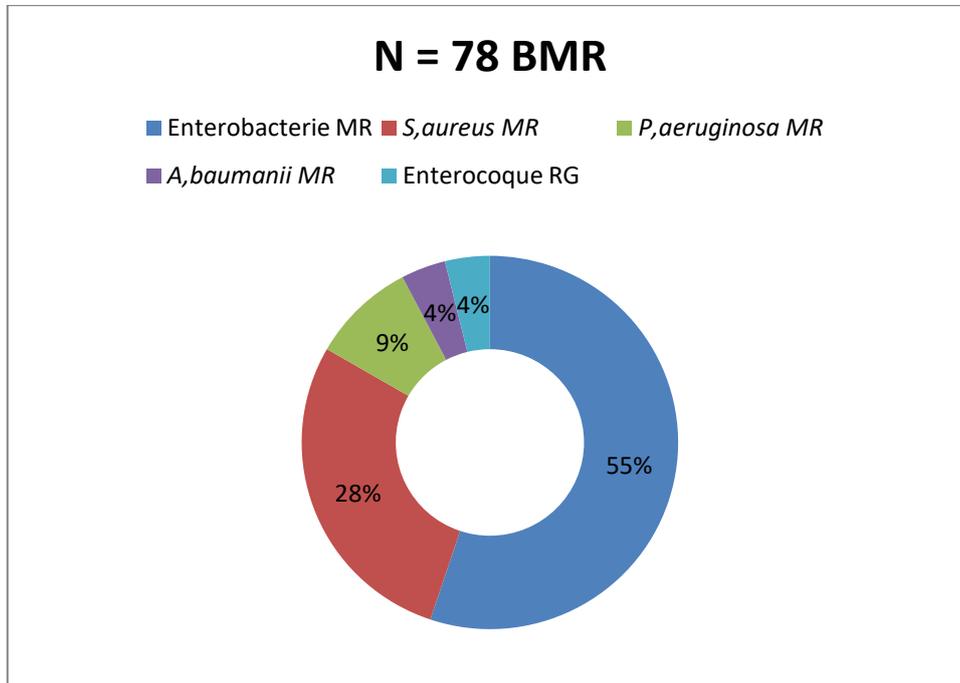


Figure 31 : Répartition des différentes BMR détectées .

II.3- Résultats des tests complémentaires renseignant sur les mécanismes de résistances impliqués :

Les tests complémentaires pour la recherche des différents mécanismes de résistance nous a permis de présenter les résultats ci après :

- *Entérobactéries* BLSE (+) = 30 souches.
- *Enterobactéries* productrice de Carbapénémases = 06 souches.
- *Enterobactéries* résistantes aux C3G = 05 souches.
- *Enterobactéries* BLSE (+) et Carbapénémase (+) = 02 souches.

- *P.aureginosa* BLSE (+) et Carbapénimase (+) = 01 souche.
- *P.aeruginosa* productrice de Carbapénémase = 04 souches.

- *A.baumannii* BLSE (-) et Carbapénémase (+) = 03 souches

- *S.aures* MRSA (+) = 18 souches.

- *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* résistants aux glycopeptides : 03 souche.

Nous notons une diversité des mécanismes d'antibiorésistance, la détection de souches hautement résistantes émergentes est alarmante car en plus du fait des possibilités thérapeutiques restreinte, le risque de dissémination de ces bactéries fait craindre le pire, devant l'isolement de telles souches le rôle d'alerte que joue le microbiologiste est primordiale permettant la mise en œuvre rapide des précautions complémentaires de type contact afin d'éviter les risques de transmission croisée.

II.4- Répartition des germes Multi-résistante selon le sexe :

SEXE	ENTEROBACTERIE MR	<i>P.a</i> MR	<i>A.b</i> MR	<i>S.a</i> RM	Enterocoque RV	Total
Homme	28	4	3	13	2	50
Femme	15	3	0	11	1	28

Tableau 11 : repartition des BMR selon le sexe du patient .

- On voit que les germes BMR sont isolés chez les hommes plus que chez les femmes.
- Taux de portage chez l'homme 64,10 % (50 / 78) .

- Taux de portage chez la femme 35,90 % (28 / 78) .

Conclusion

Les Bactéries Multirésistantes aux Antibiotiques sont un problème majeur de santé publique dans le monde.

Ces bactéries exposent au risque d'impasse thérapeutique, imposent une antibiothérapie probabiliste à large spectre responsable de nouvelles sélections bactériennes.

Les armes dont nous disposons pour lutter contre ces BMR sont basées sur deux principes :

- Prévenir leur dispersion par le strict respect des précautions d'hygiène: Précautions standard et Précautions complémentaires contact avec intensification de l'usage des solutions hydro - alcooliques pour tous . Les mesures spécifiques BHR ont fait la preuve de leur efficacité mais elles sont particulièrement difficiles à mettre en oeuvre .

- Prévenir leur émergence par une politique de bon usage des antibiotiques .

La maîtrise de la diffusion des BMR ne pourra se faire que dans le cadre d'une coopération entre microbiologistes , hygiénistes , cliniciens et l'ensemble de l'équipe soignante .

BIBLIOGRAPHIE

1. Pasteur et Joubert, 1877 ; Duchesne, 1897 ; Fleming, 1929 ; Rosset, 2003
2. **MUYLAERT A., MAINIL J.g.** Service de Bactériologie, Département des Maladies Infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, 20 Boulevard de Colonster, bâtiment 43a, 4000 Liège. Manuscrit soumis le 09/07/2012 Ann. Méd. Vét., 2012, 156, pp 109- 123, Résistances bactériennes aux antibiotiques : les Mécanismes et leur contagiosité
- 3- **Larry M .Bush,MD,FACP, Charles E.** presentation des bactéries .. schnuidt college of medecine Florida university. sept 2020
- 4- **Berg JM, tymoczko JL Stryer L,** MolecularCell Biology, WH Free man, 5ed,2002
- 5- Description et étude des bactéries, Dossier- Les bactéries, leur monde et nous. Future-sciences.com.
- 6- **Pr. Tony Hart,** département de microbiologie, universite de Liverpol, Royaume-Uni, Paul Sheal, Maitre de conférence. Département de microbiologie médicale, université de Liverpool, et école de médecine tropicale de Liverpool, Royaume-Uni, livre de poche, pp 71-74
- 7- Université pierre et Marie curie, Bactériologie, service de bactériologie , 2002-2003.
- 8- définition de plasmide, dictionnaire médical, <https://www.dictionnaire-medical.fr>.
- 9- anatomie fonctionnelle des bactéries, médecine sorbonne université.
- 10- définition des flagelles, Futura santé-Futura-sciences. <https://www.futura-sciences.com>
- 11- structure et physiologie de la bactérie :Anatomie-Structure, Compus de Microbiologie. <http://campus.cerimes.fr>
- 12-**Eisenstein B, Zaleznif .** Enterobacteriaceae in mondell,douglas and bonnets principles and practice of infections diseases 5 eddition 2000
- 13- **Isenberg H.**Enterobacteriaceae, in corbach SL,Bartlett Jg blac klow NR Diseases,Sannders 1992
- 14- **Abhijit chaudhury.** Classification of enterobacteriaceae.2014.
- 15- **Jean FRENEY, François RENAUD, Willy HANSAEN et Claude BOLLET.** Bactériologie clinique. 2000. p 1108
- 16- **Jean dusant,** bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies 6 eme Edition.
- 17- **Patrick Berclé, Jaune-loins gaillard, Michel Simont,** bactériologie, les bactéries des infections humaines. 1988 France.
- 18- Détection caractérisation d'*Escherichia coli*. ResearchGate Gram negative, pink colored, small rod shape *E.coli* researchagate.net
- 19- Entérobactérie LAROUSSE .FR . Extrait de l'ouvrage (larousse médical)
- 20- **J Car jean , D clavé ,M archanbaud, C pasquie .** :- bacteriologie et virologie pratique 2eme Edition.

- 21- **Fritz H, Kayser, Erik C, Botteger, Peter M Zinekermagel,otto Haler, Johannes Eckert, PeterDeplazes**, Manuel de poche de microbiologie médical. science,Flammarion.
- 22- **Béatrice Jan prof. Youri glupczyanski, Dr cari suetens ,Dr Els Van cleuprit**. enquête épidémiologique relative a *Acinetobacter baumannii* productrice de BLSE en Belgique 2004.
- 23- **Elservier Masson**,*Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotique: un modèle d'adaptation.2012
- 24- **J-L avril , H Palirnat, F denis , H monteil**, juin, bactériologie clinique. 1988 France.
- 25- **Anais portron, Katy jannat**. Bacterie *Acinetobacter baumannii*.
- 26- étude de l'épidémiologie moléculaire et de l'écologie d'*Acinetobacter* spp au liban 19 mai 2017
- 27- *Acinetobacter baumannii* aspect microbiologique ,A glariani , laboratoire de microbiologie hôpital A MAMI.
- 28- Identification d'*Acinetobacter* spp au laboratoire. Revue Francophone des laboratoire .avril 2012
- 29- Gram négatif, non mobile *Acinetobacter baumannii* révélé alamyimages.fr
- 30- **William DW**, *Acinetobacter*. Principal SL 2014.
- 31- **Wafi soukaina** ,Epidimiologie et résistance aux antibiotique des isolats clinique d'*Acinetobacter baumannii* a l'hôpital militaire moulay Ismail Meknes 2017.
- 32- **Willcox**, M. D. (2007). *Pseudomonas aeruginosa* infection and inflammation during contact lens wear :a review. *Optometry and Vision Science: Official Publication of the American Academy of Optometry*, 84(4), 273-278. Doi: 10.1097/OPX.0b013e3180439c3
- 33- **C.Nauciel / J-L.Vildé** 2008. livre bactériologie médicale 2eme Éditions page 140-141
- 34- **Sobel J.D. , Kaye D**. Urinary Tract Infections . In : Bennett J.E. , Dolin R. , Blaser M.J. , editors . Mandell , Douglas , and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases . 8th ed . Elsevier Inc. Amsterdam , The Netherlands : 2015. Pp . 886-913.
- 35- **J-Grosjean, D-Clavé, M-Archambaud, C-Pasquier**. livre de bactériologie et virologie pratique 2014 (www.deboeck.com) page 166
- 36- **Gumey J. , Pradier L. , Griffin J.S. , Gougat – Barbera C. , Chan B.K. , Turner P.E. , Kaltz O , Hochberg M.E**. Phage steering of antibiotic – resistance evolution in the bacterial pathogen , *Pseudomonas aeruginosa* . *Evol . Med . Pub . Health* 2020 ; 1 : 148-157
- 37- **Blanc D.S. , Francioli P. , Zanetti G**. Molecular Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in the Intensive Care Units – A Review . *Open Microbiol . J.* 2007,1 : 8-11 . doi : 10.2174 / 1874285800701010008 .
- 38- <https://www.cdc.gov/hai/organisms/pseudomonas.html>
- 39- <https://fr.sawakinome.com/articles/microbiology/difference-between-pseudomonas-aeruginosa-and-pseudomonas-fluorescens.html>

- 40- **François Denis et Christian Martin**, livre bactériologie médicale “Techniques Usuelles” 2^{ème} édition 2011 page 335 – 339
- 41- **Brown V.I. , Lowbury E.J.L.** Use of an improved cetrimide agar medium and other culture methods for *Pseudomonas aeruginosa* . J. Clin . Pathol . 1965 ; 18 : 752-756. Doi : 10.1136 / jcp.18.6.752 .
- 42- **Gajdács M. , Burián K. , Terhes G.** Resistance Levels and Epidemiology of Non – Fermenting Gram – Negative Bacteria in Urinary Tract Infections of Inpatients and Outpatients (RENFUTI) : A 10 – Year Epidemiological Snapshot . Antibiotics . 2019 ; 8 : 143 . doi : 10.3390 / antibiotics8030143 .
43. **Behzadi P. , Behzadi E.** The microbial agents of urinary tract infections at central laboratory of **Dr. Shariati Hospital** , Tehran , Iran . Turk . Klin . Tip Bilim . 2008 ; 28 : e445 .
44. **Meyer J.M. , Neely A. , Stintzi A. , Georges C. , Holder A.I.** Pyoverdinin is essential for virulence of *Pseudomonas aeruginosa* . Infect . Immun . 1996 ; 64 : 518-523 . doi : 10.1128 / 1A1.64.2.518-523.1996 .
45. **Alydice – Francis K. , Brown P.D.** Diversity of Antimicrobial Resistance and Virulence Determinants in *Pseudomonas aeruginosa* Associated with Fresh Vegetables . Int . J. Microbiol . 2012 ; 2012 : e426241 .
46. **Clark S.T. , Caballero J.D. , Cheang M. , Coburn B. , Wang P.W. , Donaldson S.L. , Zhang Y. , Liu M. , Keshavjee S. , Yau Y.C.W , et al .** Phenotypic diversity within a *Pseudomonas aeruginosa* population infecting an adult with cystic fibrosis . Sci . Rep . 2015 ; 5 : 10932 . doi : 10.1038 / srep10932 .
- 47- **V.Bianchi / S.Elanbassi / N.Duployez.** Livre bactériologie virologie (www.deboecksuperieur.com) 2013, page 141.
- 48-**Wertheim HF , Melles DC , Vos MC , van Leeuwen W. Van Belkum A , Verbrugh HA , Nouwen JL .** 2005. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections . Lancet Infect Dis 5 : 751-762 . doi : 10.1016 / S1473-3099 (05) 70295-4.
- 49- **F.Boulaïbal.**Livre Manuel de Microbiologie coordonné. 2013 page 24
- 50- **Jean FRENEY, François RENAUD, Willy HANSEN et Claude BOLLET.** Livre bactériologie Clinique EA Edition Alexa Editions ESKA 2011 page 783-830
- 51-Livre bactériologie médicale “**C.Nauciel / J-L.Vildé** ” 2^{ème} Editions 2008 page 77-80
- 52- **Wertheim HF , Melles DC , Vos MC , van Leeuwen W. Van Belkum A , Verbrugh HA , Nouwen JL.** Staphylocoque *Aureus* MODIFIER 3.. 2005. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections . Lancet Infect Dis 5 : 751-762 . doi : 10.1016 / S1473-3099 (05) 70295-4 .
- 53- **N Engl J Med.** Staphylocoque *Aureus* MODIFIER Lowy FD. Infections à *Staphylococcus aureus*. 20 août 1998 ; 339 (8) : 520-32 . [Résumé : 9709046]
- 54-**Rasigade JP , Vandenesch F.***Staphylococcus aureus* : un pathogène avec des problèmes encore non résolus . Infectez Genet Evol . 2014 Jan ; 21 : 510-4 . [Résumé : 23994773]

55- https://www.researchgate.net/figure/Staphylococcus-aureus-seen-under-microscope-after-Grams-staining_fig1_262014676

56- **Chow S.H** (2020) The role of Staphylococcus aureus Panton-Valentine leukocidin (PVL) in mammalian macrophages (Doctoral dissertation, Monash University)

57- K.Stucki, S.Harbarth, M.Nendaz. Infection à entérocoques : de plus simple au plus complexe.Revue médicale suisse 15 octobre 2014.

58- Dr T.djerboua. pharmacien maitre assistant en microbiologie. les streptocoques (Streptococcus/Enterococcus).. CHU TIZI-OUZOU.2019-2020

59- **Ana Aguilar-Galvez, Robin Dubois-Dauphin, Jacqueline Destain, David Campos, Philippe thonart**. les entérocoques : avantages et inconvénient en biotechnologie.. 7 octobre 2011.

60- **Muriel Fromage , Guillaume Arlet, Christophe de Champs**. Annales du controle national de qualité des analyse de biologie médicale..28 mai 2007.

61- *Enterococcus faecalis* microscopic view, Download scientific researchgate.net

62- Enterococcus-Actualités Médicale Quotidienne medical-actu.com.

63- **J.Grosjean, D.Clavé, M.Archambaud, C.Pasquier**. Bactériologie et virologie pratique. 2eme édition.avril 2011.

64- **Dr mohammedi**. Classification et mode d'action des antibiotiques.

65- Le mode d'action des antibiotiques –les antibiotique .html

66- **Rahal K**. livre , les antibiotiques 2013.

67- **N Ramdani Bouguessa, R Belouni, M Sgheir, A Bbenslimani**. Manuel de microbiologie. Page 92. 2009.

68- tableau des antibiotiques. <https://www.antibio-responsable.fr>

69- **REMI LE GUERM**. Résistance chez les BGN non fermentaire. 24 mai 2019.

70- **Dr Ben ammara**, la résistance bactérienne aux antibiotiques. Résistance bactérienne 2020

71- **M Abbas, A Cherkaoui, C Fankhauser, J Schrenzel, S Harbarth**. Carbapénémases : implications cliniques et épidimiologiques pour la suisse. 25 avril 2012, Page 882.

72- cours, exercice gratuits. La résistance bactérienne aux antibiotiques pdfprof.com.

73- Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques. Doc Player.fr

74- **P Nordmann , L Poirel**. Résistance aux antibiotiques émergentes et importantes chez les bactéries gram négatif : épidémiologie, aspects théoriques et détection. 23 avril 2014.

75- **O Meunier, J Exinger, F Kara**. SARM, ABRI, E.BLSE, ERG et EPC. Des BMR à l'émergence des BHRe. 2016

76- **Dr cristine Bellini et Pr Nicolas Troillet**. Résistance aux antibiotiques : état de lieux en Europe et en Suisse et impact pour le praticien. REV Med suisse 2016.

- 77- **D Berthod, R Pouget, D San Millàn, N Troillet.** Entérobactéries résistantes : explosion des β -lactamases à spectre élargi. Rev med suisse 2012. P 1925
- 78- Entérobactéries productrices de carbapénèmases. Santé publique Ontario. Agence de protection et de promotion de la santé. Janvier 2019.
- 79- **Jennifer Riethmuller,** la résistance des entérobactérie aux carbapénème. université de Strasbourg.2013
- 80- **Ambler R.P, philos, Trans R, Lond b, Biol.** The structure of beta-lactamases. 1980
- 81- **J.antimicrob, j Hoiby.chemother.** Classe A carbapénémases
- 82- **Dr Y.Caspar. grenoble.** les résistances des bacilles Gram négatif 2019-2020.
- 83- **L,Dortet. R,Bonnin. A,Jousset. L,Gauthier. T,Naas.** emergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance 2016.
- 84- **Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J et al.** Emergence of plasmid-mediated colistine resistance mechnism MCR-1 animal and human beings in china : a microbiological and molecular biologica study. 2016
- 85- **Anais potron, Katy Jeannot.** *Acinetobacter baumannii* . Page 4-5
- 86- **Mohammad Hamidian and Ruth M.Hall.** ISAb1 targets a specific position upstream of the intrinsic ampC gene of *Acinetobacter baumannii* leading to cephalosporin resistance.. Journal of antimicrobial chemotherapy 2013. P,2682.
- 87- **Patrice Nordman.** Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. . Medicine/science 26 novembre 2010. Page 956-957.
- 88- **Dr Yosra Chebbi .**Résistance à la colistine chez *A.baumannii* : mécanismes et alternatives thérapeutiques.20 octobre 2018.
- 89- Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie . Recommandations 2012 <http://www.sfm-microbiologie.org>.
- 90- **Masuda N , Sakagawa E , Ohya S , et al .** Substrate specific ties of MexAB – Oprm , MexCD – Oprd , and MexXY – Oprm efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* . Antimicrob Agents Chemother 2000 : 44 : 3322-7.
- 91- **Li XZ , Nikaido H , Poole K.** Role of MexA – MexB – Oprm in antibiotic efflux in *Pseudomonas aeruginosa* . Antimicrob Agents Chemother 1995 ; 39 : 1948-53.
- 92- Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* : our worst nightmare ? Clin Infect Dis 2002 ; 34 : 634-40 .
- 93- Zhao WH , Hu ZQ . Beta – lactamases identified in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* . Crit Rev Microbiol 2010 ; 36 : 245-58 .
- 94- **Trias J. Nikaido H.** Outer membrane protein D2 catalyzes facilitated diffusion of carbapenems and penems through the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* . Antimicrob Agents Chemother 1990 ; 34 : 52-7.
- 95- **Naas T , Nordmann P.** OXA – type beta – lactamases . Current Pharm Design 1999 ; 5 : 865-79 .

- 96- **Poirel L , Naas T , Nordmann P. Diversity** , epidemiology , and genetics of class D B – lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 ; 54 : 24-38.
- 97- **Hocquet D , Dehecq B , Bertrand X , Plésiat P.** Strain – tailored double disk synergy test detects extended – spectrum oxacillinases in *Pseudomonas aeruginosa* . *J Clin Microbiol* 2011 ; 49 : 2262-5
- 98- **Cavallo JD , Leblanc F , Fabre R , Fourticq – Esqueoute A , GESPA .** Surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* sensitivity to antibiotics in France and distribution of beta – lactam resistance mechanisms : 1998 GERPB study . *Pathol Biol* 2000 ; 48 : 472-7 .
- 99- **Hocquet D , Plésiat P , Dehecq B , Mariotte P , Talon D , Bertrand X , ONERBA .** Nationwide investigation of extended – spectrum betalactamases , metallo – beta – lactamases , and extended – spectrum oxacillinases produced by ceftazidime – resistance *Pseudomonas aeruginosa* strains in France . *Antimicrob Agents Chemother* 2010 ; 54 : 3512-5 .
- 100- **Doi Y , de Oliveira Garcia D , Adams J , et al .** Coproduction of novel 16S rRNA methylase RmtD and metallo – beta – lactamase SPM – 1 in a panresistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate from Brazil . *Antimicrob Agents Chemother* 2007 ; 51 : 852-6.
- 101- **Moskowitz SM , Garber E , Chen Y , et al .** Colistin susceptibility testing : evaluation of reliability for cystic fibrosis isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother* 2010 ; 65 : 1416-23 .
- 102- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Flambées d’infections cutanées à *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline associées à la communauté – Comté de Los Angeles , Californie , 2002-2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*2003 février 07:52 (5) : 88.
- 103- **Lowy FD.** Infections à *Staphylococcus aureus*. **N Engl J Med.** 20 août 1998; 339 (8): 520-32.
- 104- **Bouguenoun W.** (2017). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leurs disséminations dans l’environnement hospitalier de la région de Guelma. Thèse Doctorat en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université Badji Mokhtar-Annaba. 218pp.
- 105- BACTÉRIOLOGIE MÉDICALE Techniques usuelles **François Denis / Marie – Cécile Ploy Christian Martin / Vincent Cattoir**
- 106- **Mantion B.** (2015). Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) : de grandes épidémies vers une gestion en routine. . Thèse de Doctorat. Université de Toulouse III – Paul Sabatier.104pp.
- 107- **Douida Y , Abdelhakim S.** (2017). Isolement et caractérisation des souches d’Entérocoques multirésistants en clinique au niveau d’EPH Mohamed Chaabani. Mémoire de Magister.Université A. MIRA – Bejaia.50pp.
- 108- The World top news of sources of nature health.18 mars 2014
- 109- **R.scheer et D.moss.** the environmentale magazine www.emagazine.com 10 jan 2015
- 110- **L.A Stokowsk.RN et MS** conquering antibiotic overuse an expert interview with the CDC *Medscape* nov 2010.

- 111-Article sur la résistance aux antibiotiques www.futura-sciences.com le 04 août 2018.
- 112- **Pr Christian Rabaud**, spécialiste des maladies infectieuses, CHU de Nancy Dr Gilles Urbejtel, médecin généraliste Article publié le 15 janv. 2014
- 113- **W. A. Craig**, « Does the Dose Matter? », Clin. Infect. Dis., vol. 33, n° s3, p. S233-S237, sept. 2001.
- 114- **I. Gustafsson, E. Löwdin, I. Odenholt, et O. Cars**, « Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Parameters for Antimicrobial Effects of Cefotaxime and Amoxicillin in an In Vitro Kinetic Model », Antimicrob. Agents Chemother., vol. 45, n° 9, p. 2436-2440, sept. 2001.
- 115- **J.-D. BAILLY, H. BRUGERE, et H. CHARDON**, Micro-organismes et parasites des viandes : les connaître pour les maîtriser, de l'éleveur au consommateur (Cahier du CIV), vol. 11. CIV, 2012. [176] N. Jarrige, E. Jouy*, M. Haenn, E. Gay, et J.-Y. Madec, « Résapath, Réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales, Bilan 2012 », Lyon, France, oct. 2013
- 116- **P. Sanders**, « L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale », Bull. Académie Vét. Fr., n° 1, p. 137, 2005.
- 117- **M. Swann**, « USE OF ANTIBIOTICS IN ANIMAL HUSBANDRY AND VETERINARY MEDICINE (SWANN REPORT) », London, UK Her Majesty's Stationary Office, nov. 20, 1969.
- 118- « Réseau européen de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques (EARS-Net) : résultats 2001-2010 pour la France et place en Europe », J. Pédiatrie Puériculture, vol.
- 119- Elaboré avec la contribution technique de Marisa Holubar, MD MS & Prof. Stan Deresinski, MD (Stanford University School of Medicine).
- 120- <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> 31 .07.2020.
- 121- CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DES MECANISMES ENZYMATIQUES DE RESISTANCE AUX BETALACTAMINES CHEZ LES ENTEROBACTERIES MULTIRESISTANTES (ETUDE PROSPECTIVE AU CHU BLIDA) **ARIBI Amina ; ATCHI Safaa / juin 2018**
- 122- **Richard A. Harvey Cynthia Nau Cornelissen Bruce D . Fisher**. Microbiology third Edition P19-20.
- 123- Galerie biochimique API. Préparation, lecture <https://microbiologie-clinique.com>
- 124- Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire), 7ème édition 2014.

Liste des annexes

Annexe 01 : Coloration de Gram

Annexe 02 : Galerie biochimique API 20E

Annexe 03 : Identification de CMI par E-test

Annexe 04 : Test à Cloxacilline

Annexe 05 : Test d'inhibition par EDTA

Annexe 06 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries

Annexe 07: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter* spp.

Annexe 08 : Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Annexe 09 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus* spp

ANNEXES

Technique microbiologique :

Annexe 01 : Coloration de Gram : (122)

C'est une technique qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne. Son avantage est de donner des informations de façon rapide, facile sur les bactéries étudiées.

Mode opératoire :

1- Réalisation d'un frottis :

- Déposer une goutte d'eau stérile (ou directement le prélèvement s'il est liquide) sur une lame stérile.
- Ajouter à la goutte une colonie isolée (quand l'isolement a été fait).
- Etaler et fixer à la chaleur d'une platine à environ 40°C.
- Poser la lame séchée sur le portoir.

2- Réalisation de la coloration :

- Coloration de frotti par le violet de gentiane, et laisser agir de 30 à 60 minute puis rincer à l'eau.
- Recouvrir de lugol et laisser agir le même temps que le violet de gentiane, rincé à l'eau.
- Décoloration rapide à l'alcool en versant l'alcool goutte à goutte sur la lame inclinée obliquement.
- Rincer abondamment avec de l'eau pour stopper la décoloration.
- Recoloration à la fuchsine et laisser agir de 30 à 60 second puis laver doucement à l'eau.
- Sécher la lame et observer avec une goutte d'huile à immersion. objectif 100.

Annexe 02 : Galerie biochimique API 20E : (123).

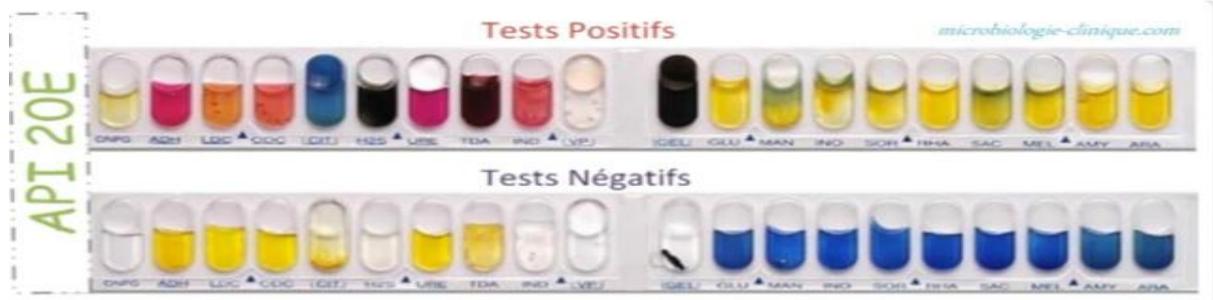


Figure : galerie API20E positive vs negative. (123)

1- Préparation de la galerie :

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

2- Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule de Suspension Medium.
- Prélever une seule colonie bien isolé sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne faible.

3- Inoculation de la galerie :

- les tubules et les cupules des tests du type ICITI.
- Remplir les tubules des tests du type ADH et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l'anaérobiose.
- Remplir uniquement les tubules des tests restants.

Remarque : il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat.

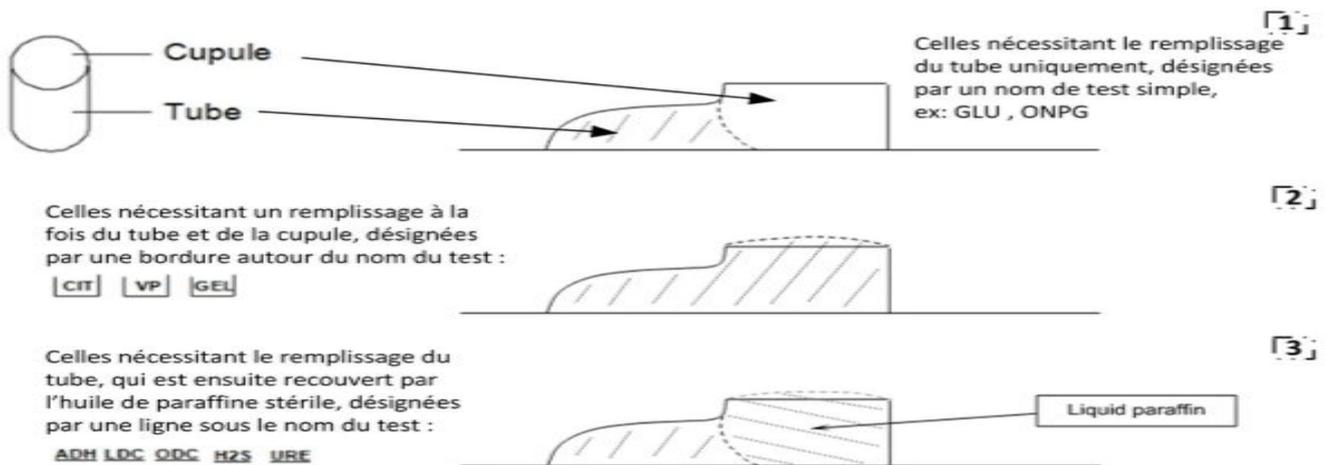


Figure : différents types de remplissage de la galerie API20E.(123)

4- Identification :

- Avec le tableau d'identification : comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau.
- Avec le catalogue analytique : les tests sont regroupés en groupe de 3. Et une valeur (1, 2 ou 4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre à 7 chiffres qui sert de code d'identification.
- Avec un logiciel d'identification.

Annexe 03 : Identification de CMI par E-test : (121).

1- Milieu : on utilise le milieu de MH bien séchées.

2- Préparation de l'inoculum :

- Racler quelques colonies bactériennes bien isolées par une anse de platine à partir d'une culture pure de 18 à 24 d'incubation.
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%.
- Homogénéiser la suspension bactérienne dont son opacité doit être équivalente à 0.5 MF.

3- Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.

- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre le paroi interne du tube.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en striés serrés.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Ensemencer dans les mêmes conditions la souche de références.

4- Dépôt de la bandelette E-test :

- Prélever la bandelette à l'aide de pince bactériologique préalablement flambées au bec benzène (le contact avec les pinces doit se faire au niveau de l'extrémité marquée E).
- Déposer la bandelette délicatement sur la surface gélosée, en commençant par l'extrémité correspondant aux concentrations les plus élevées (éviter la formation de bulles d'air entre la gélose et la bandelette et une fois appliquée la bandelette ne peut être déplacée).
- Laisser la boîte couvercle en haut pendant 15 mn au plus.
- Incuber la boîte dans les conditions requises.

5- Lecture :

- La CMI de l'ATB testé est lue à l'œil nu.
- Elle correspond à la graduation, située à la jonction entre l'ellipse et la bandelette.
- Contrôler la qualité du test par CMI de la souche de référence.
- Lire ensuite la CMI.

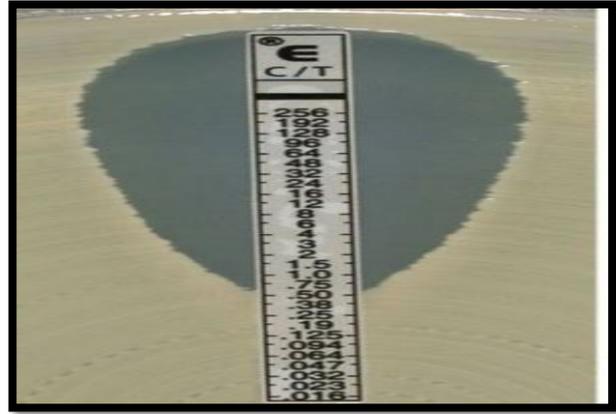
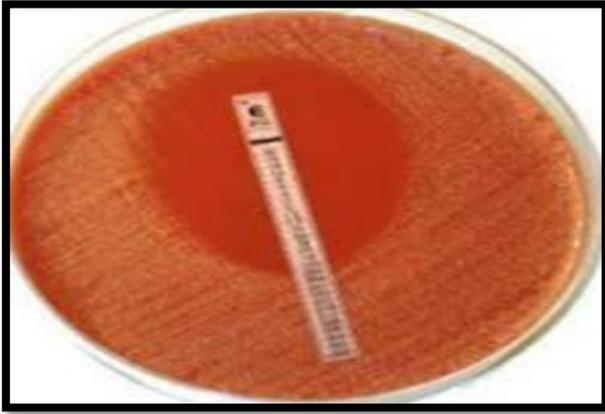


Figure : lecture la CMI par l'utilisation de E-test.

Annexe 04 : Test à Cloxacilline : (121)

On utilise oxacilline au lieu de cloxacilline

1- Protocole :

- Utiliser un milieu de Muller-Hinton additionné de l'oxacilline.
- Déposer les disques d'antibiotiques à tester sur la surface de gélose ensemencé préalablement.
- Incuber la boîte à 35°C pendant 18 h.

2- Lecture et interprétation :

- L'interprétation se fait par la comparaison entre l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de l'oxacilline à celui réalisé sur MH sans oxacilline.
- Noter la différence de diamètre d'inhibition autour de C3G entre les deux tests et la restitution de l'image de synergie entre l'AMC et les C3G.
- L'inhibition de la céphalosporinase entraîne :

L'apparition des phénotypes sauvages de l'entérobactérie ou l'apparition d'autre mécanisme de résistances acquises (synthèse de BLSE, Pénicillinase, Imperméabilité).

Annexe 05 : Test d'inhibition par EDTA :

On a réalisé le test d'inhibition par l'EDTA pour typage le type de carbapénémase (présence de métallo-carbapénémase).

1- Protocole :

- Préparer une suspension bactérienne à partir d'une culture pure.
- Ensemencer la boîte de MH par un écouvillon stérile.
- Déposer un disque d'imipénème et un autre disque contenant l'EDTA combiné avec l'imipénème coté à coté dans le boîte de MH.
- Incuber la boîte à 37°C pendant 16 à 24 h.

2- Interprétation :

- Une augmentation du diamètre d'inhibition du disque IPM+EDTA par rapport au disque IPM seul relève la présence de l'enzyme de type métallo-carbapénémase qui a été inhibé par l'EDTA.

LES ANTIBIOTIQUE TESTE DANS L'ANTIBIOGRAMME

Annexe 06 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries.(124)

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤13	14 – 16	≥17	≥32	16	≤8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤13	14 – 17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfoxitine (2g toutes les 8h), céfotaxime (1g toutes les 8h).
Céfazoline	30µg	≤19	20 – 22	≥23	≥8	4	≤2	Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés.
Céfaloine	30µg	≤14	15 – 17	≥18	≥32	16	≤8	A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).
Céfoxitine	30µg	≤14	15 – 17	≥18	≥32	16	≤8	Pour prédire les résultats des céphalosporines orales quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire, le test de la céfazoline est préféré à celui de la céfalotine.
Céfotaxime	30µg	≤22	23 – 25	≥26	≥4	2	≤1	
Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤14	----	≥15	≥32	----	≤16	Les résultats de la céfazoline permettent de prédire les résultats pour les céphalosporines orales : céfador, céfdinir, céfpodoxime, céfprozil, céfuroxime axétil, céphalexine et loracarbef quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire dues à <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>P. mirabilis</i> . Céfpodoxime, céfdinir et céfuroxime axétil peuvent être testés individuellement car certaines souches peuvent être sensibles à ces antibiotiques alors qu'elles sont résistantes à la céfazoline.
Céftazidime	30µg	≤17	18 – 20	≥21	≥16	8	≤4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1 g toutes les 8h.
Aztréonam	30µg	≤17	18 – 20	≥21	≥16	8	≤4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h.
Impénème	10µg	≤19	20 - 22	≥23	≥4	2	≤1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Impénème : 500 mg toutes les 8h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h.
Ertapénème	10µg	≤18	19 - 21	≥22	≥2	1	≤0,5	La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
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	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'acide nalidixique à l'antibiogramme.
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16 – 20	≥21	≥4	2	≤1	Valable pour entérobactéries autres que <i>Salmonella Typhi</i> et <i>Salmonella</i> spp. extra-intestinales.
Chloramphénicol	30µg	≤12	13 – 17	≥18	≥32	16	≤8	Ne pas reporter en routine pour les souches isolées d'ITU sauf pour les salmonelles. Valable pour <i>S. Typhi</i> et <i>Salmonella</i> spp. extra-intestinales.
Colistine**	CMI	-----	-----	-----	>2	-----	≤2	
Furanes	300µg	≤14	15 – 16	≥17	≥128	64	≤32	
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/ 23.75µg	≤10	11 – 15	≥16	≥4/76	-----	≤2/38	

Annexe 07: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter spp.* (124)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarilline	75 µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128	32-64	≤ 16	Le disque de TCC doit être placé à côté du disque de CAZ. Une synergie entre les 2 disques indique la présence d'une BLSE. (voir recherches complémentaires). Les critères d'interprétation pour l'imipénème sont basés sur la posologie de 500 mg toutes les 6h.
Ticarilline + 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	
Impénème	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	Si résistance à doxycycline, réponse valable pour tétracycline.
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	
Colistine	CMI	-----	-----	-----	≥ 4	-----	≤ 2	La colistine est testée pour usage thérapeutique. Il faut déterminer la CMI.

Annexe 08 : Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa.* (124)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarilline	75 µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128	32 - 64	≤ 16	Les valeurs critiques pour la pipéracilline et la ticarilline (avec ou sans ac clavulanique), sont basées sur une posologie d'au moins 3g toutes les 6 heures.
Ticarilline + ac. clavulanique	75/10µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128/2	32/2 - 64/2	≤ 16/2	Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'ATM (voir chapitre tests complémentaires).
Pipéracilline	100 µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 128	32 - 64	≤ 16	L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises.
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ceftazidime et Aztréonam : 1 g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h. Il est recommandé d'informer les infectiologues, pharmaciens, comité des antibiotiques et CLIN de l'hôpital, de ces nouveaux critères d'interprétation. Consulter le clinicien, en particulier pour les patients spécifiques.
Aztréonam	30 µg	≤ 15	16 - 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8	
Impénème	10 µg	≤ 15	16 - 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2	En cas de diamètre R ou I, faire une détection de carbapénémases (voir recherches complémentaires). Valeurs critiques basées sur une posologie de 1g toutes les 8 heures ou 500mg toutes les 6 heures.
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**	---	---	-----	---	---	----	---	Des observations cliniques suggèrent que les infections dues à des souches pour lesquelles la CMI de la fosfomycine est ≤ 128 mg/L (ECOFF) (Epidemiological cut-off value) pourraient être traitées avec de la fosfomycine.
Colistine	10µg	≤ 10	-----	≥ 11	≥ 8	4	≤ 2	

Annexe 09 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.* (124)

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 valable 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	---	---	---	La résistance à la céfoxitine signifie la résistance à toute la famille des β-lactamines.
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. **
Kanamycine	30 µg	< 13	14 – 17	> 18	≥ 64	32	≤ 16	La détermination de la résistance à l'amikacine est mieux détectée avec la kanamycine. **
Amikacine	30 µg	< 14	15 – 16	> 17	≥ 64	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	
Teicoplanine	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	---	< 2/38	
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-dalphopristine	15 µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	A reporter pour les souches de <i>S. aureus</i> méthicillino-sensibles. Interprétation valable pour la pristinamycine.
Acide fusidique**	10 µg	< 24	-----	≥ 24	> 1		≤ 1	
Fosfomycine IV**		---	-----	---	> 32		≤ 32	