

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

Université SAAD Dahlab-Blida1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie et physiologie cellulaire

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Microbiologie

Laboratoire de recherche : Biotechnologies, Environnement et santé

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master2

Intitulé :

**Evaluation *in vitro* de l'effet des associations des antibiotiques
sur des germes isolés de prélèvements des malades en service de
réanimation**

Présenté et soutenu par : Mlle BELRAMOUL Narimene

le 03/07/2018

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme HAMAIDI F. (MCA) Université de Blida

Promoteur : Mme AIT SAADI N. (MAA) Université de Blida

Examineur : Mme MEKLAT A. (MCA) Université de Blida

Année universitaire

2017/2018

Remerciements

Louange et Gloire à DIEU le Tout Puissant qui m'a permis de mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier chaleureusement ma Promotrice Mme AIT SAADI.N pour tous les efforts inlassables, et toute la patience que vous avez déployée pour que ce travail soit élaboré. Pour tous ses conseils et ses encouragements ainsi que pour toutes ces informations si précieuses, gratuitement livrées.

Ce fut pour moi, un honneur et un grand plaisir d'avoir préparé mon mémoire sous votre direction et nul mot ne qualifie ma gratitude.

Mes vifs remerciements vont pour les membres du jury, à Mme HAMAIDI.F de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ce travail.

A Mme Meklat.A, d'avoir accepté d'examiner mon mémoire de fin d'études.

C'est l'occasion pour moi de vous témoigner estime et respect.

Je présente mes sincères remerciements et ma gratitude au Général major Boubendir responsable du DAPE.

Au colonel chef de service de Microbiologie de l'hôpital central de l'armée (HCA) le Professeur ZEROUKI.A d'avoir accepté de me recevoir dans son laboratoire.

Mes remerciements s'adressent également au personnel du laboratoire : Docteur Hanniche, Commandant Docteur Berrahal, Docteur Bensersa.

Aux biologistes : Ibtissem, Soumia, Naïma, Hamida, Islam, Adjudant Nabil, Adjudant Zahir, Adjudant Rabeh, Dahmane, Krimo, Bilél.

Aux résidents : lieutenant Hamza, lieutenant Mounir, Capitaine Salah Eddine, lieutenant Aïda, Nadjat.

Aux internes : lieutenant Walide et lieutenant Hichem

Au personnel du service de la stérilisation centrale.

Je suis très ravie d'avoir appris beaucoup de choses auprès de vous, merci pour votre aide. Une chose est sûre, je n'aurais rien pu faire sans votre aide.

Je remercie également, Zebbache Samy Oussama, Abdelghani, Fethi, et HAMDIAOUI Salah Eddine pour leur aide

A ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans mon travail, nous les remercions du fond du cœur.



Narimene

Remerciements

Dédicace

A mes chers parents, pour leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chers frères et sœurs, Loubna, Khalil, Lamine, Chahrazed, Ibn Badis et Mohamed pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

*A mes beaux frères et sœurs, Abdelkader, Salim, Leila et Lynda, pour leur appui et leur encouragement,
A mes nièces, Zineb Aya, Maria Elbatoul, Thiziri, Yasmine, Meriem ainsi que mon neveu Mohamed Abdellah*

A toute ma famille et mes chers(es) amis(es) pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

A l'ensemble du personnel du CMS/Sonatrach/Blida à leur tête Mr Khezrouni.Med et Khelifa.S,

Au directeur des œuvres sociales (OSL) Mr Hadj redjem, et à Me Slimani.D chef de région d'Alger / Sonatrach, ainsi que l'ensemble du personnel du laboratoire d'analyses médicales/ Sonatrach/ Saint-Michel

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,

*Merci d'être toujours là pour moi.
Ces quelques lignes ne sauront exprimer toute l'affection et l'amour que je vous porte*

Narimene



Liste des figures

Figure1 : Répartition globale des prélèvements.....	26
Figure2 : Distribution globale des cas positifs et négatifs.....	26
Figure3: Répartition des cas positifs selon chaque type de prélèvement.....	27
Figure 4 : Aspect des colonies des BGN LAC- sur GH.....	30
Figure 5 : Aspect des colonies des BGN LAC+ sur GH.....	30
Figure 6 : Aspect des colonies des BGN sur GSC.....	31
Figure 7 : Aspect des colonies des CGP sur GSC.....	31
Figure8 : Répartition des Gram positifs et négatifs.....	32
Figure 9 : Répartition globale des souches isolées.....	34
Figure 10 : Répartition des souches isolées à partir des urines.....	35
Figure 11 : Répartition des souches isolées à partir des pus.....	36
Figure 12 : Répartition des souches isolées à partir du sang.....	37
Figure 13 : Répartition des souches isolées à partir des LCR.....	37
Figure 14 : Profil de sensibilité et de résistance d' <i>E.coli</i>	38
Figure 15 : Profil de sensibilité et de résistance d' <i>A.baumannii</i>	39
Figure 16 : Profil de sensibilité et de résistance de <i>K.pneumoniae</i>	40
Figure 17 : Profil de sensibilité et de résistance de <i>K.oxytoca</i>	41
Figure 18 : Profil de sensibilité et de résistance de <i>P.aeruginosa</i>	41
Figure 19 : Profil de sensibilité et de résistance de <i>S.aureus</i>	42
Figure 20 : Profil d'antibiorésistance d' <i>Enterococcus sp</i>	43
Figure 21 : Profil d'antibiorésistance d' <i>E.cloacae</i>	44
Figure 22 : Profil de sensibilité et de résistance de <i>S.marcescens</i>	44
Figure 23 : Profil de sensibilité et de résistance de <i>C.freundii</i>	45
Figure 24 : Profil de sensibilité et de résistance de <i>M.morganii</i>	46

Liste des figures

Figure 25 : Répartition des BLSE.....	47
Figure 26 : Répartition des BLSE selon les souches.....	47
Figure 27 : Répartition des SARM.....	48
Figure 28 : Répartition globale des effets des associations des antibiotiques.....	49
Figure 29 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur <i>E.coli</i>	51
Figure 30: Répartition des effets des associations des antibiotiques sur <i>Klebsiella sp</i>	51
Figure 31 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur <i>A.baumannii</i>	52
Figure 32 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur <i>P.aeruginosa</i>	53
Figure 33 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur <i>E.cloacae</i>	53
Figure 34 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur <i>M.morganii</i>	54
Figure 35 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur <i>C.freundii</i>	54
Figure 36 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur <i>P.stuartii</i>	55
Figure 37 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur <i>S.aureus</i>	55
Figure 38 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur <i>S. marcescens</i>	56
Figure 39 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur <i>Enterococcus sp</i>	56
Figure 40 : Répartition de l'effet d'association sur les BLSE.....	57
Figure 41 : Répartition de l'effet d'association sur les SARM.....	57

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Valeurs critiques des diametres des zones d'ihnibition et des CMI pour les Entérobactéries.....	ANNEXE 3
Tableau n°2 : Valeurs critiques des diametres des zones d'ihnibition et des CMI pour les <i>P.aeruginosa</i>	ANNEXE 3
Tableau n°3 : Valeurs critiques des diametres des zones d'ihnibition et des CMI pour <i>A.baumannii</i>.....	ANNEXE 3
Tableau n°4 : Valeurs critiques des diametres des zones d'ihnibition et des CMI pour <i>S.aureus</i>.....	ANNEXE 3
Tableau n°5 : Valeurs critiques des diametres des zones d'ihnibition et des CMI pour <i>Enterococcus sp</i>.....	ANNEXE 3
Tableau n°6 : Techniques d'antibiogramme (Diffusion de disques d'antibiotiques).....	ANNEXE 3
Tableau n°7 : Utilisation des disques d'antibiotiques pour la préparation des solutions et des concentrations à réaliser.....	ANNEXE 3
Tableau n°8 : Répartition des associations en fonction de type de germe.....	24
Tableau n°9 : Aspect macroscopique des colonies bactériennes sur ChromAgar.....	28
Tableau n°10 : Caractères biochimiques des bactéries isolées.....	32
Tableau n°11 : Aspect macroscopique des résultats des associations des antibiotiques.....	49

Liste des abréviations

ADH : Arginine dihydrolase

AMY : Amygdaline

AK : Amikacine

ATM : Aztréonam

AMC : Amoxicilline - Acide clavulanique

AMP : Ampicilline

ARA : Arabinose

BAC : Bactéries

BGN : Bacille à gram négatif

BGNf : Bacille à gram négatif fermentaire

BGNnf : Bacille à gram négatif fermentaire

BMR : Bactéries multi-résistantes

C : Clindamycine

CaOxm : Oxalate de calcium monohydraté

CaOxd : Oxalate de calcium dihydraté

CAZ : Céftazidime

CHL : Cloramphénicol

CHU : Centre hospitalier universitaire

CGN : Cocci à gram négatif

CGP : Cocci à gram positif

CIP : Ciprofloxacine

CIT : Citrate

CLSI : Clinical Laboratory Standards Institute

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CS : Colistine

Liste des abréviations

CTX : Céfotaxime

CRY : Cristaux

CZ : Céfazoline

D : Doxycycline

EBLSE : Entérobactéries productrices de Béta-lactamine à spectre étendu

EHUO : Etablissement Hospitalier Universitaire d'Oran

EPI : Cellules épithéliales

ETP : Ertapénème

FC : Acide fusidique

FOS : Fosfamycine

FOX : Céfoxitine

GEL : Gélatine

GH : Gélose Héктоen

GSC : Gélose au sang cuit

GSF : Gélose au sang frais

GN : Gélose nutritive

Gn : Gentamycine

H₂S : Sulfure d'hydrogène.

HCA : Hôpital central de l'armée

HYA : Cylindres hyalins

IND : Indole

INO : Inositol

IMP : Imipénème

IU : Infection urinaire

KP : *Klebsiella pneumoniae*

LAC : Lactose

LCR : Liquide céphalo-rachidien

Liste des abréviations

LDC : Lysine décarboxylase

LPS : Lipopolysaccharide

MEL : D-melibiose

MEM : Méropénème

MUC : Mucus

NA : Acide nalidixique

NEC : Cellules non-épithéliales

NET : Nétilmicine

NI : Nitrofurane

ODC : Ornithine décarboxylase

OFX : Ofloxacin

ONPG : Ortho-Nitro-Phényl-Galactosidase

PAT : Cylindres pathologiques

PIP : Pipéracilline

PLP : Protéines de liaison aux pénicillines

PN : Polynucléaires

PTN : Pristinamycine

RA : Rifampicine

RBC : Erythrocytes

RHA : L-rhamnose

S : Streptomycine

SAC : saccharose

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

SOR : Sorbitol

SXT : Triméthoprime-sulfaméthoxazole

TDA : Tryptophane

TCC : Ticarcilline + acide clavulanique

Liste des abréviations

TE : Tétracycline

TEC : Teicoplanine

TIC : Ticarcilline

TOB : Tobramycine

TRI : Triméthoprim

URE : Urée

USIN : Unité de soins intensifs néonataux

VA : Vancomycine

VP : Voges Proskauer

WBC : Leucocytes

YEA : Levures

Résumé

Thème : Evaluation *in vitro* de l'effet des associations des antibiotiques sur des germes isolés de prélèvements des malades en service de réanimation

Plusieurs études ont suggéré que la mortalité des infections en général et en réanimation en particulier était associée à l'espèce bactérienne. La prescription d'antibiotique et l'évaluation de la réponse au traitement sont une pratique quotidienne en réanimation. De ce fait, l'utilisation massive et répétée d'antibiotiques en santé humaine génère au fil du temps une augmentation des résistances bactériennes. Les associations sont souvent utiles, voire nécessaires. Elles doivent se baser sur des arguments théoriques dont la plupart sont discutables. Par contre les effets des diverses associations sont extrêmement variables. Ils peuvent être indifférents, additifs, synergiques et antagonistes.

L'objectif de cette étude est d'évaluer, *in vitro* les effets des associations des antibiotiques sur des bactéries isolées à partir des prélèvements de malades en réanimation. Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'hôpital central de l'armée (HCA). L'isolement des bactéries sur un total de 758 prélèvements de différente provenance (Urines, pus, sang et LCR), a été effectué par les techniques usuelles sur différents milieux de culture (gélose nutritive, Héктоen, gélose au sang frais et ChromAgar). L'identification biochimique a permis de révéler une prédominance des Bacilles Gram négatif avec un pourcentage de 86%, et des cocci Gram positif qui représente 14% du total des prélèvements positifs représentant 20%.

Le profil d'antibiorésistance est réalisé soit par technique automatisée via VITEK2, soit manuellement selon les recommandations du CLSI. Les principaux résultats montrent que parmi les 34 souches d'*E.coli* isolées, 90% sont sensibles à l'Amikacine (Ak) et à l'Ertapénème (ETP) et 64% à la Céfotaxime (CTX). 100% des souches isolées d'*Acinetobacter baumannii* soit (40 Souches) sont sensible à la colistine (CS), 10% sont intermédiaires et 90% sont sensibles à la Rifampicine (RA). Pour 22 souches isolées de *Klebsiella pneumoniae* 0% de résistance pour l'AK, 22% pour l'ETP et 40% pour le CTX. Parmi les 74 souches d'entérobactérie isolées des différents prélèvements 21 sont des BLSE qui représentent 28%. A partir des 10 souches de *Staphylococcus aureus*, 50% sont des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM).

Le choix des associations a été basé sur les résultats de l'antibiogramme. Nous n'avons testé que les antibiotiques pour lesquelles les souches étudiées étaient sensibles. La méthode utilisée est celle des dilutions en milieu liquide. Le but recherché pour une association est la synergie. Ceci n'a été observé que dans 12% de l'ensemble des cas étudiés. L'indifférence a été observée dans 59% des cas et l'effet additif était de 6%. L'association est même néfaste donnant un effet antagoniste, observé dans 23% des cas.

Mots clés : Réanimation, infections, antibiotiques, associations, résistance.

Résumé

موضوع : تقييم مخبري لأثر مزج المضادات الحيوية على الجراثيم المعزولة من عينات المرضى في وحدات العناية المركزة.

اقترحت العديد من الدراسات أن الوفيات من جراء العدوى بشكل عام وفي العناية المركزة على وجه الخصوص كانت مرتبطة بأنواع البكتيرية. إن وصف المضادات الحيوية وتقييم الاستجابة للعلاج هي ممارسة يومية في العناية المركزة. ونتيجة لذلك ، فإن الاستخدام المبالغ فيه والمتكرر للمضادات الحيوية يولد مع مرور الوقت زيادة في المقاومة البكتيرية. مزيج المضادات غالبا ما يكون مفيد ، حتى ضروري . يجب أن يستند على الحجج النظرية ، ومعظمها قابلة للنقاش. من ناحية أخرى ، فإن تأثيرات مزيج المضادات المختلفة هي متغيرة للغاية. يمكن أن تكون غير متأثرة ، ذات أثر إضافي ، تآزرية و متنافرة.

تهدف هذه الدراسة المخبرية إلى تقييم آثار مزج المضادات الحيوية على البكتيريا المعزولة انطلاقا من عينات بيولوجية لمرضى في حالة الإنعاش، وقد أنجز عملنا هذا على مستوى مخبر الميكروبيولوجيا بالمستشفى المركزي للجيش (HCA).

لقد تم عزل البكتيريا من مجموع 758 حالة من مصادر تحليل مختلفة (بول، قيح، سائل دماغي شوكي، دم) بواسطة تقنيات مألوفة الاستخدام، على أوساط مختلفة لتكاثر البكتيريا (مادة هلامية مغذية، مادة هلامية لدم سائل)، ولقد سمح التحديد البيو كيميائي بإظهار تغلب عصية بكتيرية غرام سالب بنسبة 86% وكرية بكتيرية غرام موجب بنسبة 14% من مجموع 20% من العينات الموجبة.

إن المظهر المضاد للمقاومة البيولوجية قد أنجز إما بواسطة تقنية آلية عبر " VITEK2 " أو يدويا حسب توجيهات CLCI.

إن النتائج الأساسية تين أنه من بين الشرائح الـ 32، *E.coli* ، المعزولة، 90% منها كانت حساسة للمضاد الحيوي AMIKACINE ، وـ ETP ، وـ CTX ، 100% من الشرائح المعزولة لـ *A.baumannii* أي 40 سلالة كانت حساسة لـ CS ، 10% كانت وسيطة، 90% كانت حساسة لـ RA ، و من مجموع 22 شريحة معزولة ، *K.pneumoniae* 0% من المقاومة لـ AK ، 22% لـ ETD ، و 40% لـ CTX . من بين 74 شريحة لبكتيريا الجهاز الهضمي معزولة لعينات مختلفة منها كانت عبارة عن BLSE ، وتمثل 28% . من مجموع 10 شرائح لـ *S.aureus* ، 50% كانت عبارة عن *S.aureus* مقاومة للميتيسيلين .

إن اختيار مزيج المضادات الحيوية قد ارتكز على نتائج تحليل محدد لتأثير مضاد حيوي على سلالات البكتيريا، لم يختبر إلا المضادات الحيوية التي كانت السلالات المدروسة حساسة لها، وكانت الطريقة المستخدمة هي تلك الخاصة بتخفيف الأوساط السائلة، والهدف المتوفي لخليط معين هو التأزر، ولم يكن ذلك ملاحظا إلى في 12% من مجموع الحالات المدروسة.

ولقد لوحظ عدم التأثير في 59% من الحالات، والأثر الإضافي كان بنسبة 6%، وقد كان المزج ضارا، ذلك بإعطاء أثر تنافري في 23% من الحالات.

كلمات مفتاحية: الإنعاش، العدوى ، المضادات الحيوية، مزيج المضادات الحيوية، المقاومة.

Abstract

Them : In vitro evaluation of the effect of associations of antibiotics on isolated germs from samples of patients in intensive care units.

Several studies have suggested that the mortality of infections in general and in intensive care in particular was associated with the bacterial species. The prescription of antibiotics and the evaluation of the response to treatment are a daily practice in resuscitation. As a result, the massive and repeated use of antibiotics in human health generates over time an increase in bacterial resistance. Associations are often useful, even necessary. They must be based on theoretical arguments, most of which are debatable. On the other hand, the effects of the various associations are extremely variable. They can be indifferent, additive, synergistic and antagonistic.

The objective of this study is to evaluate, in vitro, the effects of antibiotic associations on bacteria isolated from the samples of patients in intensive care. Our work was done at the Microbiology laboratory of the Central Army Hospital (HCA). The isolation of the bacteria from a total of 758 samples, and from different sources (urine, pus, blood and CSF) was carried out by the usual techniques on different growth medium (nutrient agar, Hektoen, fresh blood agar and ChromAgar). The biochemical identification revealed that only 20% of the samples showed 86% predominance of gram-negative bacilli, and 14% with gram-positive cocci .

The antimicrobial resistance profile is performed either by automated technique via VITEK2 or manually according to CLSI recommendations. The main results show that among the 34 strains of *E.coli* isolated 90% were sensitive to Amikacin (Ak) and Ertapenem (ETP), and 64% to Cefotaxime (CTX). 100% of strains isolated from *Acinetobacter baumannii* (40 Strains) are sensitive to colistin (CS), 10% were intermediate and 90% sensitive to Rifampicin (RA). For up to 22 isolated strains of *Klebsiella pneumoniae* 0% resistance for AK, 22% for ETP and 40% for CTX. With in strains of Enterobacteria isolated from the various samples, 21 samples were ESBLs that represent 28%. From the 10 strains of *Staphylococcus aureus*, 50% are methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

The choice of associations was based on the results of the antibiogram. We tested only those antibiotics for which the strains studied were sensitive. The method used consisted of dilutions in a liquid medium. The objectives for an association is synergy, this was only observed in 12% of all cases studied. Indifference was observed in 59% of cases and the additive effect was only of 6%. The association, observed in 23% of cases, was even harmful showing antagonistic effect.

Key words: Resuscitation, infections, antibiotics, associations, resistance.

Abstract

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Introduction.....	15
Chapitre I : Synthèse bibliographique.....	17
I-1-Généralités sur la réanimation.....	17
I-2- Bactéries isolées des patients en réanimation.....	18
I-2-1-Bacilles Gram négatif (BGN).....	18
I-2-2-Cocci Gram positif (CGP).....	21
I-2-3-Cocci Gram négatif (CGN).....	22
I-3- Antibiothérapie.....	22
I-3-1-Principales classes d'antibiotiques utilisables en réanimation.....	22
I-3-2-Antibiorésistance.....	25
I-4- Etude du pouvoir bactéricide des associations d'antibiotiques.....	27
I-4-1-Indications de l'utilisation d'une association.....	27
I-4-2-Définition des interactions.....	27
I-4-3-Choix des associations d'antibiotiques à étudier.....	28
I-4-4-Réévaluation d'une association curative.....	28
Chapitre II : Matériel et Méthodes.....	29
Chapitre III : Résultats et interprétation.....	40
Chapitre IV : Discussion	72
Conclusion.....	78
Références bibliographiques.....	65
Annexes	

Introduction

La réanimation est une discipline médicale prenant en charge des patients graves, instables, nécessitant une à plusieurs suppléances d'organe. En dépit des progrès médicaux, la mortalité dans les services de réanimation reste élevée (environ 20%) avec de grandes variabilités selon les spécificités des services **(Walrave, 2016)**.

Plusieurs études ont suggéré que la mortalité des infections en général et en réanimation en particulier était associée à l'espèce bactérienne. Ainsi selon l'espèce microbienne responsable de la pathologie infectieuse, la gravité du tableau clinique et l'issue de l'épisode infectieux seraient différentes **(Zahar, 2012)**. Les bacilles à Gram négatif, les entérobactéries et *P.aeruginosa* principalement, représentaient la majorité des bactériémies en aplasie. Depuis, la proportion des infections dues aux cocci Gram positif a fortement augmenté pour devenir majoritaire **(Bouglé et al., 2014)**.

La prescription d'antibiotique et l'évaluation de la réponse au traitement sont une pratique quotidienne en réanimation **(Pajot et Regnier, 2007)**. Ces molécules peuvent avoir une action bactéricide entraînant une diminution de la population bactérienne initiale ou une action bactériostatique avec seulement une inhibition du développement bactérien **(Eddayab, 2012)**.

L'utilisation rationnelle des antibiotiques est donc essentielle. Elle repose sur la connaissance des produits utilisés, l'analyse de l'infection à traiter, la prise en compte du terrain sur lequel elle survient, l'épidémiologie bactérienne et l'évolution des résistances **(Regragui, 2010)**. Sur les 17 classes actuelles d'antibiotiques, pour chacun d'entre eux existe au moins un mécanisme de résistance **(Batraud, 2017)**. Les prescriptions inadaptées et l'apparition de résistances bactériennes semblent liées. Les conséquences ne sont pas négligeables en raison d'un impact clinique avec un risque d'échec de l'antibiothérapie et de taux de morbi-mortalité augmentés **(Ghazali, 2012)**.

Le traitement en urgence d'une infection grave non diagnostiquée, l'association de deux antibiotiques à spectre d'activité complémentaire sera instaurée après avoir effectué les prélèvements nécessaires au diagnostic et modifiée éventuellement en fonction des résultats bactériologiques. Les infections à germes multiples, où un seul antibiotique ne peut pas être actif sur l'ensemble de la population bactérienne **(Courvalin et Leclercq, 2012)**.

Dans les divers domaines de la médecine, lors d'une infection grave, il peut être tentant d'associer des antibiotiques. Cela pour conforter et sécuriser le prescripteur dans son choix thérapeutique. Mais l'association d'antibiotiques ne se résume pas seulement à une addition des pouvoirs antibactériens de chacun des composants **(Milan, 2003)**.

Introduction

En effet, de cette association peut résulter une synergie, un antagonisme ou une addition. Plusieurs objectifs sont recherchés dans ces association (**Milan, 2003**), dans le but d'augmenter la bactéricidie, d'élargir le spectre antibactérien, voire de prévenir l'émergence de mutants résistants (**Auboyer, 2000**).

L'objectif de notre étude consiste à isoler des germes à partir de prélèvements provenant de malades de la réanimation, et mettre en évidence l'effet de différentes associations sur les bactéries identifier, après avoir réalisé leurs profil de sensibilité et de résistance.

I-1 – Généralités sur la réanimation

La réanimation est la prise en charge de patients dans un état grave au pronostic vital engagé, présentant la défaillance d'un ou plusieurs organes. Selon les organes atteints, ces défaillances vont durer un temps variable de quelques jours à plusieurs semaines (parfois mois) en fonction de l'évolution de la maladie traitée. D'une façon générale, les patients sont particulièrement sensibles à l'infection, fatigables, et peuvent parfois se trouver dans une situation ayant imposée de les endormir, limitant le contact avec eux (**Mayet et al., 2015**).

I-1-1 Services de réanimation

Il est habituel de distinguer plusieurs types de structures de réanimation selon que le malade nécessite ou non un acte chirurgical et, notamment, la réanimation médicale et la réanimation chirurgicale (**Legrand, 2010**).

A - Services de réanimation médicale

Ils prennent en charge au titre de la réanimation l'ensemble des patients relevant des disciplines médicales ; ils peuvent néanmoins comporter une part de patients ayant bénéficié d'une intervention chirurgicale (**Sougane, 2006 ; Mamoutou, 2010 ; Niare, 2012**).

B- Services ou unités de réanimation chirurgicale

Ils prennent en charge au titre de la réanimation des patients relevant des disciplines chirurgicales. Ils peuvent néanmoins comporter des patients qui n'ont pas bénéficié d'intervention chirurgicale. Ces services ou unités doivent être rattachés à un département ou un service d'anesthésie réanimation chirurgicale ou faire l'objet d'une convention avec le même service, en vue de l'optimisation des moyens disponibles, notamment dans le cadre de la garde médicale (**Sougane, 2006 ; Mamoutou, 2010 ; Niare, 2012**).

C- Services de réanimation médico-chirurgicale (polyvalente)

Ils prennent en charge indifféremment des patients issus des disciplines médicales ou chirurgicales (**Sougane, 2006 ; Mamoutou, 2010 ; Niare, 2012**).

D- Service de réanimation néonatale

Il prend en charge des nouveau-nés hospitalisés en unités de soins intensifs néonataux (USIN). Il a connu une amélioration au cours des trois dernières décennies grâce aux progrès thérapeutiques (surfactant, ventilation, alimentation parentérale. . .) permettant une augmentation de la survie des nouveau-nés gravement malades (**Maoulainine et al., 2014**).

Synthèse bibliographique

I-2-Bactéries isolées des patients en réanimation

Plusieurs études ont suggéré que la mortalité des infections en général et en réanimation en particulier était associée à l'espèce bactérienne. Ainsi selon l'espèce microbienne responsable de la pathologie infectieuse, la gravité du tableau clinique et l'issue de l'épisode infectieux seraient différentes (Zahar, 2012).

les étiologies des infections urinaires (IU) compliquées sont décrites comme plus variées et moins prévisibles que les IU simples. Le spectre de germes est hétérogène, avec une plus grande variété de bacilles gram négatif y compris les non fermentants et d'autres bactéries à gram positif (Réveillon, 2017).

I-2-1 - Bacilles Gram négatif (BGN)

Les bacilles Gram négatif (BGN) sont des bactéries fréquemment rencontrées en clinique, tant au niveau des flores normales qu'en tant qu'agent pathogène dans une variété d'infections (Savard et al, 2015). Généralement, on les divise en deux grands groupes : les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires (Medboua, 2011).

I-2-1-1-Bacilles Gram négatif fermentaire (BGNF) (Entérobactéries)

Le nom d'entérobactéries a été donné parce que ces bactéries sont en général des hôtes normaux ou pathologiques, suivant les espèces microbiennes, du tube digestif de l'homme et des animaux. On les trouve aussi dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux. On les rencontre dans le sol, l'eau et dans certaines denrées alimentaires (Achmour, 2012).

Toutes les entérobactéries répondent à la définition générale suivante: Bacilles à Gram négatif, mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles (Exemple : les genres *Shigella* et *Klebsiella*), poussent facilement sur des milieux de culture ordinaires à 37°C, aérobies-anaérobies facultatifs, fermentent le glucose avec ou sans production de gaz, réduisent les nitrates en nitrites, possèdent une catalase (à l'exception de l'espèce *Shigella dysenteriae*), ne possèdent pas d'oxydase et ne sont pas sporogènes (El bouamri, 2017).

Les entérobactéries sont parmi les souches les plus fréquemment isolées chez les patients hospitalisés. Elles sont souvent responsables d'infections urinaires, pulmonaires, de septicémies mais également d'autres infections intra-abdominales (Bouguenoun, 2017).

a-*E.coli*

Généralement mobile grâce à une ciliature péritriche, aéro-anaérobie facultatif (Ayad, 2017), cette bactérie possède également des caractères biochimiques particuliers permettant de la différencier des espèces voisines. Il s'agit de la production d'indole à partir de tryptophane. L'absence d'utilisation du citrate comme source de carbone et l'absence de production d'acétoïne (Joly et Reynaud, 2007).

Synthèse bibliographique

b-Klebsiella pneumoniae

Bactéries immobiles anaérobies facultatifs (El Fertas et al, 2012; Srinivasan et al, 2012). Le diagnostic du genre *Klebsiella* est orienté par l'immobilité constante, le caractère muqueux des colonies et le grand nombre de sucres fermentés (Beaudoux, 2009).

c-Enterobacter cloacae

Enterobacter cloacae et *Enterobacter aerogenes* sont les deux pathogènes majeurs à l'intérieur du genre *Enterobacter*. Ce sont des pathogènes opportunistes surtout impliqués dans des infections nosocomiales chez des patients fragilisés : principalement bactériémies, infections respiratoires et urinaires (Weitz, 2017).

d-Proteae

Ce sont des bactéries de l'environnement et des commensaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Ce groupe comprend les genres: *Proteus* avec les espèces *mirabilis*, *vulgaris* et *penneri*. *Morganella* avec l'espèce *morganii*. *Providencia* avec les espèces *stuartii*, *rettgeri*, *alcalifaciens*, et *rustigianii*. Toutes ces bactéries produisent des désaminases (tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase). Les *Proteus* produisent en outre une uréase. En bactériologie médicale, on les isole au cours d'infections urinaires, respiratoires ou autres, en raison de leur pouvoir alcalinisant dû à l'uréase (Khayar, 2011).

e-Serratia sp

La principale espèce pathogène du genre est *Serratia marcescens* qui provoque habituellement des infections nosocomiales. Toutefois, des souches de *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*, *S. rubidaea* et *S. odorifera* ont causé des maladies à travers des infections (Basilio, 2009).

f-Citrobacter sp

Ils sont des bactéries présentes dans l'environnement, commensales de l'intestin de l'homme et des animaux, pouvant intervenir dans les gastro-entérites. Le plus souvent, elles sont pathogènes opportunistes responsables d'infections nosocomiales. *C. freundii*, *C. youngae*, *C. barakii*, *C. koseri* sont des espèces courantes (Delarras, 2014).

g-Yersinia sp

Ce genre bactérien comprend 3 espèces pathogènes pour l'homme : *Yersinia pestis*, *Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis*. *Yersinia pestis* est l'agent causatif de la peste. *Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis* sont des agents pathogènes d'origine alimentaire, répandus dans l'environnement et fréquemment isolés à partir d'animaux infectés (Souna, 2011).

Synthèse bibliographique

h-Salmonella

Elles peuvent être isolées de l'intestin de nombreuses espèces animales (volailles, porc...). Ce sont des agents zoonotiques. Les animaux forment un réservoir et la dissémination provient de contaminations fécales essentiellement. Les intoxications sont liées à la consommation d'aliments ou d'eau contaminés. Elles se développent entre 5 et 46°C et sont détruites par un chauffage suffisant à une température et une durée suffisante. La congélation ou la surgélation a peu d'effets sur la population des salmonelles dans un aliment. Elle ne garantit en aucune manière la destruction d'un nombre suffisant de bactéries viables (**Birembaux, 2014**).

i-Shigella

Sont ainsi nommées en l'honneur du bactériologiste japonais Kiyoshi Shiga (1870-1957) qui découvrit l'agent de la dysenterie bacillaire en 1897. Ce sont des pathogènes strictes des humains et sont sous forme de courts bâtonnets de 2 à 3 µm de long, immobiles, aflagellés, non encapsulés. Leur température optimale de croissance est de 37°C en milieu aéro ou anaérobie (**Goita, 2014**).

I-2-1-2- Bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGNnf)

Ils sont des bactéries aérobies strictes qui se développent habituellement sur milieu ordinaire (**Ramoul, 2014**). Ces bacilles à métabolisme oxydatif ne fermentent pas les sucres en anaérobiose et sont qualifiées de « non fermentants » ou « non fermentaires », *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* sont deux espèces types dans ce vaste groupes (**Elaiboud, 2013**).

Ils ont des bactéries ubiquitaires retrouvées dans l'environnement (sols, eaux...) et pouvant être responsables d'infections cliniques. Elles sont dites pathogène opportunistes car, bien que pouvant être isolées d'infections communautaires, elles sont le plus souvent responsables d'infections nosocomiales (**Liaqid, 2012**).

a- *Pseudomonas sp*

Ce genre est caractérisé par un métabolisme oxydatif et non fermentatif, utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons, et même quelques souches utilisent la dénitrification (les nitrates sont parfois utilisés comme accepteur d'électrons ce qui permet une croissance en anaérobiose) (**Mezaache, 2012**). En milieu hospitalier, l'épidémiologie de *P.aeruginosa* est endémo épidémique, variant selon le type de l'unité concernée. *P.aeruginosa* infecte préférentiellement les sujets hospitalisés dans les unités de soins intensifs et de chirurgie, où le risque de colonisation et d'infection est important vu le terrain particulier des patients et la fréquence des manœuvres invasives. Il est susceptible de coloniser la peau, le tube digestif, le nez et la gorge de l'homme. Il est responsable essentiellement d'infections nosocomiales chez des patients fragilisés (**Ben Abdallah et al., 2008**).

Synthèse bibliographique

b-Acinetobacter sp

Bergey's manual de bactériologie systématique a classé le genre *Acinetobacter* dans la famille de *Neisseriaceae* mais cette disposition a jamais été formellement approuvée par les taxonomistes. Après cela les développements taxonomiques sont aboutis à la proposition que les membres du genre doivent être classés dans la nouvelle famille *Moraxellaceae* (Liazid, 2012).

Le genre *Acinetobacter* regroupe des bacilles à Gram négatif, immobiles, aérobies stricts, non fermentants, à catalase positive et oxydase négative. Leur pourcentage de bases G+C (G+C%) est compris entre 39 et 47% (Tiry, 2015). Il comprend 17 espèces, l'espèce *A. Baumannii* commensal de la flore cutanée est la principale espèce responsable d'infection chez l'être humain (Qassimi, 2010).

I-2-2- Cocci gram positif (CGP)

Sous cette dénomination sont regroupées des espèces bactériennes constituées par des cellules de formes arrondies, cocci ou coques, immobiles à gram positif, aero-anaérobie facultatif qui ont un intérêt médical considérable. Les entérocoques sont au troisième rang des microorganismes responsables d'endocardite infectieuse (EI). Ils représentent 10 à 14% des agents en cause dans les EI, derrière le *Staphylococcus aureus* (26,6%), et les streptocoques oraux (18,7%) (Ouamri, 2015).

A-Staphylocoques

Elles sont des bactéries sphériques (coques) aérobie-anaérobie facultative, très résistantes dans le milieu extérieur et peu exigeantes en culture. *S. aureus*, communément appelé staphylocoque doré, est un staphylocoque à coagulase positive. Il a été nommé ainsi par Rosenbach en 1884 en raison de la production de caroténoïdes donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique (Couderc, 2015). *S. aureus* est défini comme un commensal humain normal ayant le potentiel de provoquer des infections opportunistes. La niche écologique primaire de cette espèce étant les fosses nasales antérieures (Alioua, 2015).

B-Streptocoques

Le manuel de Bergey sur la bactériologie systématique décrit les streptocoques comme des bactéries Gram positif, catalase négative, anaérobie facultative formant des cellules ovoïdes ou sphériques de moins de 2µm de diamètre. Cependant les streptocoques poussent en présence d'oxygène (O₂) et ne possèdent pas de métabolisme respiratoire. Certaines souches de *Streptococcus pneumoniae* et certains *Streptococcus viridans* demandent un taux élevé de CO₂ (5%) pour la croissance. La croissance de beaucoup de souches de streptocoques est stimulée dans un milieu atmosphérique enrichi de CO₂ 3. Les streptocoques sont nutritionnellement fastidieux avec une demande de variabilité nutritionnelle ; et poussent sur milieu complexe additionné de sang ou de sérum. Ce sont des bactéries fragiles, très généralement parasites des muqueuses en particulier buccales, digestives et rhinopharyngées (Diallo, 2010).

C-Enterocoques

Les entérocoques sont des bactéries anaérobies et commensales du tube digestif humain, du périnée, du vagin et de l'oropharynx. L'infection à entérocoque est essentiellement d'origine endogène, à partir de la flore du patient. Cependant, des études réalisées lors d'épidémies nosocomiales ont pu démontrer l'existence d'acquisition exogène à partir de l'environnement hospitalier (**Ouamri, 2015**).

I-2-3- Cocci à Gram négatif (CGN)

Ils sont des aérobies qui regroupent deux genres : *Neisseria* et *Branhamella*. Ce sont des cocci à Gram négatif « en grains de café », aérobies stricts, oxydase positif, catalase positif. Les deux principales espèces de *Neisseria* pathogènes sont *N.meningitidis* (également appelé le méningocoque) et *N.gonorrhoeae* (entraînant des infections urogénitales) (**Denis et al., 2016**). L'infection invasive à méningocoque (IIM) est une maladie peu fréquente mais grave, touchant principalement les nourrissons et les enfants (**Mullie, 2014**).

Le genre *Branhamella* est représenté principalement par *B.catarrhalis*. Cette espèce est une bactérie commensale des voies respiratoires supérieures, qui peut être responsable d'infections, notamment respiratoires (**Denis et al., 2016**).

I-3-Antibiothérapie

L'administration d'antibiotique est fréquente en réanimation. Une optimisation des doses, rythmes et voies d'administration sont nécessaires pour améliorer le devenir des patients en sepsis sévère (**Bouras et al., 2017**).

La prescription d'antibiotiques en réanimation est singulière car il s'agit initialement d'une prescription probabiliste dans l'urgence thérapeutique. Si celle-ci est un pari sur la nature et la sensibilité du pathogène, elle doit être rapidement efficace, car le délai d'adaptation des traitements anti-infectieux est un facteur pronostic de bonne évolution clinique (**Zhang et al., 2015**).

En théorie, la prescription d'un antibiotique doit se faire dans un contexte clinique infectieux, bactériologiquement documenté, chez un patient avec un pronostic sérieux: ceci paraît un geste médical simple. La réalité est différente et les facteurs de prescription sont multiples, dont certains ni scientifiques ni objectifs (**Ouhhan, 2017**).

I.3.1 - Principales classes d'ATB utilisables en réanimation

Les antibiotiques sont soit bactériostatiques (lutter contre la multiplication des bactéries et permettre aux défenses de l'homme de prendre le relais), soit bactéricides (destruction de la bactérie), en fonction de leur concentration dans le milieu intérieur, ou expérimentalement, dans le milieu de culture (**Cohen et Jacquot, 2008**) (**Ait-mouhoub, 2015**). Un antibiotique est dit temps-dépendant lorsque ses effets augmentent avec la

Synthèse bibliographique

durée (T) pendant laquelle la molécule est en contact avec la bactérie à une concentration excédant la concentration minimale inhibitrice (CMI) ($T > CMI$). Il est dit concentration-dépendant lorsque ses effets dépendent de l'augmentation de sa concentration par rapport à la CMI (**Muylaert et Mainil, 2014**).

L'effet post-antibiotique c'est le temps de maintien de la suppression de la croissance bactérienne après avoir enlevé l'antibiotique du milieu (*in vitro*) ou après que les concentrations sont devenues inférieures à la CMI (*in vivo*) (**Bousquet et al., 2012**).

L'activité antibactérienne est caractérisée *in vitro* par :

- la concentration Minimale Inhibitrice (CMI) c'est la concentration minimale d'antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible après 18 à 24 h d'incubation à 35°C (**Calop et al., 2008**).
- la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) c'est la concentration minimale d'antibiotique laissant un nombre de survivants inférieur ou égal à 0,01% (diminution de 3 logs) d'un inoculum standardisé à 10⁵-10⁶ bactéries/mL (**Calop et al., 2008**).

I.3.1.1-Béta-lactamines

béta-lactamines sont des composés naturels (**Maleck Vasseur, 2014**), ou semi-synthétiques (**Boisson, 2016**). Ils constituent la famille d'antibiotiques la plus importante, aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes (**Liaqid, 2012**). Ils sont les antibiotiques les plus prescrits en réanimation (**Bouras et al., 2017**). Le succès de cette famille d'antibiotiques réside dans sa grande variété de mode d'administration, son large spectre d'activité antibactérien associé à une action bactéricide, sa bonne diffusion tissulaire, sa bonne tolérance, et son faible nombre d'interactions médicamenteuses (**Capitain, 2010**).

a- Les pénicillines (ou pénames)

Les pénames possèdent un cycle thiazolidine associé au noyau β -lactame. Ce cycle saturé comporte 5 atomes dont un atome de soufre en position 1. La première β -lactamine introduite en clinique était la pénicilline G (benzylpénicilline), mise sur le marché aux États-Unis en 1946 (**Soroka, 2016**). Le spectre d'action de la pénicilline G est large, il comprend entre autres les cocci gram positif (streptocoques, pneumocoques), les cocci gram négatif (gonocoques et meningocoques), les bacilles gram positif (*listeria*), les spirochetes (*borrelia*, *leptospira*, *treponema*) et les anaérobies stricts (*actinomyces*, *clostridium*...). Ce spectre d'action est commun à toutes les pénicillines (**Dutitre-Patrao, 2016**).

b- Les céphalosporines (ou céphèmes)

Les céphalosporines se distinguent chimiquement des pénicillines par le remplacement du cycle thiazolidine par un cycle dihydrothiazine (**Regragui, 2010**). Ces β -lactamines sont toutes à large spectre et leur intérêt réside surtout dans leur activité sur les

Synthèse bibliographique

bacilles à Gram négatif. Les céphalosporines sont traditionnellement divisées en quatre générations sur la base de leur spectre antibactérien, et surtout de leur comportement vis-à-vis des céphalosporinases (**Bibbal, 2008**).

c-Les carbapénèmes

Ils sont les bêta-lactamines dont le spectre d'activité est le plus large, notamment vis-à-vis des entérobactéries (**Holman, 2016**). L'imipénème, le méropénème et l'ertapénème ont été les trois premiers représentants disponibles en clinique. Parmi les nouvelles carbapénèmes, le doripénème garde une meilleure activité sur les bacilles à Gram négatif et particulièrement sur les aérobies stricts (**Merad Boudia, 2014**).

d-Les monobactames

Leur noyau se caractérise par la présence du noyau monocyclique, azétidine, limité au cycle β -lactame. Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle prescrit (**Irzi, 2011**).

I.3.1.2-Aminosides

Les aminosides, également appelés aminoglycosides sont des molécules naturelles produites par des actinomycètes ou en sont dérivées par hémi-synthèse. Les premiers aminosides étaient la streptomycine et la néomycine, suivies de la gentamicine, l'amikacine, la netilmicine et la tobramycine (**Khennouchi, 2016**). L'activité bactéricide concentration-dépendante est bien démontrée pour les aminoglycosides (**Langhendries, 2013**). Ils possèdent un spectre d'activité antibactérien large justifiant que certaines spécialités soient réservées à l'hôpital pour combattre les infections bactériennes sévères (**Dorosz al., 2011**).

I.3.1.3-Fluoroquinolones

Les fluoroquinolones dérivent des quinolones, d'où l'appellation « quinolones de deuxième génération ». Ce sont des antibiotiques de synthèse, qui possèdent toutes un atome de fluor. Elles possèdent une activité bactéricide utilisée en clinique depuis les années 1980. Ce sont des composés qui couvrent presque tous les pathogènes connus, avec une diffusion tissulaire et intracellulaire remarquable. Ainsi les fluoroquinolones constituent une alternative intéressante, en particulier pour lutter contre les organismes résistants aux autres antibiotiques tels que les macrolides ou les pénicillines (**Cazes Marie, 2017**).

I.3.1.4-Macrolides

Les macrolides sont des molécules naturelles et hémi-synthétiques (**Oberlé, 2012**). Dans cette catégorie sont regroupés des antibiotiques de structures chimiques différentes mais dont les modes d'action et les spectres d'activité sont similaires (**Janin, 2010 ; Bousquet et al., 2012**).

Synthèse bibliographique

I.3.1.5-Glycopéptides

De structure complexe (**Haddadi, 2013**), les glycopeptides sont des antibiotiques principalement utilisés pour leur activité anti-SARM/SERM (*Staphylococcus aureus*/epidermidis résistants à la methiciline). Ils sont représentés par la vancomycine et la teicoplanine. Ce sont des antibiotiques temps dépendants, de bactéricidie lente sans effet post-antibiotique. Ces antibiotiques doivent donc être administrés en continu afin d'atteindre les objectifs pharmacocinétiques mais également afin de diminuer les effets indésirables notamment rénaux (**Bouras et al., 2017**).

I.3.1.6-Polymyxines

Les polymyxines constituent une famille d'antibiotique bactéricide. Ce sont des décapeptides dont 7 acides aminés sont associés au sein d'un cycle. Un acide gras est attaché au peptide en position terminal. Ils ont un spectre étroit sont actives sur les bactéries à Gram négatif à l'exclusion des Proteus, Providencia, Serratia et les anaérobies, Les polymyxines A, D, C sont trop toxiques, c'est pour cette raison que seules les polymyxines B et E sont utilisées (**Matthew et al., 2010**).

I-3-2- Antibiorésistance

Les antibiotiques ont une caractéristique singulière: ils n'agissent pas sur l'homme (au contraire des médicaments de l'hypertension, du diabète...) mais sur les bactéries. Ils agissent d'abord, ce qui est le but, sur les bactéries du foyer infectieux bactérien diagnostiqué (ou suspecté) qui sont en général peu nombreuses (quelques millions en tout). Mais ils agissent aussi sur nos innombrables bactéries commensales, ce qui est un effet secondaire indésirable mais inévitable. Sous l'effet de l'antibiotique, les rares bactéries commensales qui portent des mécanismes de résistance (mutations, acquisition de gènes provenant d'autres bactéries) prolifèrent et remplacent les bactéries sensibles. Les bactéries ainsi «sélectionnées» peuvent être transmises à d'autres personnes (transmission croisée). Elles peuvent aussi transférer les gènes qui codent pour leurs mécanismes de résistance à des bactéries sensibles, qui deviennent résistantes à leur tour. La pression de sélection par les antibiotiques et la transmission croisée sont les deux facteurs qui alimentent la résistance bactérienne (**Bouchaud et al., 2013**). La connaissance des mécanismes d'action des différentes molécules antibiotiques permet de comprendre les mécanismes d'échappement que peuvent présenter et parfois développer les microorganismes (**Lacroute, 2014**).

I.3.2.1-Mécanisme génétiques de la résistance

Certaines bactéries sont résistantes naturellement (résistance innée) et d'autres le deviennent secondairement (résistance acquise). Cette capacité d'évolution est témoin de la plasticité du patrimoine génétique bactérien. Les mécanismes comprennent les mutations et le partage d'ADN entre bactéries (**Bouguenna, 2016**).

Synthèse bibliographique

a-Résistance naturelle

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques. On dit que cette résistance est innée ou naturelle. Leur patrimoine génétique leur permet de se défendre grâce à plusieurs techniques. La résistance peut être due à la structure de la bactérie (par exemple, les mycoplasmes par leur absence de paroi sont insensibles aux bêta-lactamines) ou à l'impossibilité pour l'antibiotique de pénétrer dans la cellule (les bactéries gram négatives grâce à leur membrane externe sont insensibles à la vancomycine) (Scott, 2009 ; Guerin-fauble, 2010).

b-Résistance acquise

Plus inquiétante, la résistance acquise entraîne la résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était sensible auparavant. Cette résistance peut survenir via une mutation (directement sur le chromosome bactérien) ou plus fréquemment par acquisition de matériel génétique mobile (plasmide, transposon, intégron ...) permettant dans les deux cas de contourner l'effet délétère de l'antibiotique (Scott, 2009 ; Guerin-fauble, 2010). En général, les mutations permettent aux bactéries de se doter d'une résistance à un antibiotique ou une famille d'antibiotique, alors que, via un plasmide, elles peuvent acquérir simultanément une résistance pour plusieurs antibiotiques ou plusieurs familles d'antibiotiques (Coustès, 2016).

I.3.2.3-Antibiotiques critiques

Tous les antibiotiques exercent une pression de sélection, et tous doivent faire l'objet d'une utilisation raisonnée. Cependant, il est admis que certains antibiotiques puissent être plus particulièrement générateurs de résistances bactériennes en tenant compte de leur impact sur les flores commensales et de leur action anti-anaérobie (Dominique, 2016).

I.3.2.4-Emergence des bactéries multirésistances (BMR)

Une BMR est une bactérie qui, du fait de l'accumulation des résistances naturelles et / ou acquises, elle n'est sensible qu'à un petit nombre d'ATB habituellement actifs en thérapeutique (résistance à plus de trois familles d'antibiotiques différentes). En milieu hospitalier, la diffusion des BMR se fait à partir de patients infectés ou colonisés, ces patients, appelés porteurs de BMR, sont les principaux réservoirs à dépister rapidement, localiser et cibler par des mesures préventives visant à limiter la diffusion de ces germes (Randani Boughazi et al., 2011)

a-Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE)

Les BLSE sont des pénicillinases codées par des gènes qui ont accumulé les modifications et ont évolué vers un élargissement du spectre de l'enzyme qui est devenu capable d'hydrolyser la presque totalité des β -lactamines connues. Les phénotypes de résistance correspondant aux pénicillinases de haut niveau et aux céphalosporines de haut niveau ne diffèrent de celui des BLSE que par le seul marqueur : la sensibilité à la ceftazidime. L'hydrolyse de la ceftazidime peut être difficile à détecter ou insuffisante in vitro

Synthèse bibliographique

alors que l'ensemble des céphalosporines de troisième génération sont cliniquement inactive in vivo (**Ahanogbe, 2014**). Les souches productrices de BLSE étaient souvent associées à des épidémies nosocomiales, notamment en unités de soins intensifs (USI) (**Vincent, 2008 ; Vodovar, 2013**).

b- *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM)

Le terme SARM est plus une dénomination historique puisque ces derniers sont aujourd'hui résistants, voir multirésistants, à plusieurs classes d'antibiotique différentes. Cette résistance historique à la méthicilline et à presque toutes les bêta-lactamines est conférée par le gène *mecA* codant pour une protéine de liaison à la pénicilline modifiée (PBP2a). De façon constitutive, les *S. aureus* possèdent des protéines périplasmiques de liaison à la pénicilline (PBP). Les PBP effectuent la transpeptidation du peptidoglycane de la paroi bactérienne chez *S. aureus*. Les bêta-lactamines sont des analogues du substrat des PBPs bloquant leur fonction de transpeptidation. La PBP2a n'est pas affectée par les bêta-lactamines ce qui provoque une résistance envers ces antibiotiques. Les souches de *S. aureus* sont considérées résistantes à la méthicilline lorsqu'elles présentent une CMI supérieure ou égale à 4 ug/ml (**Bernier-lachance, 2015**).

I.4-Etude du pouvoir bactéricide des associations d'antibiotiques

I.4.1-Indications de l'utilisation d'une association

- Le traitement en urgence d'une infection grave non diagnostiquée : l'association de deux antibiotiques à spectre d'activité complémentaire sera instaurée après avoir effectué les prélèvements nécessaires au diagnostic et modifiée éventuellement en fonction des résultats bactériologiques (**Courvalin et Leclercq, 2012**).
- Les infections à germes multiples, où un seul antibiotique ne peut pas être actif sur l'ensemble de la population bactérienne (**Courvalin et Leclercq, 2012**).
- L'obtention d'un effet synergique et d'une action bactéricide rapide constitue la raison essentielle de l'utilisation d'une association d'antibiotiques. Cette plus grande efficacité thérapeutique a pu être démontrée expérimentalement et confirmée par l'expérience clinique, dans le traitement des infections graves telles que les septicémies, les endocardites, les ostéites, les arthrites septiques, les infections des sujets immunodéprimés... par exemple (**Courvalin et Leclercq, 2012**).
- Le risque de sélection de mutants résistants (**Khayat et al, 2014**). Le recours à une biantibiothérapie peut être justifié par la gravité de l'infection (**Gouin et Veber, 2009**).

I.4.2-Définition des interactions

Les effets antibactériens des associations d'antibiotiques sont généralement définis par les quatre possibilités d'interactions suivantes (**Courvalin et Leclercq, 2012**) :

Synthèse bibliographique

- a. Indifférence : l'activité de l'un des antibiotiques n'est pas affectée par la présence de l'autre.
- b. Addition : l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque antibiotique étudié isolément à la même concentration que dans l'association.
- c. Synergique : l'effet est significativement supérieur à la somme des effets de chaque antibiotique étudié isolément à la même concentration.
- d. Antagonisme : l'association diminue l'activité de l'un ou l'autre des antibiotiques. Son activité est inférieure à la somme des effets de chaque antibiotique pris indépendamment.

In vitro, la caractérisation de ces interactions dépend de la précision des méthodes utilisées; c'est pourquoi les effets indifférents et additifs, traduisant une faible interaction, ne sont pas toujours différenciés.

I.4.3-choix des associations d'antibiotiques à étudier

Le choix des antibiotiques est fonction (**Khiraat et al., 2014**) :

- Du germe et de son phénotype de résistance.
- De la capacité des antibiotiques à diffuser au niveau du foyer infectieux
- De la voie d'administration souhaitée
- Des risques toxiques
- Des éventuels effets secondaires.

L'association d'antibiotique répond à des règles :

- Ne pas associer de médicaments ayant des effets antagonistes.
- Ne pas associer de médicaments de même famille.
- Ne pas associer de médicaments de même mode d'action.

I.4.4-Réévaluation d'une association curative

Les associations d'antibiotiques accentuent la pression de sélection et majorent le coût du traitement. Elles ne sont le plus souvent justifiées qu'en début de traitement. L'élargissement du spectre n'est plus légitime, dès lors que le diagnostic bactériologique est obtenu et que le traitement peut être ciblé. Les preuves cliniques du bien-fondé de l'emploi d'une association pour obtenir un effet synergique sont rares. On peut supposer qu'après deux à trois jours, maximum cinq jours de traitement, l'état du patient s'étant amélioré, l'inoculum bactérien étant réduit, il soit raisonnable de supprimer un des partenaires de l'association. Une très large expérience conforte cette attitude qui peut être appliquée à de nombreuses situations cliniques (**Claude et Vincent, 2005**).

Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital central de l'armée (HCA) : Mohamed Sghir Enkache, dont le but est d'effectuer des isolements de bactéries à partir des prélèvements de patients des services de réanimation, ensuite tester le pouvoir bactéricide des antibiotiques et de leurs associations sur les germes identifiés, durant une période de 4 mois (du 11 février au 10 mai 2018).

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé dans notre étude (milieux de culture, disques d'antibiotiques...) est consigné en **Annexe n°1**.

II.1.2. Matériel biologique

Pour le matériel biologique, nous avons reçu au niveau du laboratoire 758 prélèvements. Ces derniers sont accomplis par le personnel du service de la réanimation. Un minimum de renseignements cliniques concernant le patient doit accompagner les prélèvements (**Annexe n°2**).

➤ Condition de prélèvements

Certaines conditions sont impérativement respectées au moment de la récolte des échantillons :

- ✓ L'urine doit être de la 1^{ère} miction du matin, toutefois, en cas d'urgence l'E.C.B.U peut être pratiqué sur un prélèvement effectué 4 heures ou plus après la dernière miction.
- ✓ Le sang est prélevé au moment des pics fébriles ou des frissons. 2 -3 prélèvements/24h suffisent. Il est introduit directement dans 1 flacon aérobie Bact/ALERT SA, et/ou 1 flacon anaérobie Bact/ALERT SN, flacon Bact/ALERT PF (Pour un enfant), ou bien des flacons BD BACTEC FX40 (tout dépend de l'automate utilisé).
- ✓ Le prélèvement du LCR est effectué dans les conditions rigoureuses d'asepsie soit par : Ponction lombaire, Ponction sous occipitale, ou directement dans les ventricules.

Les prélèvements seront par la suite acheminés et distribués sur les différentes paillasse par les coursiers du laboratoire. L'acheminement doit être immédiat au laboratoire dans un délai le plus court possible, si le transport est différé : un milieu de transport bactérien doit être utilisé pour les Pus. Les urines doivent être conservées au réfrigérateur à +4°C sans dépasser une heure. Les flacons d'hémoculture doivent être stockés à température ambiante entre 20 -25°C et au maximum 24h.

II.2. Méthodes

Les règles d'asepsie sont parfaitement respectées au cours de toutes les techniques utilisées.

A-Techniques d'isolement des bactéries à partir des prélèvements biologiques

A-1 : Premier jour

Une fois le prélèvement est reçu nous devons d'abord vérifier la fiche de renseignements, en suite nous procédons à l'examen macroscopique. Le Pus peut être d'aspect : citrin, transparent, trouble ou purulent ou hémorragique. Les urines peuvent être d'aspect : clair, trouble, hématurique, purulent.. Le LCR normal est un liquide clair, limpide, qualifié «eau de roche» alors que le LCR pathologique à divers aspects

a- Etude microscopique

- Urines

L'étude microscopique est faite à l'aide d'un analyseur microscopique "UriSed mini" semi-automatique. Son utilisation est simple et pratique. Il faut Vérifier le code-barres et introduire le numéro de l'échantillon, ensuite l'échantillon est mélangé et aspiré avec une pipette manuelle de 250 µl, puis il est injecté dans la cuvette, en pressant la touche START, la mesure automatique va être démarrée. L'analyseur prend 15 images complètes du sédiment urinaire à travers le champ de vision du microscope intégré, et les évalue en utilisant le module d'évaluation AIEM (Un logiciel de traitement d'images de haute qualité). Les images et les résultats peuvent ensuite être consultés et validés dans le menu utilisateur de l'UriSed Mini. Les particules détectées sont : Erythrocytes (RBC); Leucocytes (WBC); Cylindres hyalins (HYA); Cylindres pathologiques(PAT); Cellules épithéliales (EPI); Cellules non-épithéliales (NEC); Bactéries (BAC); Levures (YEA); Cristaux (CRY): Oxalate de calcium monohydraté (CaOxm), Oxalate de calcium dihydraté (CaOxd) ; Mucus (MUC). La culture est lancée, soit en cas de présence de bactéries soit si le nombre de PN dépasse 10 éléments /mm³, soit les deux. La mise en culture est systématique pour les enfants et les nourrissons.

- Pus divers

L'étude microscopique est faite sauf pour les prélèvements de pus qui sont liquide à l'aide d'un microscope optique. Nous introduisons entre lame (Nageotte ou Malassez) et lamelle quelque gouttes aspiré à l'aide d'une pipette jetable stérile (en plastique) à usage unique. L'observation est faite au grossissement ×40. L'étude quantitative permet d'énumérer les leucocytes / mm³, et noter la présence ou l'absence de bactéries. Le lancement de culture est systématique.

- LCR

Une culture doit être effectuée systématiquement avant l'examen microscopique. Une étude quantitative doit être effectuée (numération d'éléments /mm³; leucocytes polynucléaires

Matériel et méthodes

(PN) et lymphocytes) en utilisant la cellule de Nageotte ou Malassez . La présence ou l'absence de bactéries et d'hématies doit être notée. Si le nombre d'éléments dépassera le 100 éléments/mm³, nous devons faire un équilibre, en comptant le nombre des PN et le nombre de lymphocytes, après avoir préparé un frottis coloré au Bleu de méthylène :

- PN > Lymphocytes ==> méningite bactérienne.
- PN < Lymphocytes ==> méningite virale.

❖ Réalisation du frottis

Une goutte de LCR, est déposée sur une lame puis étaler à l'aide d'une anse stérile jetable par des mouvements cylindriques de l'intérieur vers l'extérieur. Le frottis est séché à l'air libre, ensuite fixé par la chaleur (02 ou 03 légers passages sur la flamme). La lame est ensuite recouverte par le bleu de méthylène et laissée en contact pendant une minute. Après rinçage à l'eau de robinet, égouttage et séchage, l'observation au microscope optique au grossissement x 100 est réalisée après avoir ajouté une goutte d'huile d'émersion.

- **Sang**

Les flacons sont incubés directement soit dans Bact/Alert 3D ou dans BD BACTEC FX40 (Automates qui permettent la détection rapide et automatique des hémocultures afin de diagnostiquer les bactériémies). La durée d'incubation est de 1 à 7 jours à 37 °c. La communication avec le système se fait grâce à l'écran tactile à icônes. Les flacons sont identifiés avant le chargement par lecture du code-barres. L'appareil détecte les Flacons positif, négatif, faux positif ou faux négatif.

b- Mise en culture

- **Urines**

Les urines sont ensemencées par la technique de l'anse calibrée à 10µl stérile à usage unique par étalement en quatre stries sur la gélose ChromAgar. C'est un milieu d'orientation non sélectif servant à l'isolement, à l'identification directe, à la différenciation et à l'énumération des agents pathogènes des voies urinaires. Il permet de différencier et d'identifier *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *klebsiella pneumoniae*, sans avoir à effectuer de test de confirmation . Les cultures seront incubées à 35°C pendant 18-24 H en atmosphère normal.

- **Pus, Sang, LCR**

Les prélèvements sont ensemencés sur Gélose nutritive (GN) , sur Héктоen (HK) et sur la gélose au sang cuit (GSC) de façon systématique. Pour les flacons anaérobies d'hémoculture, le sang est ensemencé sur Gélose au sang frais, par la technique des quatre cadrans et incubé à 35°C pendant 18-24 H en atmosphère normale sur GN et HK ou sous CO₂ sur GSC. Pour la gélose au sang frais (GSF) la boîte est incubée en anaérobiose dans un sachets générateurs d'anaérobiose à 35°c pendant 5 jours.

A-2- deuxième jour

Lecture des boîtes

a- Urines

Tout d'abord une vérification de la pureté de la culture doit être effectuée (celles qui sont pluri microbiennes doivent faire évoquer une contamination probable sauf pour les urines récoltées sur sonde ou chez les patients stomisés). Un réisolement des différents types bactériens ainsi qu'à leur identification doit être réalisé pour chacun, suivie d'une numération des bactéries : 1 colonie correspondra à 10³ UFC/ml qui correspond à un seul strie (la boîte est positive si la numération $\geq 10^3$ UFC/ml). Toute culture pure mono microbienne devra faire procéder à une identification biochimique et à un antibiogramme systématique effectué selon les recommandations du CLSI.

- **Caractérisation macroscopique :**

- ✚ ***E.coli*** : Colonies légèrement crémeuses, bombées, de couleur violette avec un point plus foncé au milieu.
- ✚ ***Klebsiella pneumoniae* (KP)** : Colonies très muqueuses, larges et luisantes, légèrement bombées, de couleur bleu foncé.
- ✚ ***Pseudomonas aeruginosa***: Colonies légèrement plates de couleur verte, et une odeur caractéristique de fleur de siringa.
- ✚ ***Proteae*** : Colonies brillantes de couleur jaunâtre, avec une odeur piquante.
- ✚ ***Enterobacter cloacae*, *Citrobacter sp*, *Serratia sp* (parfois même KP)** : colonies légèrement fines de couleur bleue foncée, on utilise les galeries Api 20 E pour différencier entre eux.
- ✚ ***Staphylococcus aureus* (Staph doré)** : fines colonies bombées, de couleur doré.
- ✚ ***Acinetobacter baumannii*** : Colonies blanchâtre, crémeuses, bombées, légèrement fines.

Il faut noter que parfois les *Staphylococcus* et les *Acinetobacter baumannii* se ressemblent. Pour les différencier une coloration de Gram est réalisée. La pigmentation des colonies de *Staphylococcus aureus* n'est pas toujours dorée, ça peut être clair. Pour ne pas confondre entre les Staph doré et les Staph blanc un test d'agglutination au latex doit être réalisé.

- ✚ ***Enterococcus sp*, *streptococcus sp*** : fines colonies, de couleur bleue claire, leur différencier est faite d'après l'antibiogramme, les enterocoques sont résistants au céfotaxime, tandis que les streptocoques sont Céfotaxime S (l'antibiogramme des streptocoques est réalisé sur Müller-Hinton (MH) au sang.

b-Pus, Sang, LCR

Les cultures pluri microbiennes doivent faire évoquer une contamination probable (culture contaminée ou souillée). Si la culture est positive, on passe directement à l'identification et la préparation de l'antibiogramme. En revanche si la culture est négative soit

Matériel et méthodes

on ré-incube les boîtes (si la durée d'incubation est insuffisante), soit on répond directement : Résultat Négatif.

- **Caractérisation macroscopique**

GH : Bacilles gram négatif (BGN) Lac- ==> sont de grosses colonies, muqueuses, de couleurs verdâtre.

Bacilles gram négatif (BGN) Lac+ ==> sont de grosses colonies, muqueuses, de couleurs rose ou orange.

GSC : les colonies sont de couleur blanchâtre, de différents aspects : fines colonies pour les cocci gram positif (CGP) et de grosses colonies pour les bacilles Gram négatif (BGN)

- **Identification biochimique**

1- Coloration de Gram (Automatisée)

RAL STAINER un automate de coloration d'utilisation simple, compact et performant, muni d'un système RFID excluant toute erreur de protocole (<http://www.ral-diagnostics.fr>)

- ✓ **Principe**

Un bras qui suit une trajectoire circulaire et verticale successivement : accroche le porteur de lames déposé par l'utilisateur. Il apporte le porteur de lames dans chaque réservoir de coloration et ensuite dans le réservoir de rinçage en fonction de l'enregistrement du protocole. Par la suite, il fait retourner le porteur de lames à sa position initiale. Les lames sont ensuite séchées. La coloration est terminée.

- ✓ **Mode opératoire**

Tout d'abord un frottis doit être préparé (**même Protocole cité ci-dessus**) ensuite le support de lames va être tourné et libérer la mâchoire en plaçant le bouton sur le O (Open). Par la suite la mâchoire va être bloquée par le déplacement de la manette sur la position C "Closed". L'étape qui suit est l'installation des lames dans leur porteur. Dernièrement nous chargeons les lames dans l'automate et nous cliquons sur l'icône du commencement. La coloration dure 11 min, puis les lames vont être récupérer et sécher, destinées à l'observation microscopique au grossissement x 100 après avoir ajouté une goutte d'huile d'émulsion.

2- Galerie Api20E

Tout d'abord on commence par l'inoculation d'une colonie bactérienne jeune (18/24h) avec une anse stérile dans 5ml d'eau distillée stérile d'opacité 0,5 Mac Farland. Ensuite tous les puits sont remplis à l'aide de la même pipette. Pour les tests CIT, VP et GEL, on remplit le tube et la cupule. Pour les autres, on remplit juste les tubes. Pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE, on remplit la cupule avec de l'huile de paraffine pour créer une anaérobiose. A la fin on Referme la boîte et on l'incube à 37°C environ (±2°C) pendant 18 à 24h. La lecture de

Matériel et méthodes

certaines résultats passe par différents révélateurs à rajouter à certains puits est effectuée 24 h après incubation.

3- Test du catalase

Pour la catalase on dépose une goutte de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sur une lame propre et on délaye une colonie dans la goutte à l'aide d'une pipette Pasteur. La réponse est positive s'il y aura une présence de bulles donc, si absence de bulles donc catalase négative.

4- Test d'agglutination au latex

Le kit de test doit être en dehors du réfrigérateur 10 minutes avant l'emploi pour permettre aux réactifs Latex d'atteindre la température ambiante. 1 goutte de réactif est dispersée sur un cercle de la carte de Test et à l'aide d'une aiguille ou anse stérile. Deux colonies de l'isolat sont transférées sur le cercle et mélangées dans le réactif. Après étalement de manière à couvrir la totalité de la surface du cercle, la carte doit être secouée pour permettre au mélange de s'écouler lentement sur la totalité de la surface du cercle de test. L'agglutination est observée éventuelle pendant un maximum de 20 secondes. Un réactif Latex de Contrôle Négatif est inclus dans le kit afin d'être utilisé conformément aux exigences du client.

• Identification automatisée

L'identification est faite via **VITEK®²** en cas d'urgence seulement. Le manuel d'utilisation est cité en Annexe n°1.

a.Principe

VITEK®² c'est un système entièrement automatisé. Il permet de réaliser des identifications des bactéries et levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes pour les bactéries significatives au plan clinique rapides et précis. Il permet également une standardisation, une optimisation du flux de travail et une réduction du temps de manipulation. Il utilise la croissance basée sur des profils biochimiques pour déterminer l'identification. Les cartes jetables et unitaires permettent d'identifier rapidement et précisément plus de 350 espèces de bactéries et de levures cliniquement pertinentes. Il détermine un résultat de concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la plupart des combinaisons germe/antibiotique ainsi qu'une catégorie clinique (S, I ou R) en accord avec les critères d'acceptation. Chaque antibiotique est validé par l'autorité réglementaire appropriée pour être testé sur un panel de germes. (<http://www.biomerieux.fr>).

b- Mode opératoire

Les cartes d'identification (Gram positif (GP), Gram négatif (GN)) sont constituées de cupules étanches contenant différents réactifs nécessaires pour les tests biochimiques. Une suspension bactérienne de Mac Farland 0.55-0.65 est effectuée dans un tube en plastique qui est placé sur un portoir spécial. Une paille accolée à la carte est introduite dans le tube. L'appareil prend ensuite en charge toutes les dilutions nécessaires, l'aspiration de la

Matériel et méthodes

suspension dans chaque cupule et l'incubation de la carte. Le module analytique procède à des lectures toutes les 15 minutes en mesurant le trouble ou le changement de couleur présent dans chaque cupule. Il donne ensuite une identification du germe en fonction des profils biochimiques trouvés. Les résultats sont récupérés le lendemain.

❖ **Technique d'antibiogramme**

L'antibiogramme est effectué soit manuellement, soit par VITEK®2

1-Antibiogramme par diffusion des disques (selon les recommandations du CLSI)

a- Milieu pour antibiogramme

Le milieu utilisé est MH, et MH au sang pour *Streptococcus* spp. Il doit être coulé en boîtes de Petri sur une épaisseur de 4 mm. Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

b- Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, à l'aide d'un écouvillon quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées. L'écouvillon est ensuite déchargé dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile. Après homogénéisation, la suspension bactérienne, doit avoir une opacité équivalente à 0,5 MF. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

c- Ensemencement

Après trempage de l'écouvillon dans l'inoculum et essorage (en le pressant fermement contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum), il est étalé sur la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. L'opération est réalisée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est terminé en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

d- Application des disques d'antibiotiques

La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée, figure **dans les tableaux n°1, n°2, n°3, n°4, n°5 en Annexe n°3.**

e- Conditions d'incubation :

La température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie doivent être respectés (**Tableau n°6, Annexe n°3**).

f- Lecture

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse. Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple. Les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Petri fermée. Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront

Matériel et méthodes

prises de boîte de Petri ouverte et bien éclairée. Les résultats obtenus seront comparés aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes. La bactérie sera classée dans l'une des catégories S, R ou I.

2- VITEK®²

✓ Mode opératoire

Le tube contenant la suspension bactérienne est posée en première position et suivie celui prévu pour l'antibiogramme. Pour la préparation de la solution pour antibiogramme, si la bactérie à identifier est à Gram positif, une micropipette calibrée à 280µl (bleue) est utilisée, et si elle est Gram négatif, une micropipette calibrée à 145µl (rouge) est dans ce cas utilisée ; par laquelle la suspension bactérienne est pipetée et diluée dans 3ml d'eau saline contenu dans le tube voisin. La carte doit être placée pour l'antibiogramme (soit AST- N, soit SST- P) en fonction de la nature du germe sur la cassette (La cassette ou le portoir est le composant principal du système de transport de la carte. Elle peut contenir jusqu'à 10 cartes accompagnées de leurs tubes d'inoculum). Les résultats seront imprimés un jour après la réalisation du test .

A-3- Troisième jour

a- Urines

L'identification des bactéries est effectuée ainsi que la lecture des antibiogrammes.

b- Pus, Sang, LCR

La lecture des boîtes ré-incubées est faite pour la recherche des mêmes germes. Si la culture est positive le même procédé que le deuxième jour est réalisé, si elle est négative donc absence de bactéries. Pour les boîtes anaérobies, la lecture est faite au 3ème jour et au 5ème jour. Si la culture est négative donc absence de bactéries anaérobies, si elle est positive l'identification et l'antibiogramme seront réalisés

🚦 LA validation analytique :

La validation analytique est faite par le maître-assistant responsable en poste.

II-Pouvoir bactéricide des antibiotiques et de leurs associations:

A-Principe

Une même quantité de bouillon ensemencé avec la bactérie à étudier à une concentration de l'ordre de 10^6 germes / ml est répartie dans une série de tubes disposés selon un "schéma triangulaire". Dans chaque tube, l'adjonction de disques imprégnés d'antibiotique (disque pour antibiogramme), en quantité convenable, permet de réaliser les concentrations désirées des antibiotiques étudiés, isolément et en association. Ces concentrations sont comprises dans les limites des concentrations humorales efficaces établies pour chacun des antibiotiques. Après 24 heures d'incubation à 37°C, la numération des germes survivants, dans

Matériel et méthodes

chaque tube ne présentant pas de culture visible, permet de déterminer l'effet bactériostatique et une action bactéricide des antibiotiques isolés et de leur association. Le pourcentage de germes survivants est déterminé par simple comparaison de la densité des colonies de germes survivants aux antibiotiques à la densité des colonies obtenues avec l'inoculum initial (témoin inoculum). (Courvalin et Leclercq, 2012).

B-Mode opératoire

- **Premier jour**

A partir d'une culture bactérienne pure, 2 à 3 colonies sont prélevées à l'aide d'une pipette pasteur stérile et sont inoculées dans 10 ml d'un bouillon nutritif correspondant à $\sim 10^6$ germes / ml. L'incubation est de 18 à 24h à 35°C. C'est le bouillon incubé (BI).

- **Deuxième jour**

- ❖ **Préparation de la boîte témoin**

25 ml de Muller-Hinton liquide est ensemencé avec 0.1 ml du bouillon de la culture bactérienne (BI), c'est le bouillon ensemencé (BE), ensuite 1 ml de BE est pris et introduit dans 9 ml d'eau physiologique, pour réaliser par la suite des dilutions décimale jusqu'à 10^{-4} . 5 stries parallèles de 5 cm de long au verso d'une boîte de GN sont tracées, correspondent à chaque dilution, y compris le BE qui représente 100%. A l'aide d'une anse (jetable stérile) calibrée 0.01 ml, chaque volume prélevé (BE ainsi que les dilutions) est ensemencé sur la boîte de GN tracée, c'est la boîte témoin. Incuber 18 à 24h à 35°C.

- ❖ **Préparation des solutions d'antibiotiques**

- Les disques d'ATB sont préalablement préparés aux concentrations désirées on va les découper si nécessaire à l'aide d'un bistouri stérile. On réalise la répartition à l'aide d'une pince stérile dans chaque tube.
- Ces différents disques d'ATB, ainsi que leur charge et la concentration finale sont illustrés dans le tableau n°7 (Annexe n°3)

2ml du BE sont distribuées dans chaque tube contenant les ATB seuls ou associés. Après agitation, les tubes sont incubés à 18 à 24 h à 35°C.

- ❖ Le tableau suivant nous montre les différentes associations d'ATB réalisés pour chaque espèce :

Matériel et méthodes

Tableau n°8 : Répartition des associations en fonction de type de germe testé

Type de germe	Associations
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CS+RA
<i>Escherichia coli</i>	CTX+AK, ETP+AK, IMP+AK
<i>Klebsiella sp</i>	CTX+AK, ETP+AK, IMP+AK, IMP+Gn
<i>P.aeruginosa</i>	CAZ+AK, CAZ+Gn, IMP+AK
<i>E.cloacae</i>	CTX+AK, IMP+AK, IMP+CIP, CTX+Gn
<i>Proteae</i>	CTX+AK, ETP+AK
<i>S.marcescens</i>	IMP+AK, ETP+AK, VA+Gn
<i>S.aureus</i>	VA+AK, VA+Gn
<i>Enterococcus sp</i>	AK+VA, AK+AMX, ETP+AK, Gn+VA, Gn+FOS, CIP+VA
<i>C.freundii</i>	CTX+AK, CTX+Gn, ETP+AK

Troisième jour

Sur une boîte de MH, 3 ou 5 stries parallèles de 5 cm de long sont tracés au verso. à l'aide d'une anse calibrée 0.01 ml à partir des bouillons contenant les disques d'antibiotique (seuls ou associés) sont prélevés et ensemencés au niveau de stries tracées. L'incubation a été réalisée à 35°C pendant 18 à 24h.

❖ Lecture de la boîte témoin

Le nombre de colonies correspondant à chaque dilution doit être compté, le nombre de colonies doit diminuer du BE jusqu'à la dilution $[10]^{(-4)}$:

- Le bouillon ensemencé pur, la culture est en nappe, il y a 100% de survivants.
- Le bouillon dilué à $[10]^{(-1)}$, le nombre de colonies diminue, il y a 10% de survivants.
- Le bouillon dilué à $[10]^{(-2)}$, le nombre de colonies diminue, il y a 1% de survivants
- Le bouillon dilué à $[10]^{(-3)}$, le nombre de colonies diminue, il y a 0.1% de survivants.
- Le bouillon dilué à $[10]^{(-4)}$, le correspond à 0 colonies ou au maximum 3 ou 4 colonies, il y a 0.01% de survivants.

Garder cette boîte témoin à +4°C.

Matériel et méthodes

Quatrième jour

Lecture de la boîte ensemencée avec les bouillons contenant les antibiotiques. La lecture se fait par dénombrement des colonies au niveau de chaque strie et comparée avec ceux de la boîte témoin. Rechercher et noter les effets suivants :

- **Synergie:** le nombre de colonies est moins de 3 (0-3 colonies) correspondant à 0, 1 à 0, 01% de survivants.
- **Addition:** le nombre de colonies obtenus avec l'association est inférieur à celui des deux ATB isolés.
- **Indifférence:** le nombre de survivants est égal à celui obtenu avec l'antibiotique le plus actif lorsqu'il est testé seul.
- **Antagonisme:** le nombre de survivants obtenus avec une association est supérieur à celui obtenu avec l'antibiotique le plus actif lorsqu'il est testé seul.

Résultats et interprétation

III-1-Répartition des prélèvements selon la provenance

758 prélèvements ont été inclus dans notre d'étude. Parmi tous les échantillons collectés, 307 échantillons proviennent d'urines (41%), 95 échantillons de pus (13%), d'origine diverses provenant de collections fermées profondes ou de suppuration superficielle, 300 échantillons de sang (39%) et 56 pour les LCR (7%) (Figure1).

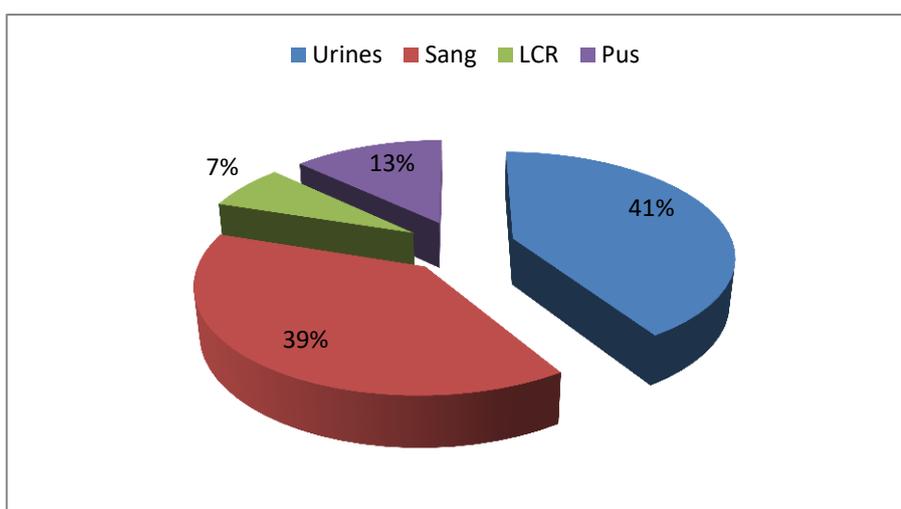


Figure1 : Répartition globale des prélèvements

III-2-Distribution des cas positifs et négatifs

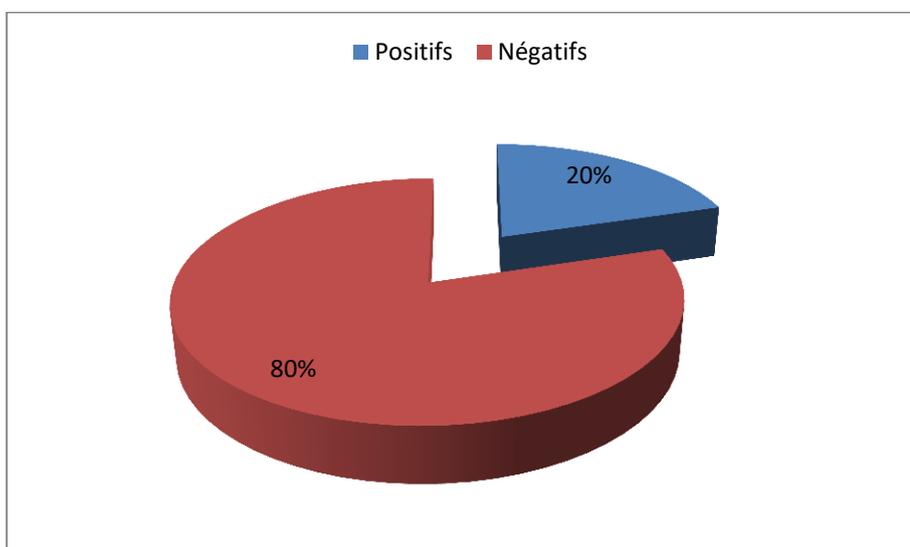


Figure2 : Distribution globale des cas positifs et négatifs

Parmi les 758 prélèvements, 152 soit 20% sont révélés positifs et 606 sont négatifs (80%)(Figure2).

Résultats et interprétation

III-3-Répartition des cas positifs selon la nature des prélèvements

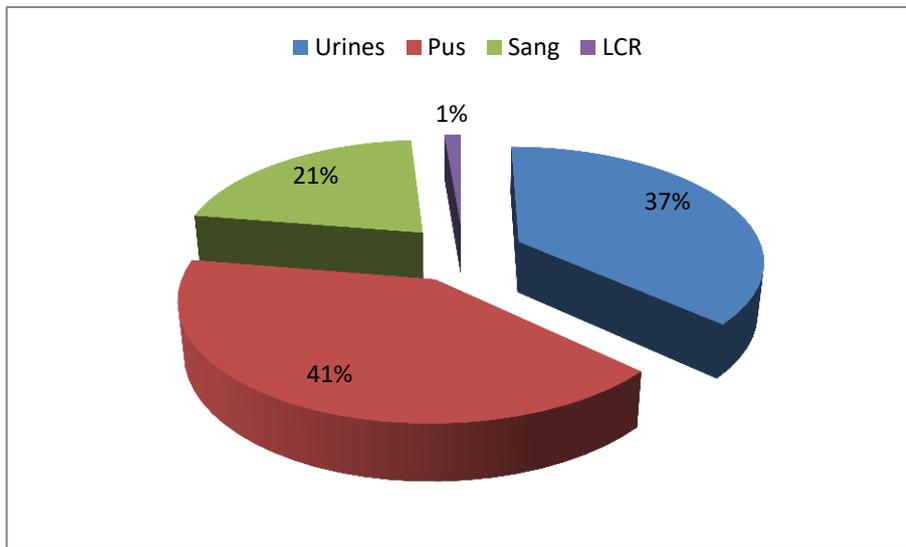


Figure3: Répartition des cas positifs selon chaque type de prélèvement

Parmi les 152 prélèvements positifs, 62 soit (41%) proviennent de Pus, 56 soit (37%) d'Urines, 32 soit (21%) de Sang et enfin 2 soit (1%) pour LCR (Figure3).

Résultats et interprétation

III-4-Résultats microbiologiques

III-4-1-Aspect macroscopique

A- Aspect macroscopique des colonies bactérienne sur le milieu ChromAgr

Le tableau suivant résume l'aspect spécifique des colonies bactériennes isolées sur le milieu ChromAgar (Tableau n°9).

Tableau n°9 : Aspect macroscopique des colonies bactériennes sur ChromAgr

Aspect des colonies	Espèces bactériennes
Colonies légèrement crémeuses, bombées, de couleur violette avec un point plus foncé au milieu.	 <i>E.coli</i>
Colonies très muqueuses, larges et luisantes, légèrement bombées, de couleur bleu foncé.	 <i>Klebsiella pneumoniae (KP)</i>
Colonies légèrement fines de couleur bleue foncée.	 <i>Serratia sp, Enterobacter sp, KP, Enterococcus sp</i>

Résultats et interprétation

Colonies blanchâtre, crémeuses, bombées, légèrement fines.



Acinetobacter baumannii

Fines colonies bombées, de couleur doré.



Staphylococcus aureus

Colonies légèrement plates de couleur verte, et une odeur spécifique.



Pseudomonas aeruginosa

Colonies brillantes de couleur jaunâtre, avec une odeur piquante.



Providencia stuartii

Résultats et interprétation

B-Aspect macroscopique des colonies bactérienne sur la gélose Héктоen (GH) et la gélose au sang cuit (GSC)

Les colonies des bacilles Gram négatif lactose négatif apparaissent grosses, muqueuses et de couleurs verdâtre (figure 4).

a- Aspect macroscopique des bacilles Gram négatif lactose négatif (BGN Lac-) sur GH



Figure 4 : Aspect des colonies des BGN LAC- sur GH

b- Aspect macroscopique des bacilles Gram négatif lactose positif (BGN Lac+) sur GH

Sur milieux GH, les bacilles Gram négatif lactose positif apparaissent grosses colonies, muqueuses et de couleurs rose ou orange (Figure 5).



Figure 5 : Aspect des colonies des BGN LAC+ sur GH

Résultats et interprétation

c- Aspect macroscopique des bacilles Gram négatif (BGN) sur GSC

Sur milieux GSC, les bacilles Gram négatif apparaissent grosses, crémeuses et de couleur blanchâtre (Figure 6).



Figure 6 : Aspect des colonies des BGN sur GSC

d- Aspect macroscopique des cocci Gram positif sur (CGP) sur GSC

Fines colonies de couleur blanchâtre (Figure 7).



Figure 7 : Aspect des colonies des CGP sur GSC

Résultats et interprétation

III-4-2-Répartition des cas positifs selon le Gram

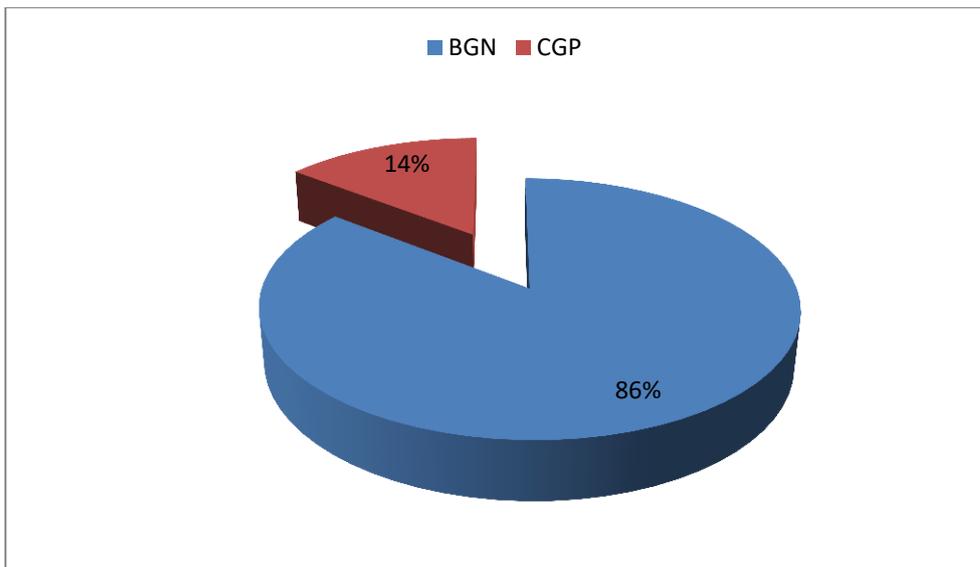


Figure8 : Répartition des Gram positifs et négatifs

A partir des bactéries isolées, nous signalons une prédominance des BGN avec un pourcentage de 86%. Les CGP représente que 14% du total des prélèvements positifs (Figure8).

III-4-3- Résultats de l'identification biochimique

Les présents résultats démontrent les différents caractères biochimiques des bactéries isolées, suite à l'utilisation des galeries Api20E. Il y a des caractères clés qui aident à l'identification des différents germes, tel que l'ONPG, le VP, la Gélatinase, l'Urée, l'indol ainsi que la fermentation des sucres (Tableau n°10).

Résultats et interprétation

Tableau n°10 : Caractères biochimiques des souches isolées

Bactéries	Lac	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	Fermentation des sucres
<i>E.coli</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	tous les sucres saufs : INO, Amy
<i>klebsiella pneumoniae(KP)</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+/-	-	fermente tous les sucres
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+/-	-	fermente tous les sucres
<i>Citrobacter</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	tous les sucres sauf INO, SAC, MEL
<i>Enterobacter</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	tous les sucres saufs : MAN, INO
<i>Providencia</i>	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	tous les sucres saufs : MEL, SOR, RHA, ARA
<i>S.marcescens</i>	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	tous les sucres saufs : RHA, MEL, ARA
<i>Morganella morganii</i>	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	tous les sucres saufs : RHA, MEL, ARA, SAC

Caractère positif(+), Caractère négatif(-), Caractère variable (+/-).

Les *staphylococcus aureus* sont catalase positif et Latex positif. *Pseudomonas aeruginosa* sont caractérisées par une odeur caractéristique de fleur de seringa, sont catalase + et sont Gram négatif. *Acinetobacter baumannii* sont caractérisées par une galerie inerte. La différenciation entre les enterocoques et les streptocoques est faite d'après l'antibiogramme, idem pour *E.faecalis* et *E.faecium*.

Résultats et interprétation

III-5-Répartition globale des souches identifiées

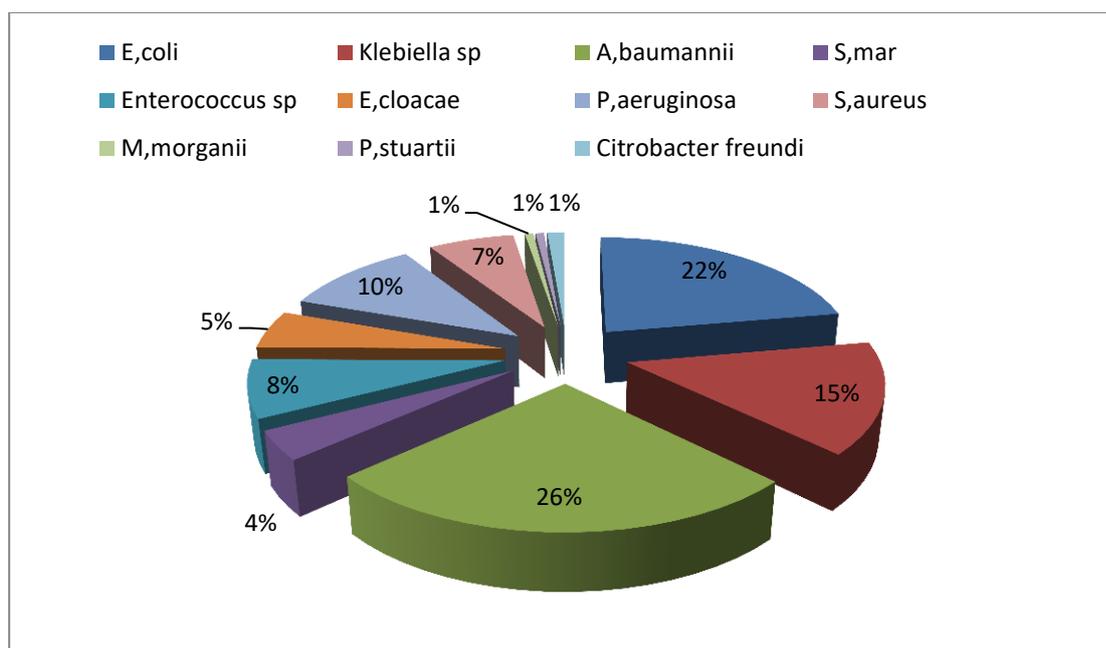


Figure 9 : Répartition globale des souches isolées

Les bactéries étudiées sont celles incriminées dans les infections sévères avec prédominance de l'*Acinetobacter baumannii* (26.14%) suivi par *Escherichia coli* (22.22%), *Klebsiella sp* (15.03%) (avec 22 *Klebsiella pneumoniae* soit 95.65% et 1 *K.oxytoca* soit 4.34%), *Pseudomonas aeruginosa* (10.45%), *Enterococcus sp* (7.84%) (avec 10 souches d'*E.faecalis* et 1 souches d'*E.faecium*), *Staphylococcus aureus* (6.53%), *Enterobacter cloacae* (5.22%), *Serratia marcescens* (3.92%), *Citrobacter freundii* (1.30%), *Morganella morganii* et *Providencia stuartii* avec 0.65% (Figure 9).

Résultats et interprétation

III-6-Répartition des souches isolées par prélèvement

III-6-1-Répartition des souches isolées à partir des prélèvements d'urines

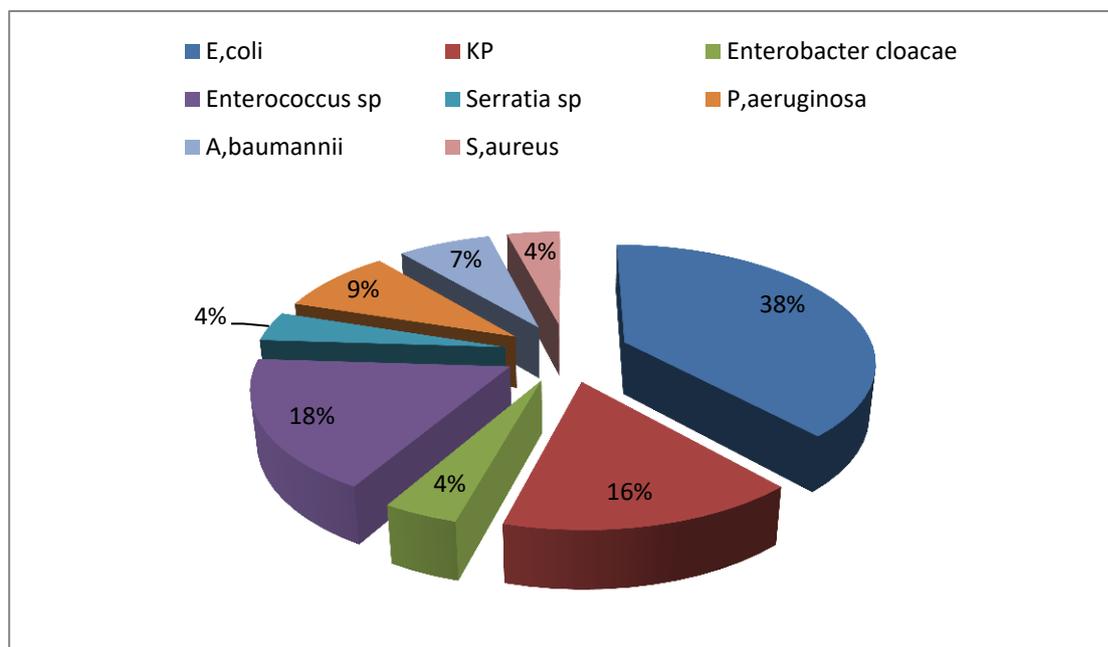


Figure 10 : Répartition des souches isolées à partir des urines

D'après les souches isolées à partir des urines, 22 soit 38% appartiennent à *E.coli*, 9 souches de *klebsiella pneumoniae* (KP) soit 16%, 10 souches d'*Enterococcus sp* soit 18% (8 pour *E.faecalis*, 1 pour *E.faecium* et 1 *Enterococcus sp*), 5 souches de *Pseudomonas aeruginosa* soit 9%, 4 souches d'*Acinetobacter baumannii* soit 7%, et enfin 2 souches soit 4% de *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae* et *Staphylococcus aureus* (Figure 10).

Résultats et interprétation

III-6-2- Répartition des souches isolées à partir des prélèvements de pus

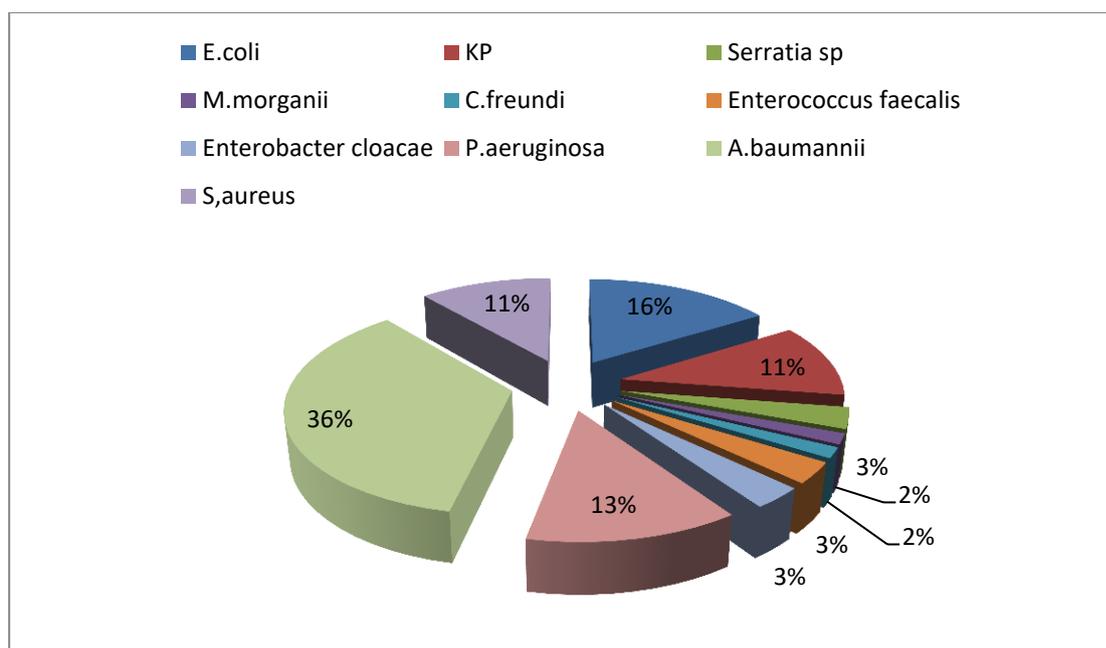


Figure 11 : Répartition des souches isolées à partir des pus

L'analyse des prélèvements de Pus a permis d'isoler 22 souches d'*A.baumannii* soit 36%, 10 souches d'*E.coli* soit 16%, 8 souches de *P.aeruginosa* soit 13%, 7 souches de *K.pneumoniae* et de *S.aureus* soit 11%, 2 souches de *S.marcescens*, *E.cloacae* et *E.faecalis* soit 3%, 1 seule souche de *Morganella morganii* et *Citrobacter freundii* soit 2% (Figure 11).

Résultats et interprétation

III-6-3- Répartition des souches isolées à partir des prélèvements sanguins

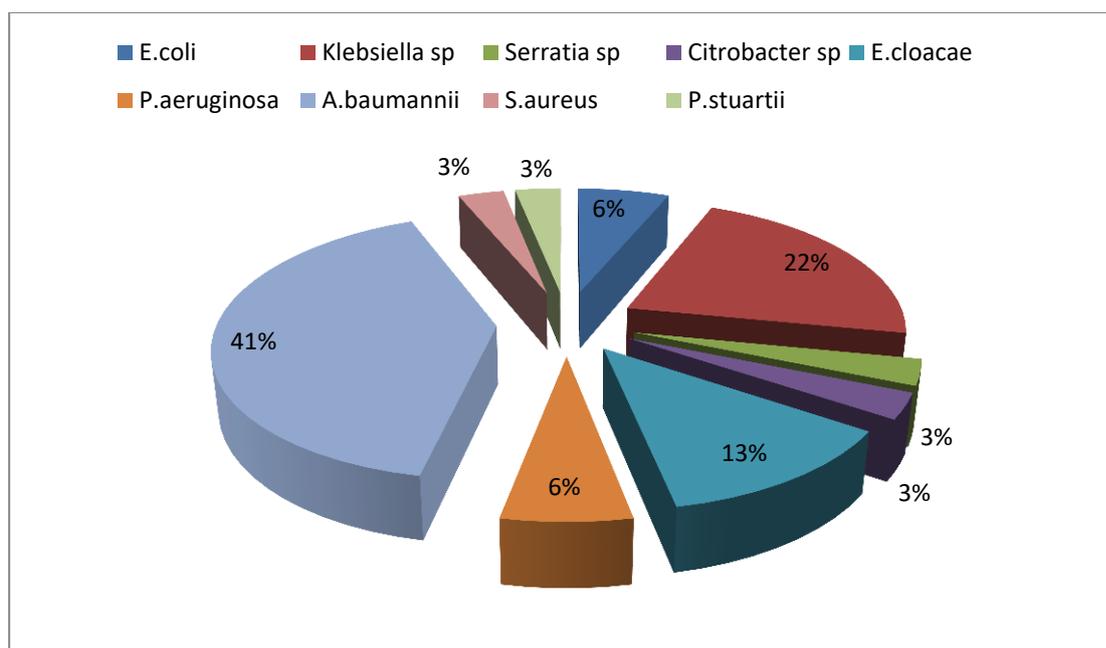


Figure 12 : Répartition des souches isolées à partir du sang

Pour les prélèvements sanguin *A.baumannii* se situe en première position avec un taux de 41% (13 souches), suivi de *Klebsiella sp* avec 22% (7 souches, 6 pour KP et 1 seule souche de *K.oxytoca*), de *Enterobacter cloacae* avec 13% (4 souches), de *E.coli* et *P.aeruginosa* avec 6% (2 souches), de *Serratia marcescens* et de *C.freundii*, *S.aureus* et de *P.stuartii* avec 3% (1 seule souche) (Figure 12).

III-6-4- Répartition des souches isolées à partir des prélèvements des LCR

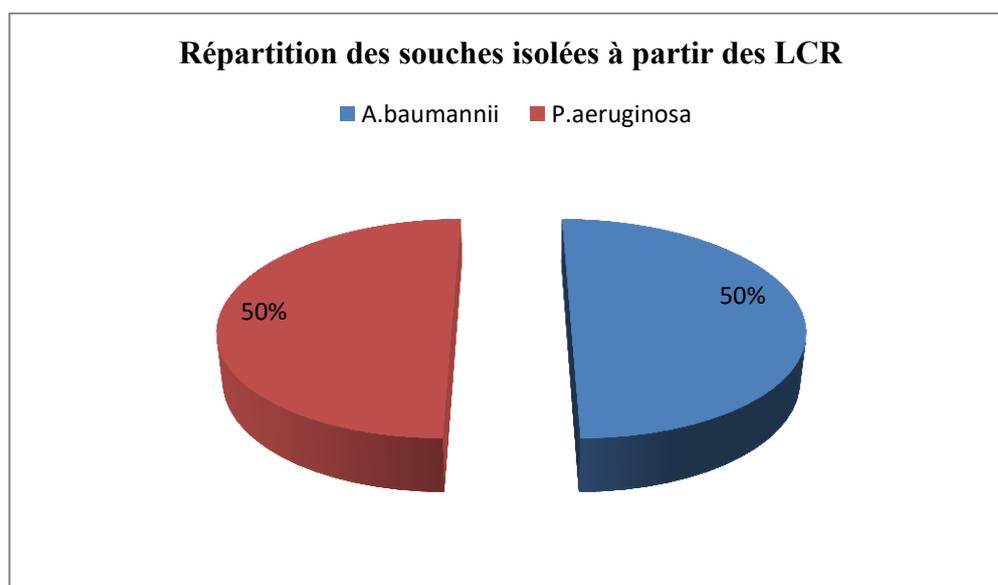


Figure 13 : Répartition des souches isolées à partir des LCR

Résultats et interprétation

Nous avons noté que parmi les 2 souches isolées à partir des LCR, *A.baumannii* représente 50% et *P.aeruginosa* (50%) (Figure13).

III-7-Profil d'antibiorésistance des différentes bactéries isolées

III-7-1- Profil d'antibiorésistance d'*E.coli*

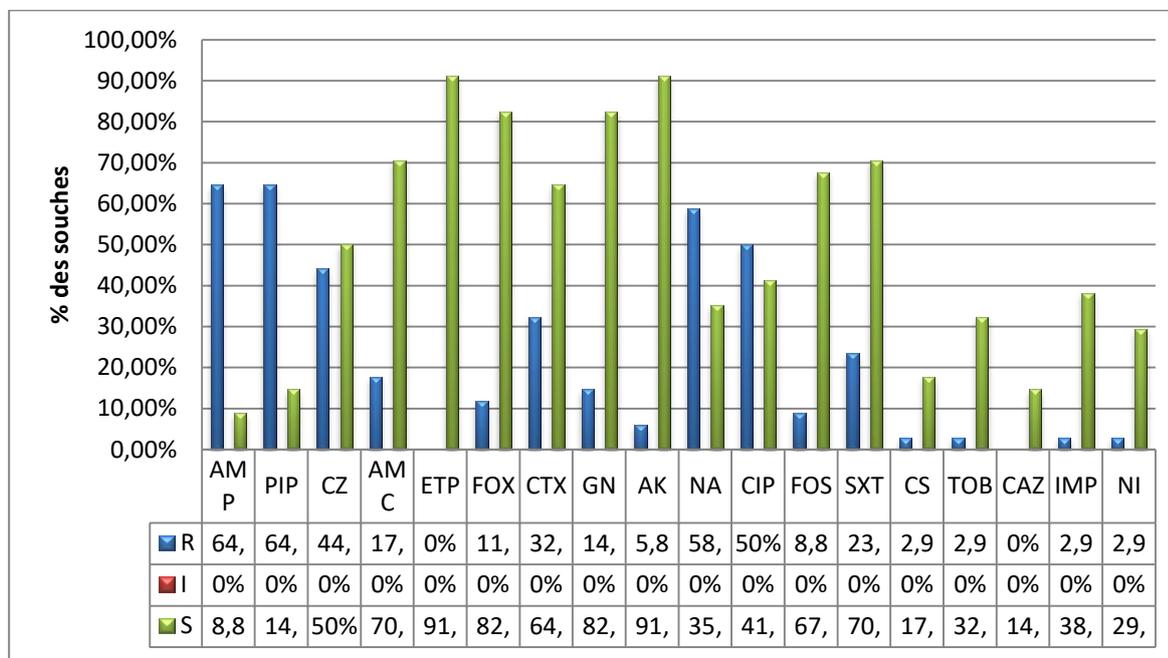


Figure 14 : Profil de sensibilité et de résistance d'*E.coli*

Parmi 34 souches d'*E.coli* isolées 90% sont sensibles à l'Amikacine (Ak) et à l'Ertapénème (ETP). 80% sont sensible à la Gentamicine (GN) et à la Céfoxitine (FOX). 70% sont sensible au AMC (Acide clavulanique + Amoxicilline) et au SXT (Ticarcilline + Acide clavulanique). 67% sont sensible à la fosfomycine (FOS) suivie par la céfotaxime (CTX) (64%). 50% sont sensible à la céfazoline (CZ) et 40% pour la ciprofloxacine (CIP) suivie de l'Imipénème (IMP) (38%), 35% pour l'Acide nalidixique (NA) et 32% pour la Tobramicine (TOB), 29% sont sensible à la nitrofurane (NI), 17% à la colistine (CS) et 14% à la Céfazidime (CAZ) et à la pipéracilline (PIP), tandis que 8% sont sensible à l'Ampicilline (AMP) (Figure 14).

Résultats et interprétation

III-7-2- Profil d'antibiorésistance d'*A.baumannii*

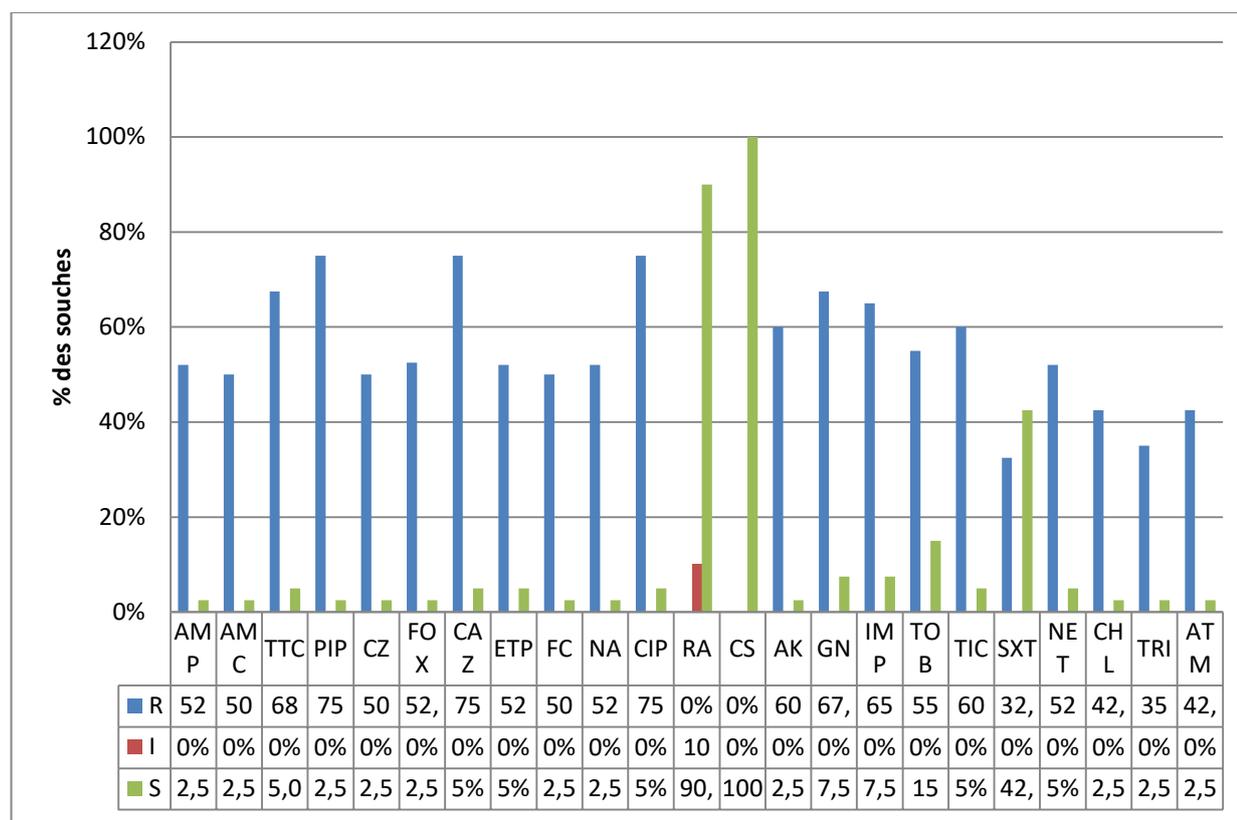


Figure 15 : Profil de sensibilité et de résistance d'*A.baumannii*

100% des souches isolées d'*A.baumannii* soit (40 Souches) sont sensible à la colistine (CS), 10% sont intermédiaires et 90% sont sensibles à la Rifampicine (RA). Tandis que 40% sont sensible au SXT, 75% sont résistants à la PIP, la CAZ et la CIP. 68% sont résistant à la Tétracycline (TTC) suivie par la Gentamicine (Gn) (67%), 65% sont résistants à l'Imipénème (IMP), 60% sont résistants à l'Amikacine (AK) et à la Ticarcilline (TIC), 55% sont résistants à la Tobramicine (TOB), 52% des souches sont résistantes à la Netromicine (NET), l'Ampicilline (AMP), l'Ertapénème et l'Acide nalidixique (NA), 50% sont résistants à la Céfazoline (CZ) et l'Acide fusidique (FC), 42% à l'Aztréonam (ATM), ensuite 35% sont résistants au triméthoprime (TRI) (Figure 15).

Résultats et interprétation

III-7-3- Profil d'antibiorésistance de *K.pneumoniae*

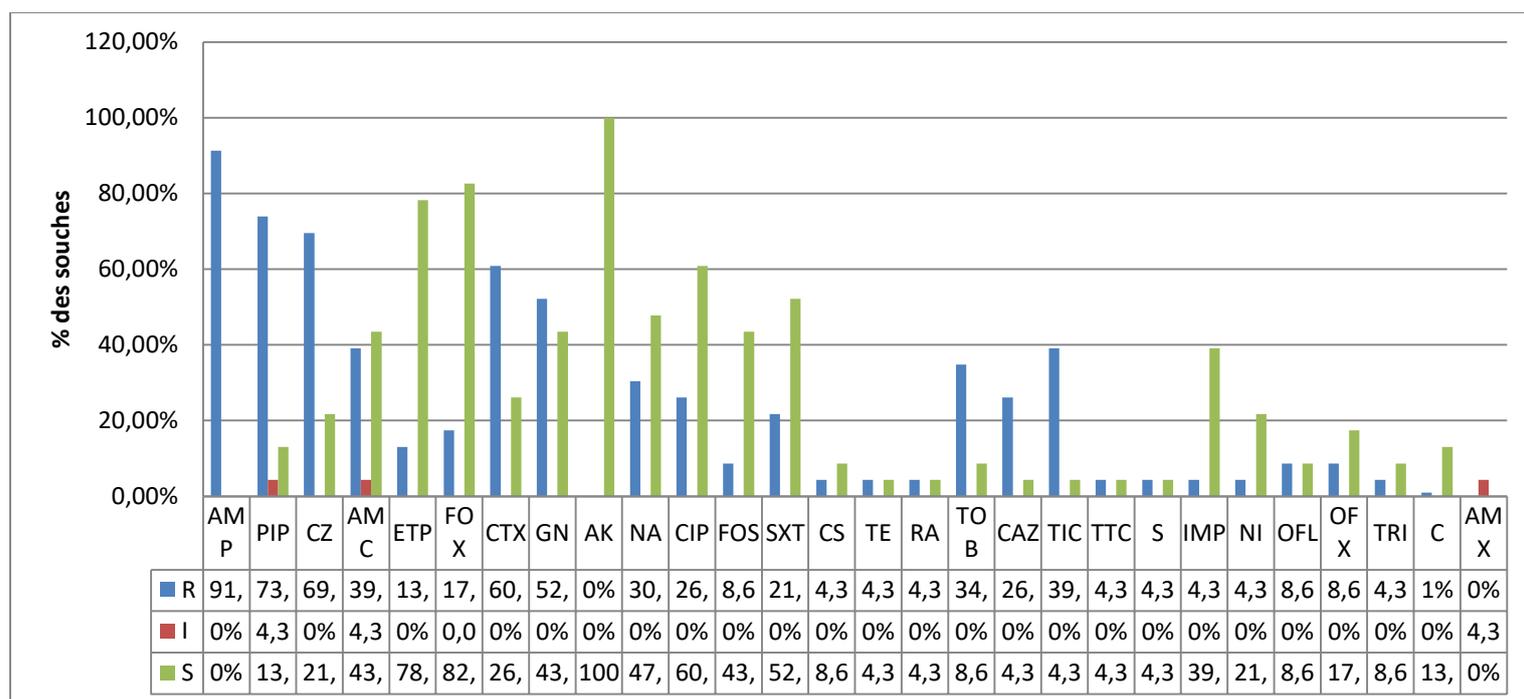


Figure 16 : Profil de sensibilité et de résistance de *K.pneumoniae*

Pour les 22 souches isolées de *K.pneumoniae* (KP), les pourcentages de résistance aux antibiotiques sont les suivants : 91% vis-à-vis l'Ampicilline (AMP), 73% vis-à-vis la Pipéracilline (PIP), 69% vis-à-vis la Céfazoline (CZ), 60% vis-à-vis la Céfotaxime (CTX), 52% vis-à-vis la Gentamicine (Gn), 39% vis-à-vis l'AMC (acide clavulanique+Amoxicilline) et la Ticarcilline (TIC). 34% vis-à-vis la Tobramycine (TOB), 30% vis-à-vis l'Acide nalidixique (NA), 26% vis-à-vis la Céfotazidime (CAZ) et la Ciprofloxacine (CIP), 21% vis-à-vis la Ticarcilline +l'Acide clavulanique (SXT), 17% vis-à-vis la Céfoxitine (FOX), 8% vis-à-vis la Fosfomycine, l' Ofloxacine (OFL), 4% vis-à-vis la Colestine (CS), la Rifampicine (RA), la Teicoplanine (TE), la tétracycline (TTC), Streptomycine (S), l'Imipénème, la Nitrofurane, et le triméthoprim (TRI). 4% des souches isolées sont intermédiaires à l'Amoxicilline (AMX), tandis que 100% sont sensibles à l'Amikacine (AK) et 78% pour l'Ertapénème (ETP) (Figure 16).

Résultats et interprétation

III-7-5- Profil d'antibiorésistance de *K.oxytoca*

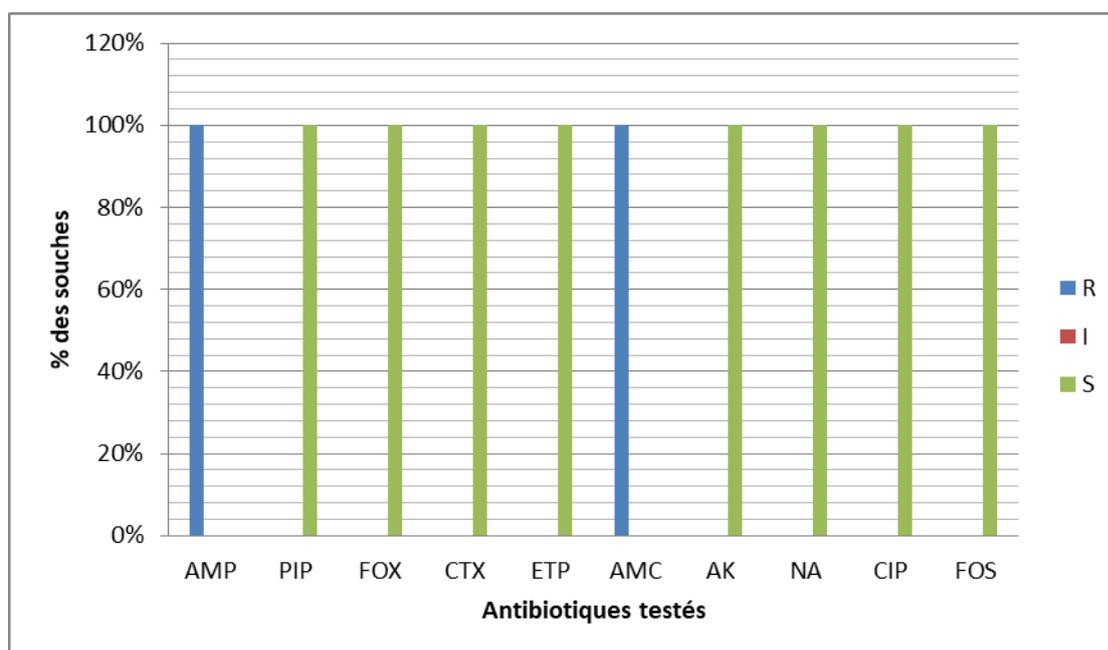


Figure 17 : Profil de sensibilité et de résistance de *K.oxytoca*

Klebsiella oxytoca est sensible à la PIP, la FOX, le CTX, l'ETP, l'AK, la CIP, la FOS et l'Acide nalidixique, et elle est résistante à l'AMP et l'AMC (Figure 17).

III-7-6- Profil d'antibiorésistance de *P.aeruginosa*

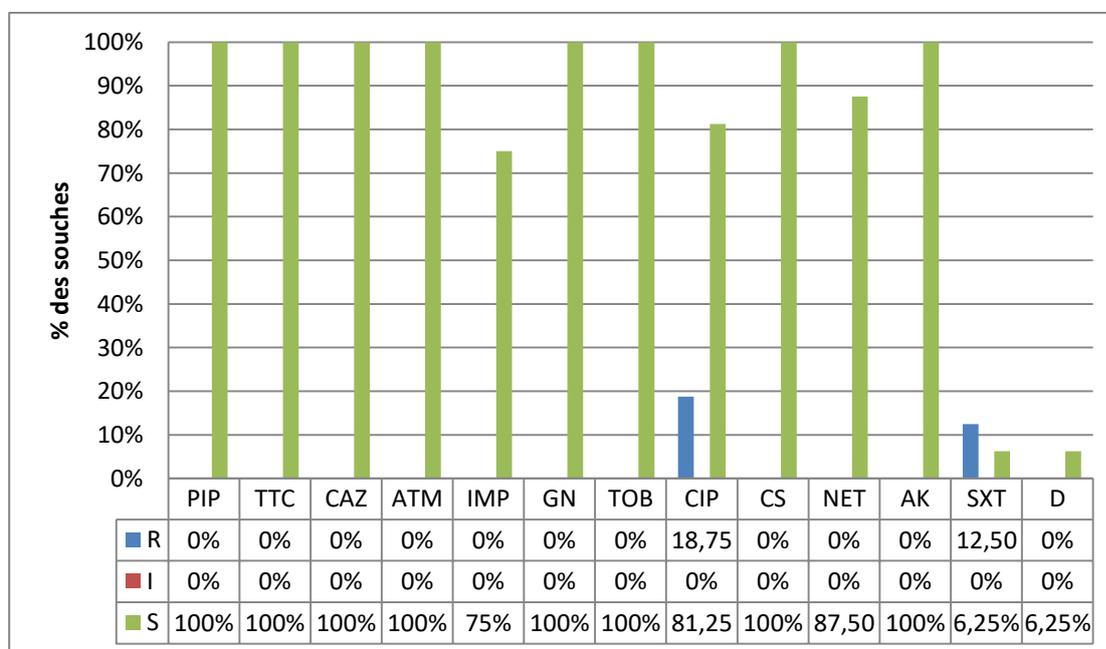


Figure 18 : Profil de sensibilité et de résistance de *P.aeruginosa*

100% des souches de *P.aeruginosa* isolées soit 16, sont sensibles aux antibiotiques suivant : à la PIP, la TTC, la CAZ, l'ATM, la GN, la TOB, la (CS), et l'AK. 87% sont sensible

Résultats et interprétation

vis-à-vis la NET, 81.25% vis-à-vis la CIP, et 75% vis-à-vis l'IMP, tandis que 6.25% sont sensible vis-à-vis (SXT) et la doxycycline (D) (Figure 18).

III-7-7- Profil d'antibiorésistance de *S.aureus*

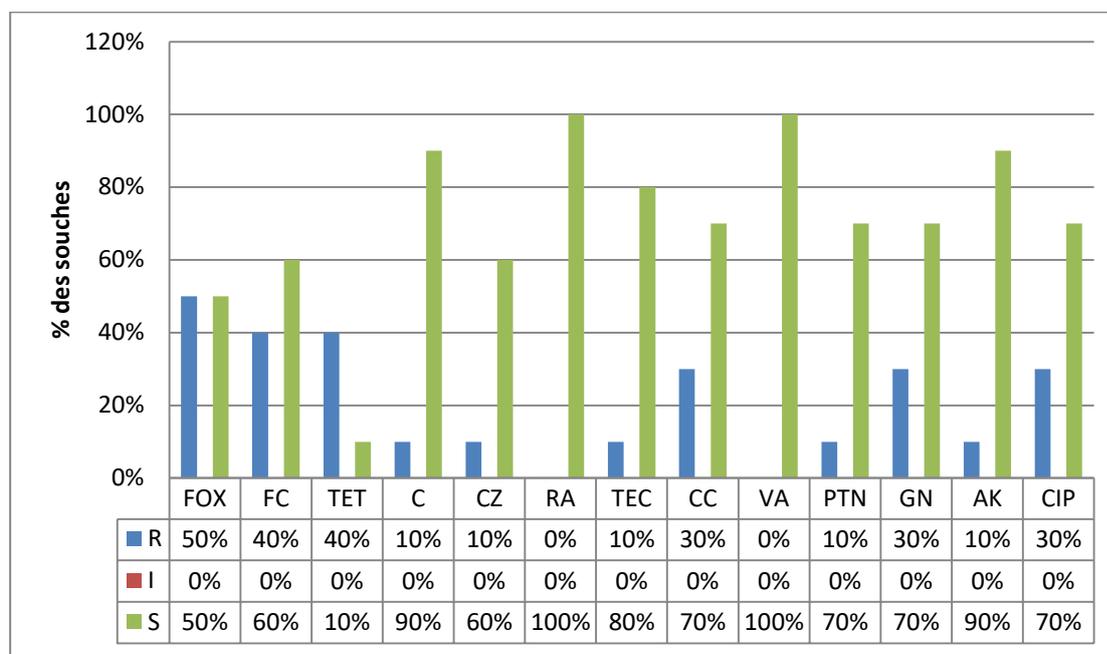


Figure 19 : Profil de sensibilité et de résistance de *S.aureus*

Les 10 souches isolées de *S.aureus* sont 100% sensibles à la Rifampicine(RA) et la Vancomicine (VA). 90% vis-à-vis le Chloramphénicol (C), 80% vis-à-vis la TEC, 70% vis-à-vis la CIP, la clindamycine (Cc) la Gn et la Pristinamycine (PTN), 60% vis-à-vis la CZ et l'acide fusidique (FC), 50% vis-à-vis la Céfoxitine (FOX) et 10% vis-à-vis la Tétracycline (TET) (Figure 19).

Résultats et interprétation

III-7-8- Profil d'antibiorésistance d'*Enterococcus sp*

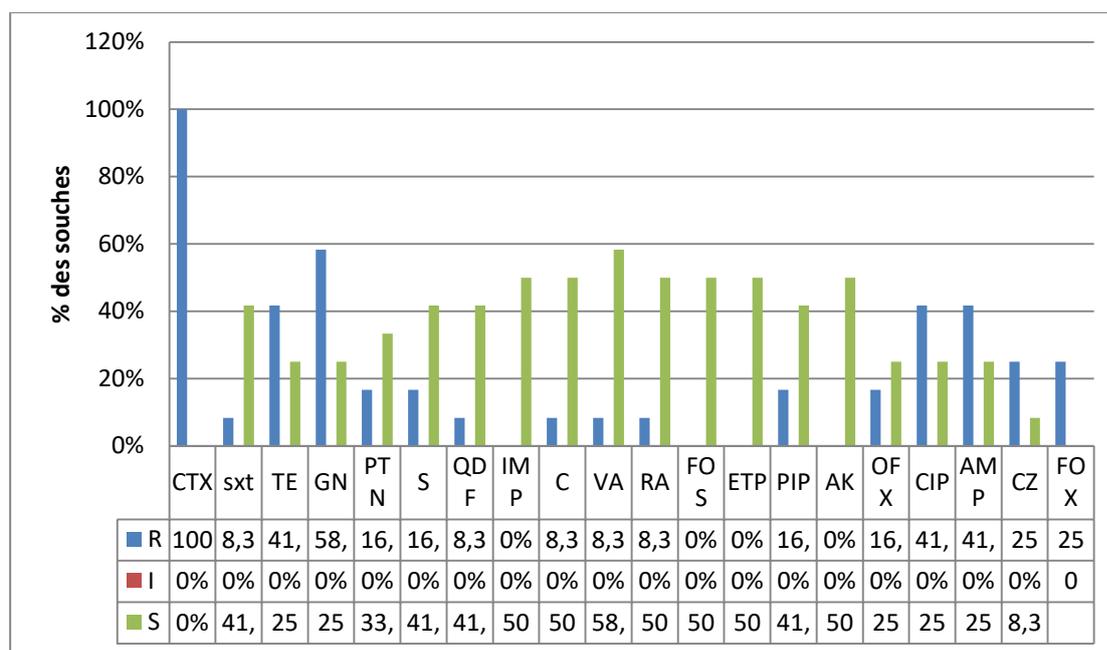


Figure 20 : Profil d'antibiorésistance d'*Enterococcus sp*

100% des souches isolées d'*Enterococcus sp* soit 12, sont résistantes au Céfotaxime(CTX), 58% vis-à-vis de la GN, 41% vis-à-vis la CIP et l'AMP, 25% vis-à-vis la FOX et la CZ. Tandis que 58% sont sensible vis-à-vis de la VA, 50% vis-à-vis l'AK, l'ETP, la FOS, la RA, le Chloramphénicol (C) et l'IMP, 41% sont sensible vis-à-vis la Streptomycine(S), la Pipéracilline (PIP), la quinupristine-dalfopristine (QDF) et le SXT, 25% vis-à-vis la TE et l'Ofloxacin (OFX) (Figure 20).

Résultats et interprétation

III-7-9- Profil d'antibiorésistance d'*E.cloacae*

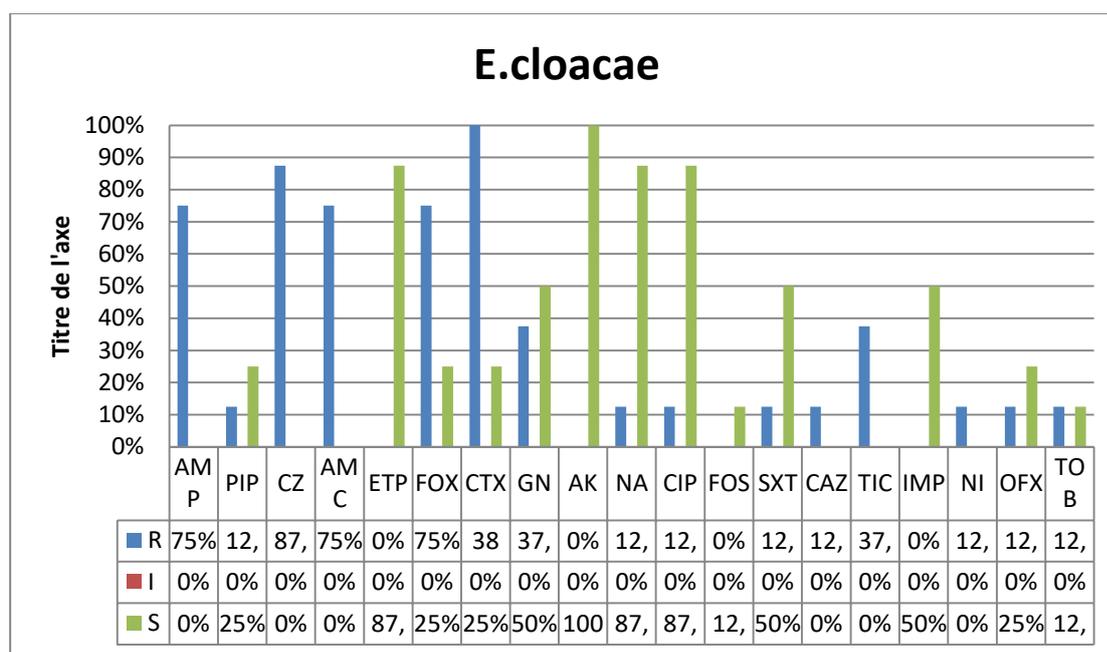


Figure 21 : Profil d'antibiorésistance d'*E.cloacae*

Les 8 souches d'*E.cloacae* soit 100% présentent une résistance vis-à-vis le CTX, et une sensibilité vis-à-vis l'AK, 87% sont sensibles à l'ETP, la CIP et le NA, 50% sont sensibles à la Gn, le SXT et l'IMP, 25% vis-à-vis la PIP, la FOX, le CTX et l'OFX, 12% vis-à-vis la TOB et la FOS, 87% sont résistantes à la CZ et 75% vis-à-vis l'AMC (Figure 21).

III-7-10- Profil d'antibiorésistance de *S.marcescens*

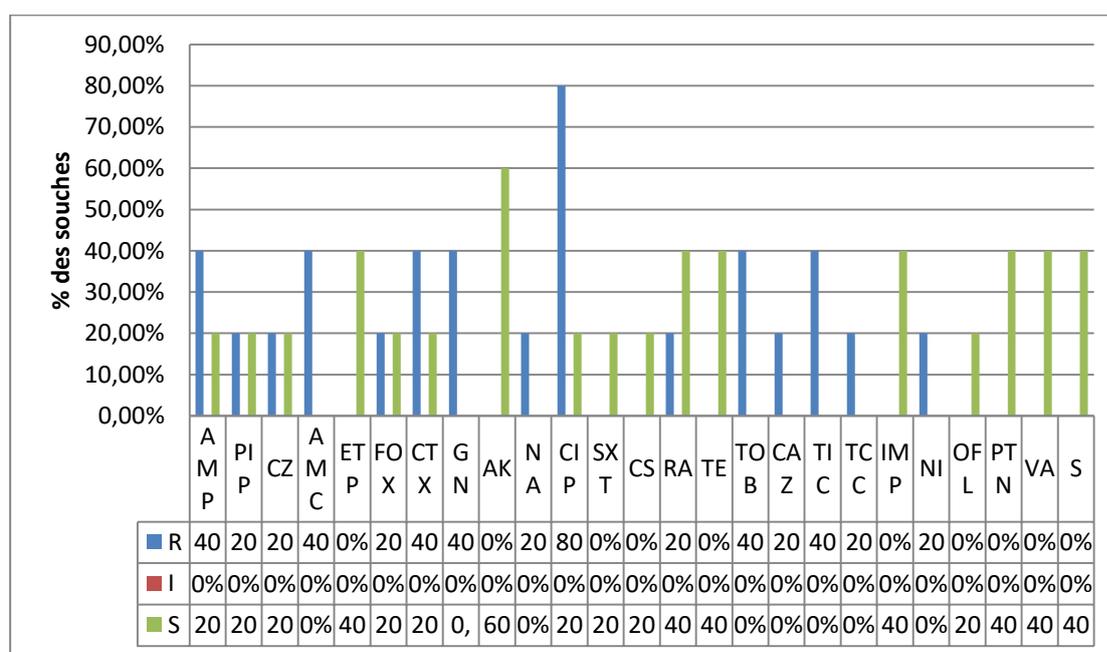


Figure 22 : Profil de sensibilité et de résistance de *S.marcescens*

Résultats et interprétation

40% des souches isolés de *S.marcescens* sont sensibles à l’ETP, la RA, la TE, l’IMP, la PTN, la VA et la Streptomycine (S), tandis que 80% sont résistantes à la CIP, 40% à l’AMP, l’AMC, le CTX, la Gn, la TOB et la TIC, 20% seulement sont résistantes vis-à-vis la PIP, la CZ, la FOX, la RA, la CAZ, Ticarcilline-Acide clavulanique (TCC), le NI et l’acide nalidixique (NA) (Figure 22).

III-7-11- Profil d’antibiorésistance de *C.freundii*

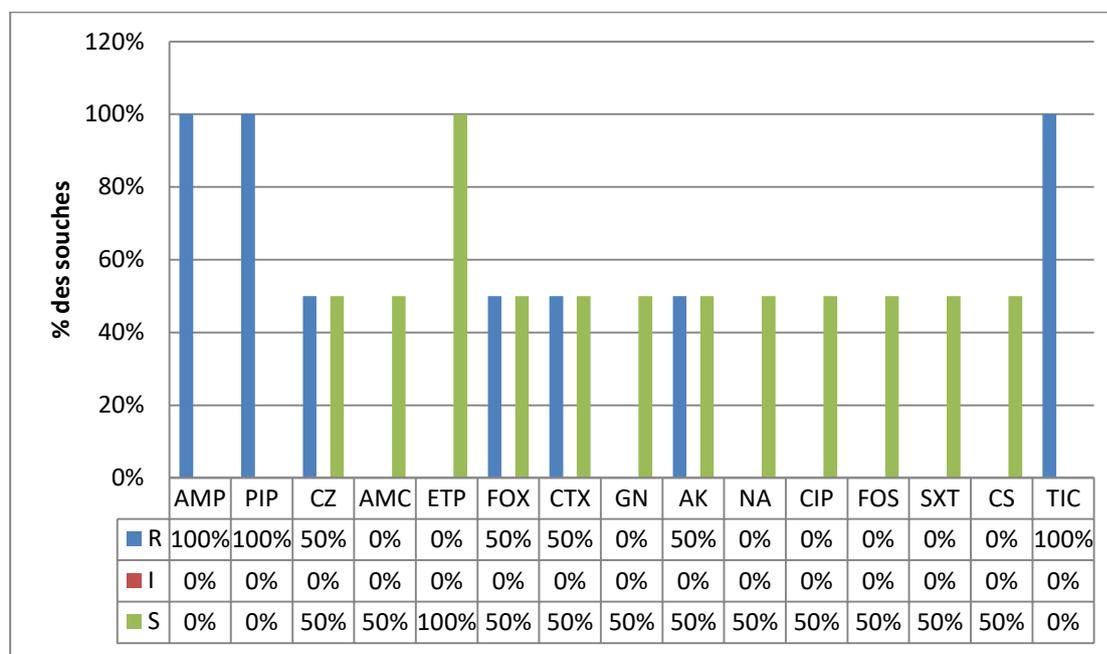


Figure 23 : Profil de sensibilité et de résistance de *C.freundii*

Pour les 2 souches isolées de *C.freundii*, 100% sont résistantes à l’AMP, la PIP et la TIC, et 100% sont sensible à l’ETP, tandis que 50% sont sensibles à la Cs, le SXT, la FOS, la CIP, l’AK, la Gn, le CTX, la FOX, l’AMC, le CZ et l’acide nalidixique (NA) (Figure 23).

Résultats et interprétation

III-7-12- Profil d'antibiorésistance de *M.morganii*

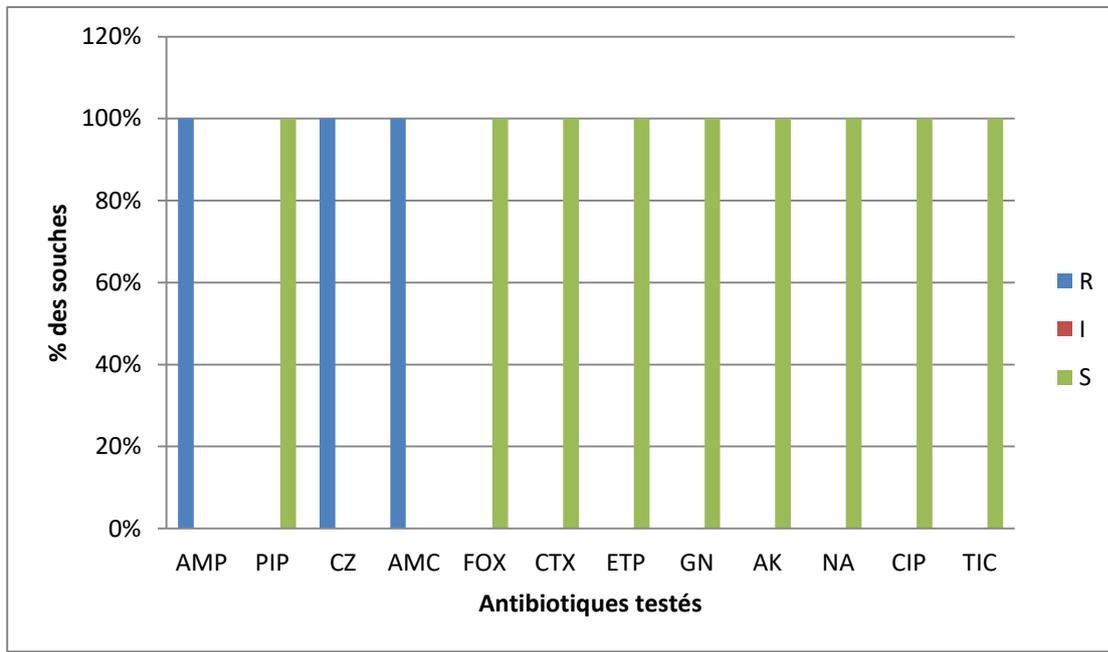


Figure 24 : Profil de sensibilité et de résistance de *M.morganii*

La seule souche isolée de *M.morganii* est sensible vis-à-vis : la FOX, la PIP, la CTX, l'ETP, la Gn, l'AK, la CIP, l'Acide nalidixique et la TIC. Et elle est résistante vis-à-vis l'AMP, la CZ et l'AMC (Figure 24).

Résultats et interprétation

III-8-Répartition des BLSE et des SARM

III-8-1-Répartition des BLSE

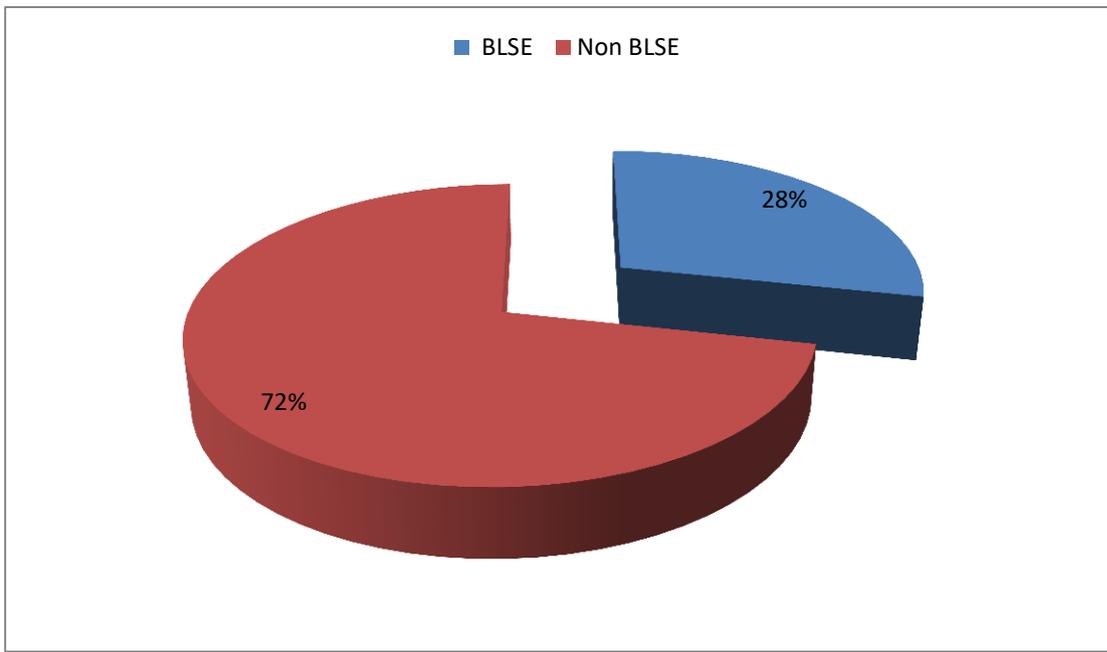


Figure 25 : Répartition des BLSE

Parmi 74 souches d'entérobactérie isolées des différents prélèvements 21 sont des BLSE soit 28% (Figure 25).

III-8-2-Répartition des BLSE selon les souches

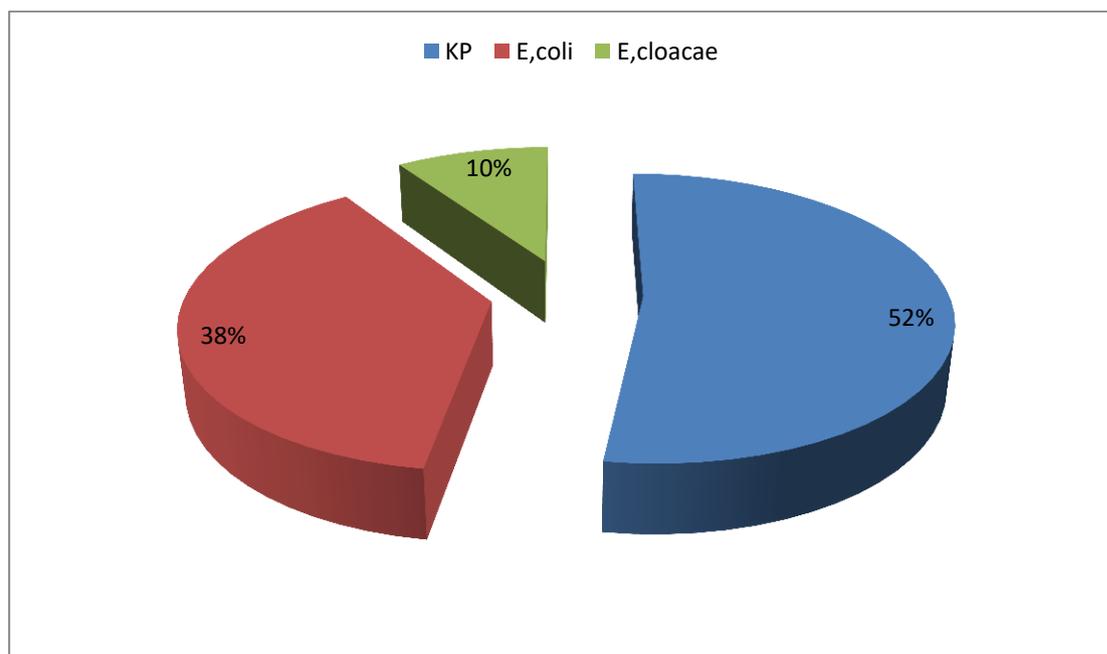


Figure 26 : Répartition des BLSE selon les souches

Résultats et interprétation

Les Entérobactéries producteur de β -lactamase à spectre étendu sont répartit en 11 souches de *KP* (52%), 8 souches d'*E.coli* (38%) et 2 souches d'*E.cloacae* (10%) (Figure 26).

III-8-3-Répartition des SARM

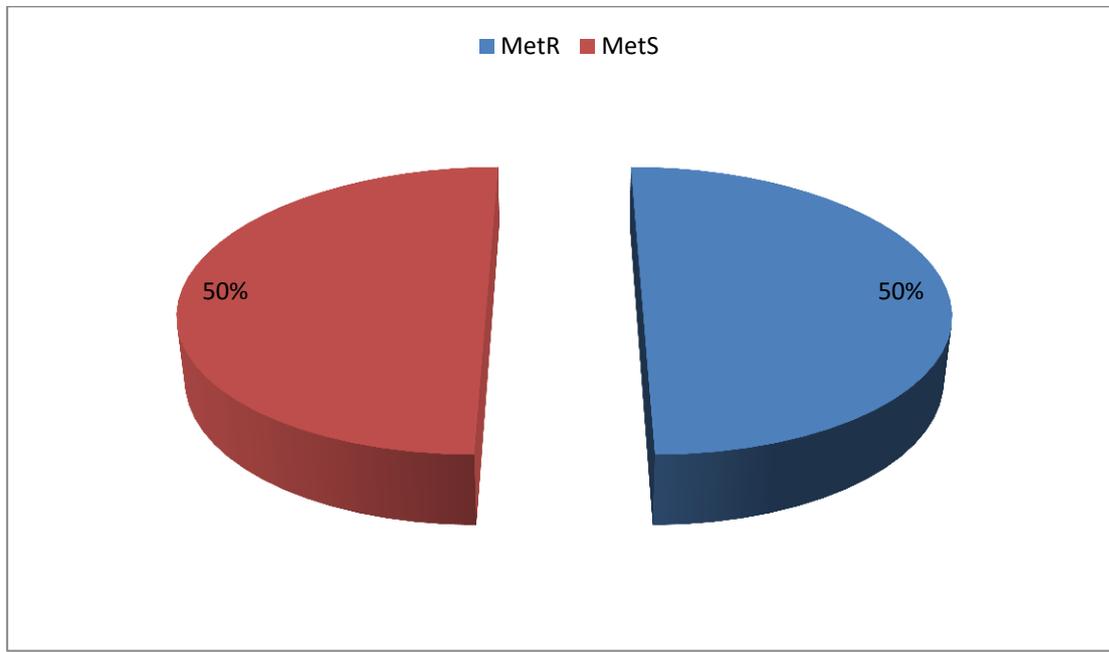


Figure 27 : Répartition des SARM

A partir de 10 souches de *S.aureus* 50% sont des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) (Figure 27).

Résultats et interprétation

III-9-Résultats du pouvoir bactéricide des associations d'antibiotiques

III-9-1- Répartition globale des effets des associations des antibiotiques

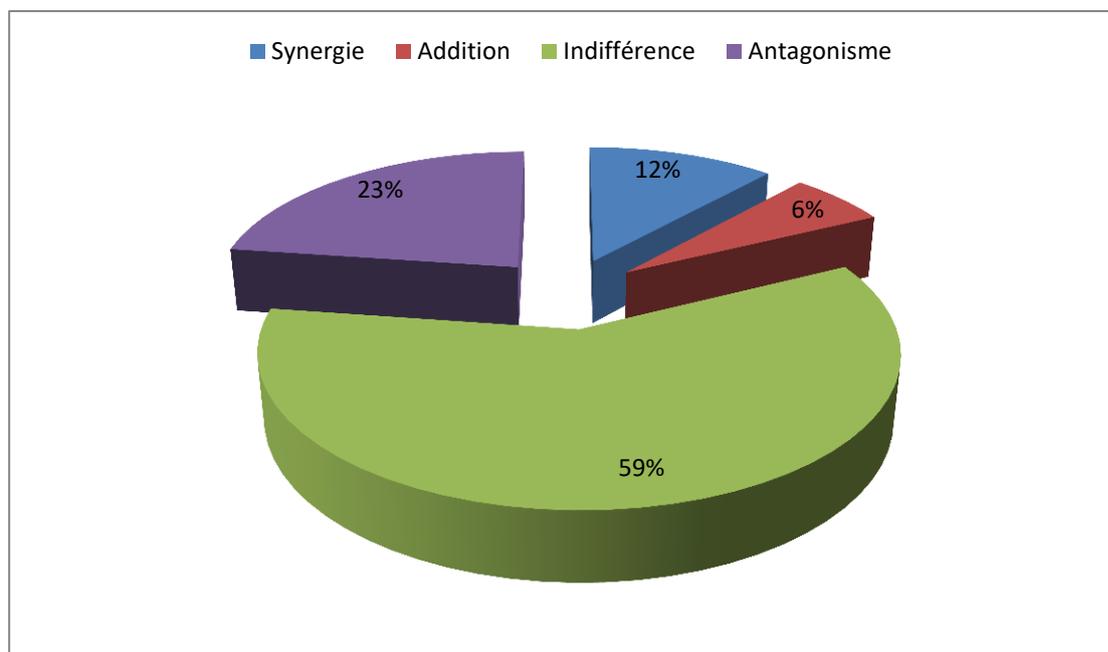


Figure 28 : Répartition globale des effets des associations des antibiotiques

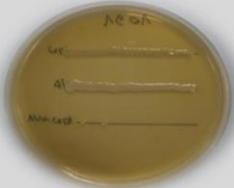
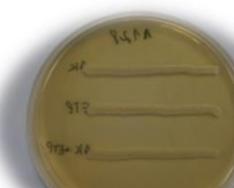
Le choix des associations a été basé sur les résultats de l'antibiogramme. Nous n'avons testé que les antibiotiques pour lesquelles les souches étudiées étaient sensibles. Le but recherché pour une association est la synergie. Ceci n'a été observé que dans 12% de l'ensemble des cas étudiés. L'indifférence a été observée dans 59% des cas c'est-à-dire aucun effet supplémentaire n'est obtenu par ces associations, tandis que l'effet additif représente (6%). L'association est même néfaste donnant un effet antagoniste, observé dans 23% des cas (Figure 28).

III-9-2- Aspect macroscopique des effets des associations des antibiotiques

Le tableau suivant résume l'aspect macroscopique des différents effets des associations des antibiotiques (Tableau n°11).

Résultats et interprétation

Tableau n°11 : Aspect macroscopique des résultats des associations des antibiotiques

Description	Effets	Boîte témoin
le nombre de colonies est moins de 3 (0-3 colonies) correspondant à 0,1 à 0,01% de survivants.	 <p>Synergie</p>	
le nombre de colonies obtenus avec l'association est inférieur à celui des deux ATB isolés.	 <p>Addition</p>	
le nombre de survivants obtenus avec une association est supérieur à celui obtenu avec l'antibiotique le plus actif lorsqu'il est testé seul.	 <p>Antagonisme</p>	
le nombre de survivants est égal à celui obtenu avec l'antibiotique le plus actif lorsqu'il est testé seul.	 <p>Indifférence</p>	

Résultats et interprétation

III-9-3-Répartition des effets des associations des antibiotiques selon les souches

A- Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *E.coli*

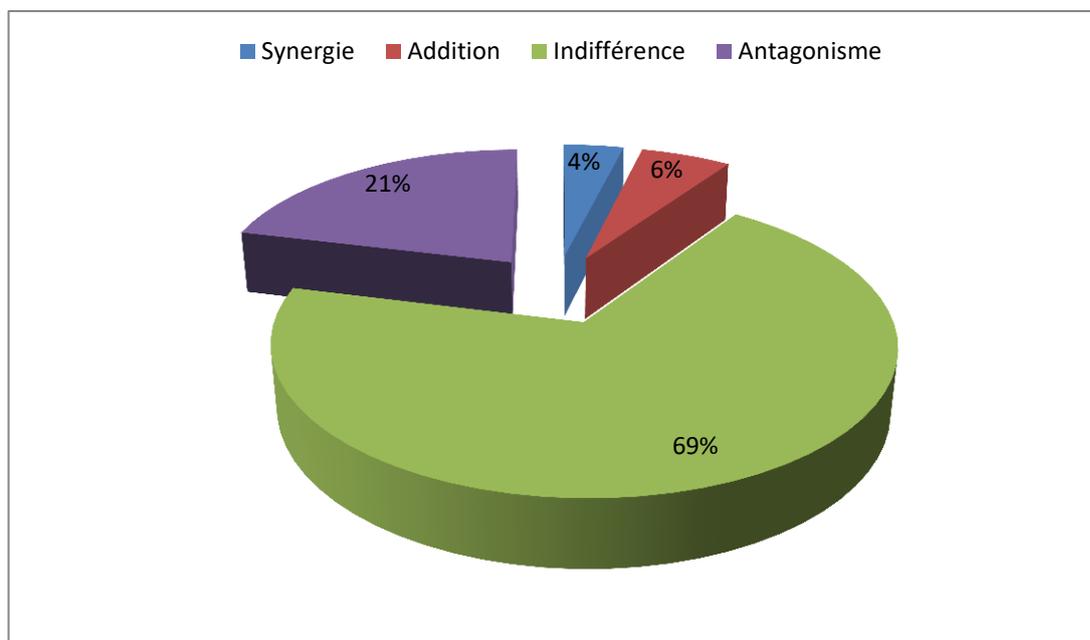


Figure 29 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *E.coli*

Pour les souches d'*E.coli* une prédominance de 69% de l'effet indifférent des associations utilisées (CTX+AK, ETP+AK, IMP+AK), suivie de l'antagonisme avec 21% pour les associations CTX+AK, ETP+AK. L'effet additif représente 6% pour CTX+AK, ETP+AK, l'effet synergique représente que 4% pour CTX+AK, ETP+AK (Figure 29).

B- Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *Klebsiella sp*

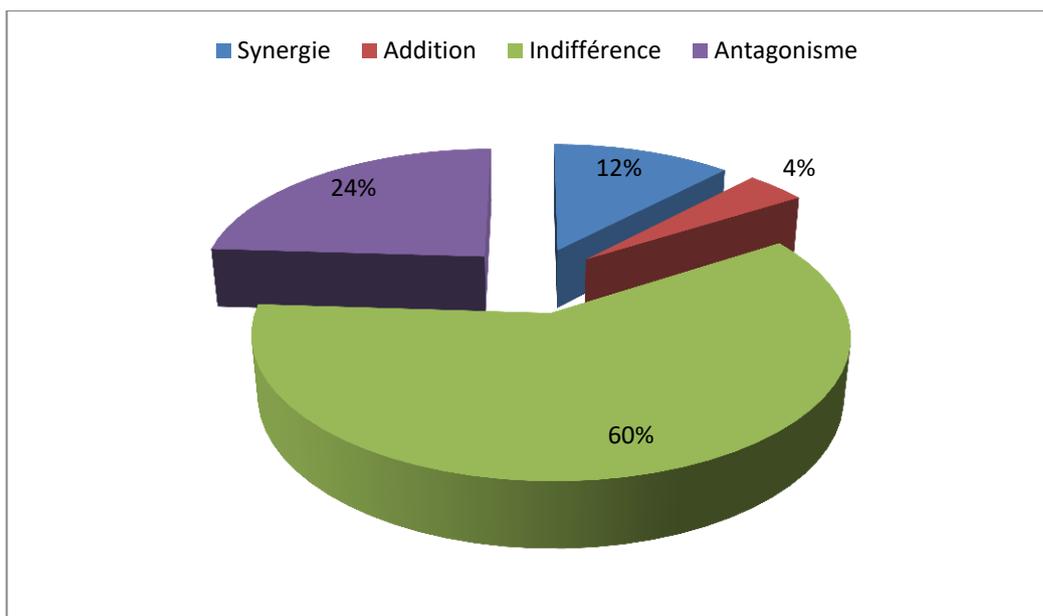


Figure 30: Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *Klebsiella sp*

Résultats et interprétation

Une prédominance de l'effet indifférent sur les souches de *klebsiella sp* (KP et KO) a été observée avec un taux de 60% (CTX+AK, ETP+AK, IMP+AK, IMP+GN), l'effet néfaste représente 24% pour ETP+AK, IMP+AK, IMP+GN, l'effet synergique (12%) pour les associations CTX+AK, ETP+AK, IMP+AK, IMP+GN. L'effet additif représente que 4% pour l'association ETP+AK (Figure 30).

C- Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *A.baumannii*

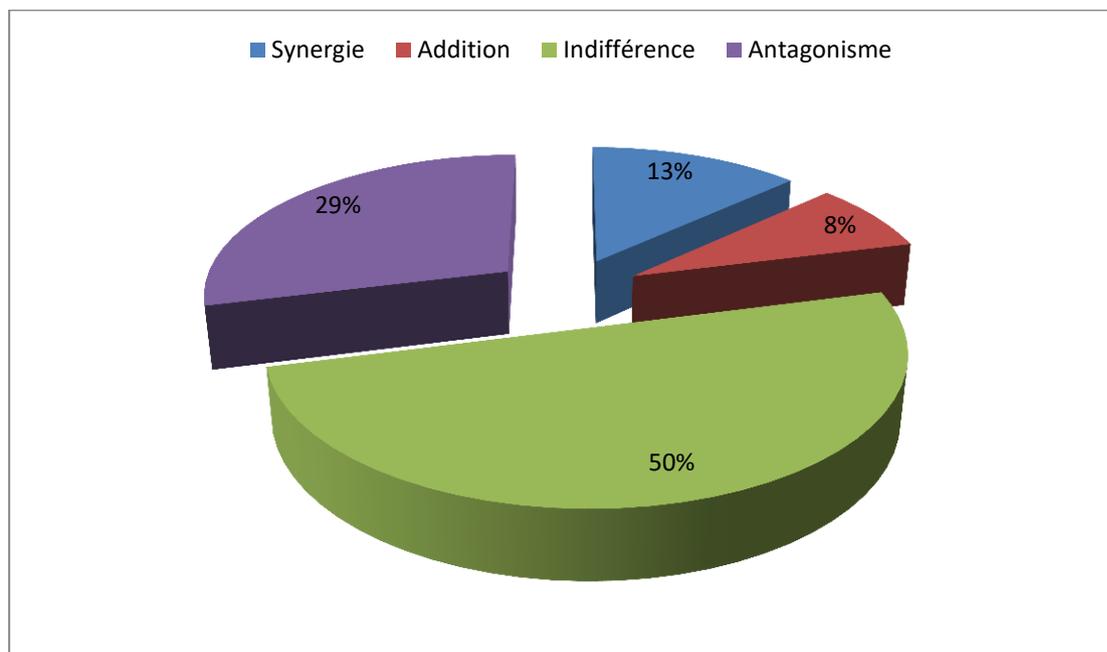


Figure 31 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *A.baumannii*

La plupart des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées des services de réanimation sont toto-résistantes. Cette résistance touche parfois même la colistine. Pour les souches sensibles aux deux molécules testées (colistine et rifampicine), cette association n'a été synergique que dans 13% des cas, et présente un effet additif dans 8% des cas. L'antagonisme (29%) et l'indifférence (50%) sont nettement supérieurs à la synergie (Figure 31).

Résultats et interprétation

D- Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *P.aeruginosa*

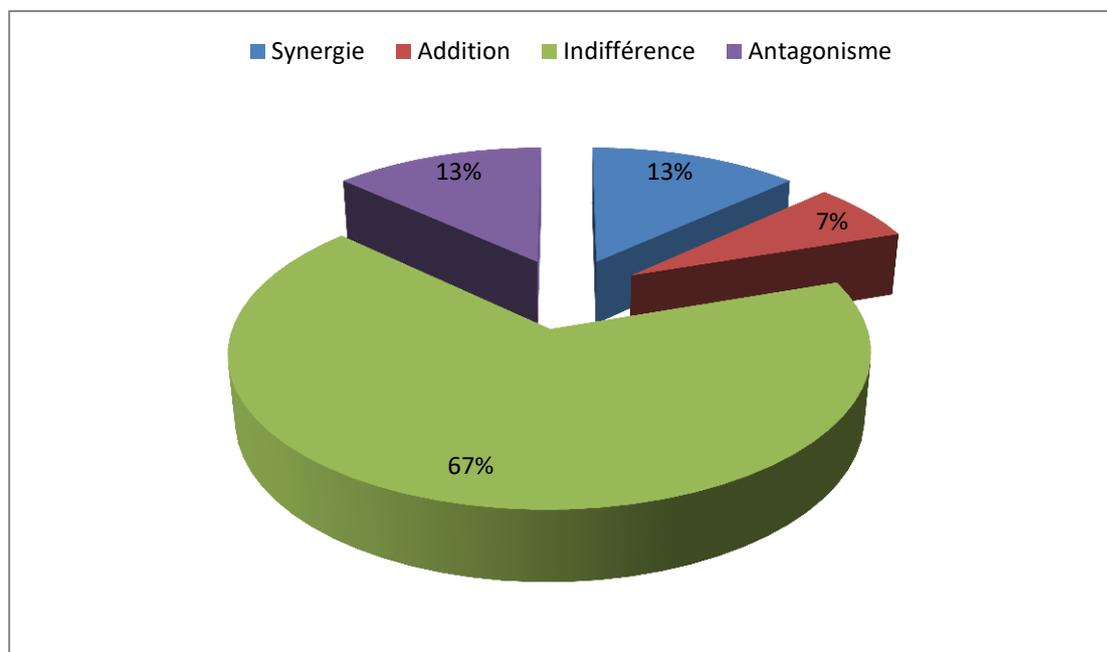


Figure 32 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *P.aeruginosa*

Pour les 15 souches de *Pseudomonas aeruginosa*, l'indifférence représente 67% pour les associations CAZ+AK, CAZ+GN et IMP+AK, suivie de l'antagonisme et de synergie pour les associations CAZ+AK, CAZ+AK (13%), enfin l'addition (7%) pour l'association (CAZ+AK) (Figure 32).

E- Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *E.cloacae*

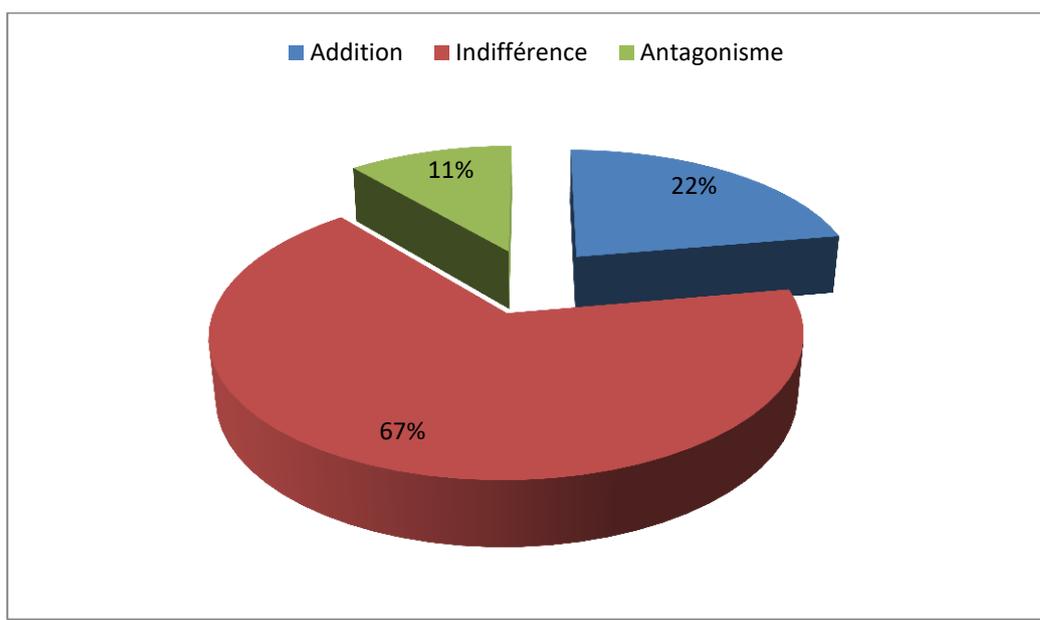


Figure 33 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *E.cloacae*

Résultats et interprétation

Pour les 4 types d'associations testées (CTX+AK, IMP+AK, IMP+CIP, CTX+GN), sur les 8 souches d'*E.cloacae* isolées aucun effet synergétique n'a été obtenu. L'effet indifférent (67%) est observé dans toutes les associations analysées. L'addition (22%) pour les associations CTX+AK et CTX+GN, l'effet d'antagonisme (11%) est généré que par l'association IMP+AK (Figure 33).

F- Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *M.morganii*

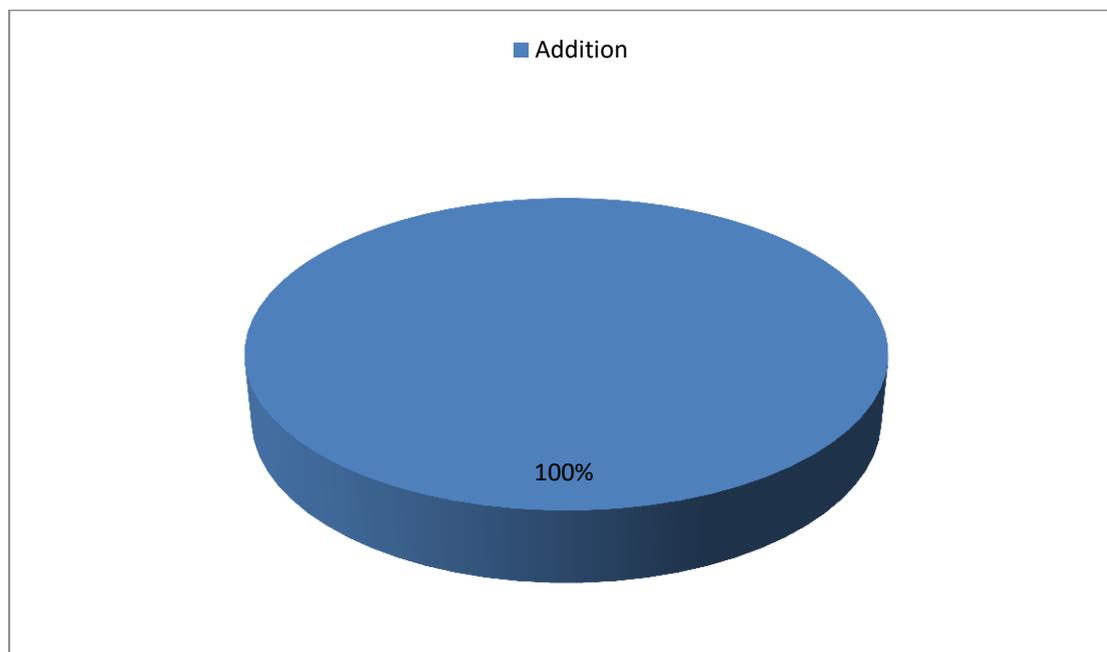


Figure 34 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *M.morganii*

Pour la seule souche isolée de *M.morganii*, un effet Additif est observé pour l'association CTX+AK indifférence (Figure 34).

I- Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *C.freundii*

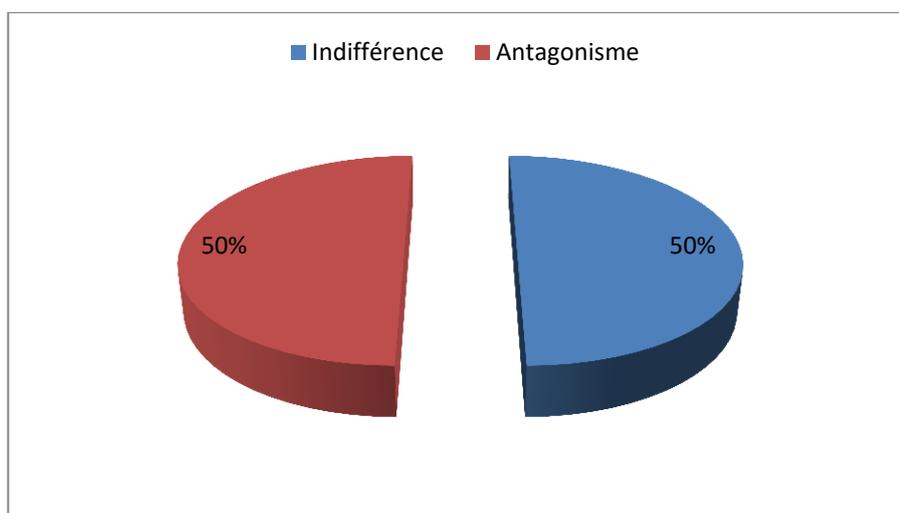


Figure 35 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *C.freundii*

Résultats et interprétation

Pour les 2 souches de *C.freundi*, 3 associations ont été analysé : CTX+AK, ETP+AK, CTX+GN. Deux effets d'indifférence ont été obtenus pour les associations CTX+AK, ETP+AK soit 50%, et deux effets d'antagonisme pour les associations (ETP+AK, CTX+GN) soit 50% (Figure 35).

J- Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *P.stuartii*

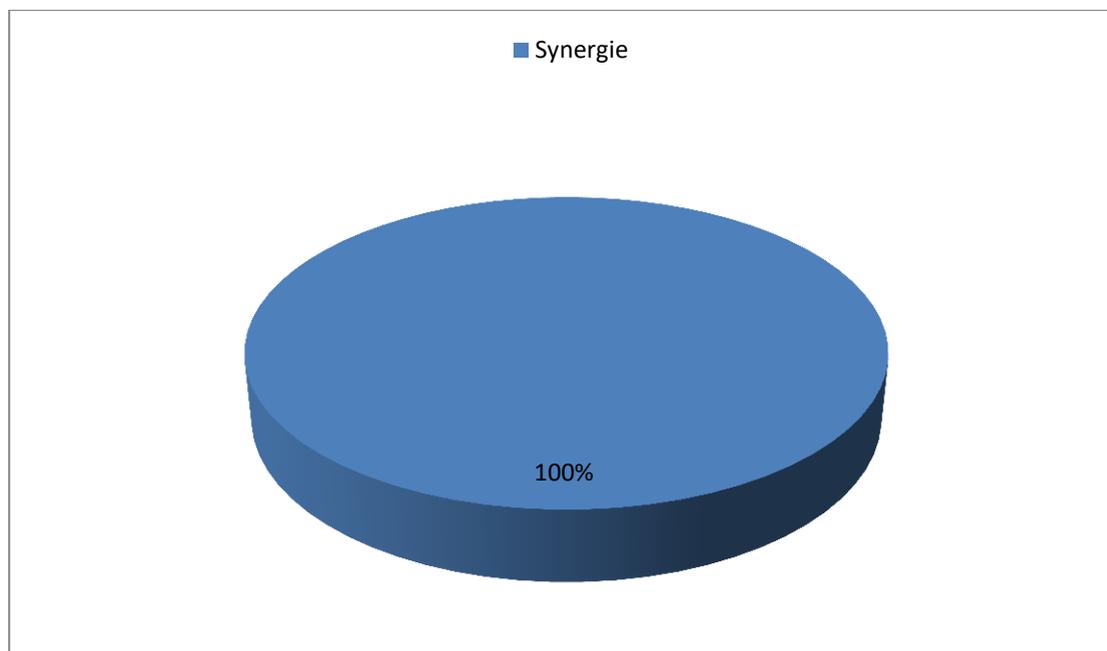


Figure 36 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *P.stuartii*

Les associations CTX+AK et ETP+AK, appliquées sur la seule souche de *P.stuartii* ont présenté un effet synergique (Figure 36).

K- Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *S.aureus*

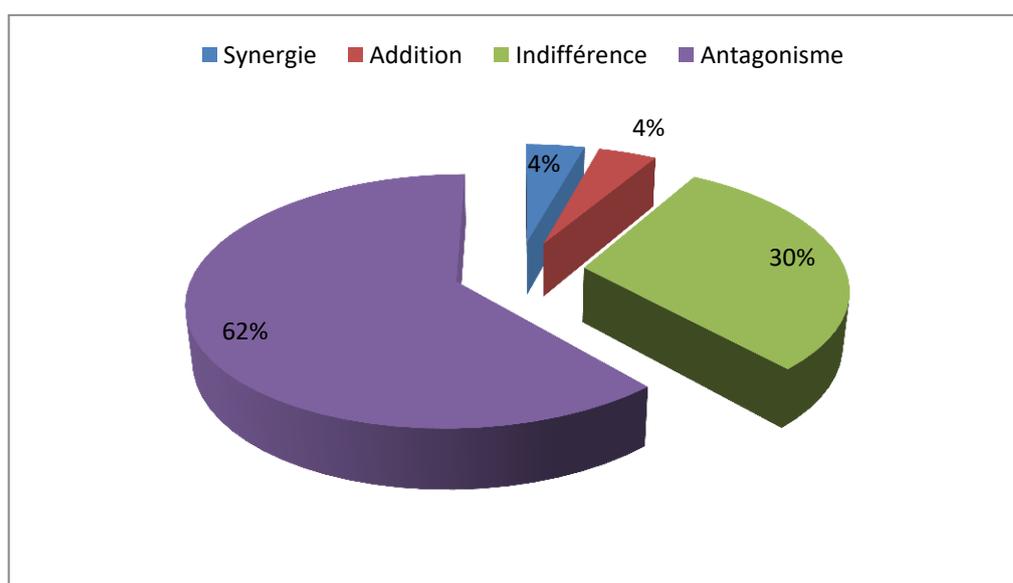


Figure 37 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *S.aureus*

Résultats et interprétation

Pour les 10 souches de *Staphylococcus aureus* nous avons testé l'association VA+AK et VA+GN où s'est révélée synergique que dans 4% des cas. L'effet d'addition était de 4% , l'indifférence de 30% et l'antagonisme de 62% (Figure 37).

L- Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *S.marcescens*

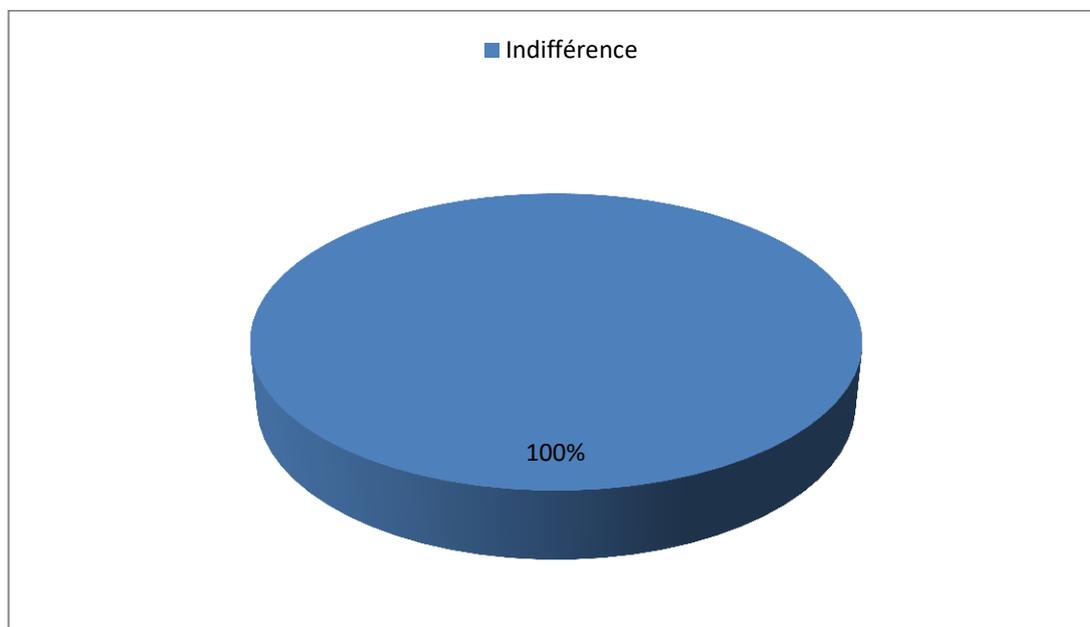


Figure 38 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *S.marcescens*

Pour les 3 associations testées (ETP+AK, VA+GN, IMP+AK) sur les 5 souches de *S.marcescens* isolées, nous avons obtenu que l'effet d'indifférence (Figure 38).

M- Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *Enterococcus sp*

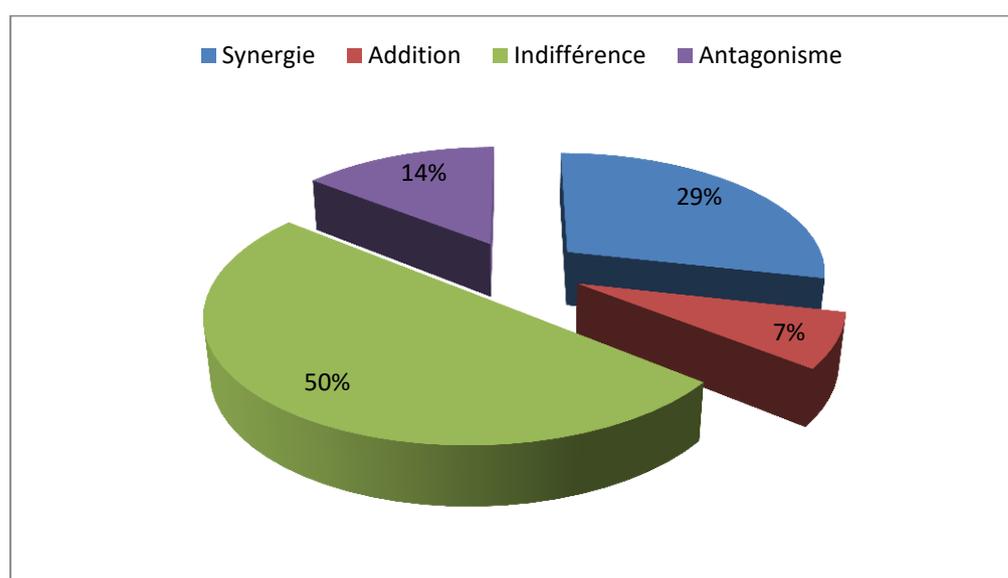


Figure 39 : Répartition des effets des associations des antibiotiques sur *Enterococcus sp*

Résultats et interprétation

Pour les 12 souches d'*Enterococcus sp* (10 *E.faecalis*, 1 *E.faecium* et 1 *Enterococcus sp*) l'indifférence représente 50% des cas pour les associations GN+FOS, CIP+VA, ETP+AK, GN+VA, 29% pour la synergie (AK+VA, AK+AMX), 14% pour l'antagonisme (GN+VA) et enfin 7% pour l'addition pour l'association ETP+AK (Figure 39).

III-9-4-Répartition de l'effet d'association sur les BLSE et les SARM

A- Répartition de l'effet d'association sur les BLSE

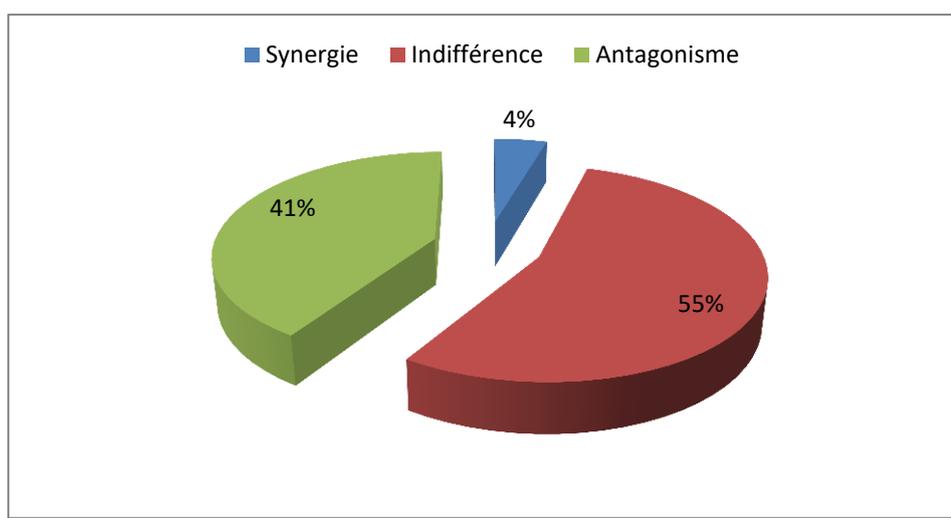


Figure 40 : Répartition de l'effet d'association sur les BLSE

Pour les BLSE une prédominance de l'effet indifférent (55%) suivie de l'effet d'antagonisme (41%) et de l'effet synergique (4%) (Figure 40).

B- Répartition de l'effet d'association sur les SARM

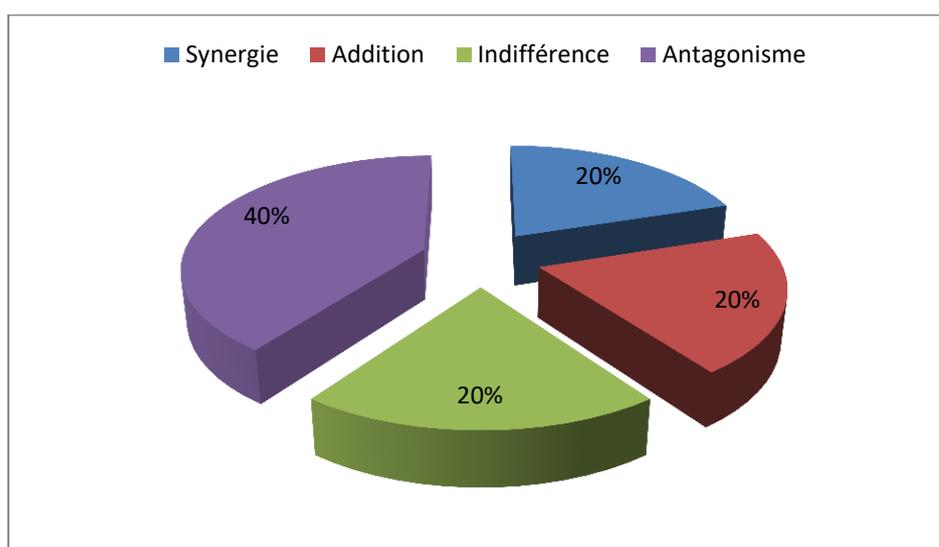


Figure 41 : Répartition de l'effet d'association sur les SARM

Pour les SARM, une prédominance de l'effet d'antagonisme (40%), suivie par l'addition, l'indifférence et la synergie avec 20% pour chaque effet (Figure 41).

Discussion

Notre étude a permis d'avoir des résultats concernant les différents effets des associations d'antibiotiques sur les bactéries responsables d'infections sévères dans nos services de réanimation. Sur un total de 758 prélèvements, 152 soit 20% se sont révélés positifs, et 606 (80%) sont négatifs.

Les résultats négatifs sont expliqués par l'antibiothérapie préventive administrée en réanimation. La pharmacocinétique des antibiotiques chez les malades de réanimation est très altérée, justifiant l'utilisation de doses élevées pour obtenir des concentrations efficaces au site infectieux et une surveillance des concentrations plasmatiques des antibiotiques. Il faut noter que l'interprétation des résultats est parfois difficile. La fièvre chez le patient admis n'est pas spécifique à l'infection bactérienne car il s'agit de patient, intubé, ventilé, porteur de plusieurs cathéters, et polymédicamenteux. Elle peut être une fièvre médicamenteuse, ou également une fièvre non infectieuse.

Dans notre étude, les bactéries étudiées sont celles incriminées dans les infections sévères avec prédominance des Bacilles à gram négatif (BGN) (86%), dont l'*Acinetobacter baumannii* (26.14%) suivi par *Escherichia coli* (22.22%), et enfin *Klebsiella sp* (15.03%) (avec 22 KP soit 95.65% et 1 *K.oxytoca* soit 4.34%). Les cocci gram positif (CGP) ne représentent que 14% des cas.

Une étude similaire a été réalisée par Clotilde Njall et al., (2013) dans le service de réanimation, de l'hôpital Laquintinie de Douala en vue d'améliorer la prise en charge et diminuer la létalité. Les résultats montrent que les bactéries responsables étaient en majorité des bactéries gram positifs (BGN), dont *E coli* (23,1%) et les cocci gram positifs(CGP) dans 15,4% des cas.

Les souches d'*E.coli* et de KP prédominent avec 38%, 16% respectivement dans les prélèvements d'urines. Une semblable étude rétrospective menée au laboratoire de L'Hopital des spécialistes de RABAT (HSR), par **Ait miloud (2009)**, conclu que *E.coli* représente 34.8%, et la KP 16.9% de 28.6% des entérobactéries isolées en réanimation.

Dans notre étude, *A.baumannii* représente 41% des souches isolées à partir des prélèvements sanguins, et 36% pour le Pus. Ces taux se rapprochent avec ceux obtenus au cours d'une étude prospective, menée sur la caractérisation de l'antibiorésistance des souches d'*Acinetobacter baumannii*, au service de réanimation CHU Annaba sur une période de onze mois par **Touati (2011)**, où l'isolement à partir des plaies et par hémocultures est faible avec un pourcentage de 3.33%.

Dans une étude récente, *Escherichia coli* est isolé dans 80% des prélèvements urinaires (**Rakotoarivony et al., 2009**). L'arbre urinaire est normalement stérile, à l'exception de la flore de l'urètre distal qui est diverse et reflète à la fois la flore digestive (Entérobactéries, streptocoques, anaérobies), la flore cutanée (staphylocoques à coagulase négative, corynébactéries) et la flore génitale (lactobacilles chez la femme) . L'urètre lui-même fait obstacle à l'inoculation intra vésicale ; la longueur de l'urètre intervient,

Discussion

protégeant l'homme beaucoup mieux que la femme. La survenue d'une IU implique soit une carence des défenses de l'hôte, soit le développement dans la flore urétrale d'une bactérie particulièrement virulente dite uropathogène. Chez *E. coli*, seule une minorité des souches de la flore digestive est douée d'uropathogénicité par la production d'une ou plusieurs adhésines (ou fimbriae ou pili). Les infections à *A.baumannii* concernent principalement des patients hospitalisés en réanimation, où elles peuvent diffuser sur un mode épidémique et causer des infections sévères **(Brugère, 2010)**.

Plusieurs facteurs de virulence bactériennes sont nécessaires pour la pathogénèse des infections causées par *A. baumannii*. Ces facteurs permettent aux micro-organismes de coloniser ou d'infecter l'hôte efficacement **(Roca et al.,2012)**. Néanmoins, les mécanismes impliqués dans la création et la progression des infections à *A. baumannii* ne sont pas claires, puisque ce micro-organisme n'est pas connu pour produire des toxines ou cytolysines diffusables, et que seulement peu de facteurs de virulence ont été identifiés **(Gordona et Warehama, 2010)**

Les résultats de l'antibiogramme montrent que 100% des souches isolées *A.baumannii* soit 40 souches sont sensible à la colistine (CS). Le taux de résistance est de 68% pour la CAZ et la CIP, 65% pour l'IMP et enfin 60% pour l'AK. Ces pourcentages sont proches de ceux rapportés par une étude rétrospective réalisée au service de réanimation polyvalente de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech, sur une période de 24 mois réalisée par **Ghizlane (2010)**, où le taux de la résistance pour la CS est de 0%, la CAZ (69%) et 69.4% pour l'AK, tandis que le taux est plus élevé pour l'IMP (100%) et la CIP (68%).

A l'échelle hospitalière, le taux de résistance est beaucoup plus élevé dans les unités de réanimation où les patients les plus vulnérables sont regroupés et où l'utilisation des antibiotiques est plus élevée que dans les autres services **(El Ghazouani, 2010)**.

La définition de la multirésistance est difficile à établir. Il est couramment admis de parler de multirésistance lorsqu'une souche bactérienne a accumulé sur son profil sauvage de sensibilité aux antibiotiques des résistances acquises telles que la souche ne reste sensible qu'à un nombre restreint d'antibiotiques utilisables en thérapeutique. L'espèce *A.baumannii* est naturellement résistante à de nombreux antibiotiques, et certaines souches ont acquis des mécanismes de résistance supplémentaires. Certaines sont pan-résistantes à tous les antibiotiques disponibles. C'est notamment le cas pour les souches d'*A.baumannii* résistantes à l'IMP **(Brugère, 2010)**.

Les résultats de l'antibiogramme montrent que 90% des souches d'*E.coli* sont sensibles à l'AK. Ce taux est proche de ceux rapportés par une étude sur 1415 souches d'*E.coli*, isolées dans les services de réanimation Européens en 2014 et 2009, où en 2014 97.5% des souches étaient sensibles à l'AK et 71.5% en 2009.

Pour le profil d'antibiorésistance de *K.pneumoniae* (KP), il ressort que 100% des souches sont sensibles à l'AK. Ce taux est plus élevé par rapport à une étude réalisée au CHU

Discussion

BENBADIS à Constantine, sur les KP par **Sekhri (2011)**, où parmi 40.58% de KP isolées en réanimation (48.07%) sont sensibles à l'AK.

Parmi 74 souches d'entérobactérie que nous avons isolées des différents prélèvements 21 sont des BLSE soit 28%. Les Entérobactéries producteur de β -lactamase à spectre étendu sont réparti en : 11 souches de KP (52%), 8 souches d'*E.coli* (38%) et 2 souches d'*E.cloacae* (10%). Nos résultats sont comparables à ceux obtenus au court d'une étude conduite pendant 4 ans, à partir des différents prélèvements urinaires reçus au laboratoire de microbiologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed, par **Qachaou (2011)**. En 2008 6% des BLSE sont isolées en réanimation dont *E.coli* 25% et *Klebiella sp* 58.54%.

La prévalence de production de BLSE parmi les entérobactéries isolées de patient admis en soins intensifs est très variable d'un pays à l'autre, et même d'un centre à l'autre. De nombreuses études ont montré que *E.coli*, *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *Enterobacter aerogenes* et *P.mirabilis* sont les espèces prédominantes (**Rodriguez-Villalobos et al., 2006**). Les BLSE sont des pénicillinases codées par des gènes qui ont accumulé les modifications et ont évolué vers un élargissement du spectre de l'enzyme qui est devenu capable d'hydrolyser la presque totalité des β -lactamines connues (**Ahanogbe, 2014**). Chez les entérobactéries, le mécanisme prédominant de résistance aux bêtalactamines est la production de bêta-lactamases. Les bêta-lactamases sont des enzymes hydrolysant les bêta-lactamines en ouvrant le cycle bêta-lactame et menant à la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique en question (**Boyer, 2013**).

Les entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre étendu (EBLSE) ont largement diffusé dans le monde avec des fréquences d'isolement variables même d'un service à l'autre au sein de la même institution hospitalière. Les EBLSE aujourd'hui sont des BMR majoritaires qui sont à l'origine d'infections potentiellement sévères et de prescriptions d'antibiotiques à large spectre, qui menacent l'activité future des molécules de dernière ligne. Leur implication dans les infections urinaires (IU) dans les IU, constitue un réel problème de santé publique. L'incidence des infections à EBLSE reste faible mais leur mortalité est élevée. Cette mortalité semble liée seulement à la gravité initiale de l'état du patient (**Sbiti, 2017**).

Notre étude montre qu'à partir de 10 souches de *S.aureus*, 50% sont des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM). Ce taux est plus élevé au cours d'une étude réalisée sur les 13 souches de *Staphylococcus aureus* identifiés en réanimation adulte des urgences médico-chirurgicales (UMC) à l'établissement hospitalier et universitaire d'Oran(EHUO) par **Dali (2015)**, et qui disposent d'antibiogramme, 78,6% sont des SARM (*Staphylococcus aureus* Résistant à la Méticilline).

Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM) est un pathogène majeur, responsable d'un nombre important d'infections chez les patients en réanimation. Les infections sévères liées au SARM sont associées à une augmentation de la mortalité, en comparaison aux infections liées aux souches sensibles à la méticilline. Cependant, après ajustement pour les facteurs confondants, la mortalité est comparable entre les infections à SARM et à *S. aureus* sensible à la méticilline (**Kouatchet et Eveillard, 2012**).

Discussion

Le mécanisme le plus fréquent et le mieux saisi de la résistance à la méticilline chez *S. aureus* est la production d'une unique protéine de faible affinité avec la protéine-liant la pénicilline appelée PLP2a ou PLP2' (Nour et al., 2005). Les protéines liant les pénicillines « normaux » de staphylocoques comprennent des protéines qui fonctionnent comme des transpeptidases, endopeptidases ou carboxypeptidases utilisées pour à la réticulation des macromolécules dans la paroi cellulaire pendant la division cellulaire. La résistance intrinsèque à la méticilline résulte de la production d'une PLP unique de taille moléculaire légèrement différente qui a une affinité très faible pour les diverses liaisons avec les β -lactamines .

De ce fait, l'utilisation massive et répétée d'antibiotiques en santé humaine et animale génère au fil du temps une augmentation des résistances bactériennes (Bourdillon, 2014). Les associations sont souvent utiles, voire nécessaires. Elles doivent se baser sur des arguments théoriques dont la plupart sont discutables. Par contre les effets des diverses associations sont extrêmement variables. Ils peuvent être indifférents, additifs, synergiques et antagonistes (Abdoul, 2004).

L'objectif principal recherché lors de la mise en œuvre d'une association d'antibiotique est d'obtenir un effet synergique. En effet l'action combinée des deux antibiotiques lors de ce type d'interaction permet de renforcer la bactéricidie au foyer infectieux, d'élargir le spectre antibactérien, d'éviter la sélection de mutants résistants, de réduire le risque d'échec thérapeutique et par-dessus tout de réduire la dose de chacun des antibiotiques à administrer. C'est pourquoi le choix des associations d'antibiotiques est très important. En effet toutes les molécules associées sont connues pour avoir au moins un effet bactériostatique voir bactéricide en plus d'une synergie d'action sur les bactéries choisies (Ndiongue, 2014).

Le but recherché pour une association est la synergie. Ceci n'a été observé que dans 12% de l'ensemble des cas étudiés. L'indifférence a été observée dans 59% des cas et l'effet additif représente 6% des cas. L'association est même néfaste donnant un effet antagoniste, observé dans 23% des cas. Certains antibiotiques sont antagonistes quand ils sont associés, du moins « *in vitro* ». Mais certaines associations sont synergiques, et l'effet bactéricide obtenu est beaucoup plus important que si chaque antibiotique était utilisé seul (Abdoul, 2004).

Pour *A.baumannii* l'association CS+RA n'a été synergique que dans 13% des cas, et présente un effet additif dans 8% des cas. L'antagonisme a été déterminé dans 29% des cas et l'indifférence (50%) est nettement supérieure à la synergie.

La colistine exerce son action antibactérienne via une interaction directe avec le lipopolysaccharide (LPS), constituant de la membrane externe des bactéries à Gram négatif (Munoz, 2015). Le mécanisme d'action de la rifampicine s'explique par l'inhibition de l'ARN polymérase au niveau de la sous-unité bêta, responsable du blocage de l'initiation de la chaîne de transcription de l'ADN en ARN (Briand, 2016).

Discussion

Une synergie entre la colistine et la rifampicine a été retrouvée *in vitro* avec des souches d'*Acinetobacter baumannii* multirésistantes. L'usage de la colistine s'est répandu au cours des dernières années avec l'apparition de bactéries à Gram négatif multirésistantes. En réanimation, cet antibiotique initialement abandonné en raison d'une toxicité supposée, revient en première ligne pour le traitement des infections à *Acinetobacter baumannii* (**Frasca, 2008**). Pour les entérobactéries, l'effet indifférent prédomine avec 69% pour *E.coli*, et 60% pour la KP, l'antagonisme occupe la deuxième place avec 21% (*E.coli*) et 24% (KP), l'effet additif représente 6% et 4% pour *E.coli* et la KP respectivement, l'association se révèle synergique dans 12% des cas pour la KP et 4% pour *E.coli*. L'association céfotaxime-amikacine semble être la plus efficace. En cas de souche sécrétrice de BLSE, nous remarquons que l'imipénème est plus synergique avec les aminosides par rapport à l'ertapénème pourtant cette molécule est plus adaptée aux entérobactéries.

L'association β -lactamine- aminoside est synergique et bactéricide, la β -lactamine altère la paroi bactérienne en inhibant la synthèse du peptidoglycane , permettant alors la pénétration de l'aminoside qui va agir sur la traduction des acides ribonucléiques messagers (ARNm) et la synthèse des protéines (sont des antibiotiques bactéricides rapides et puissants) puis la lyse de la bactérie (**Robert, 2013**) (**Chaussade et al., 2013**).

Pour les cocci à Gram positif, 29% ont présenté un effet synergique sur les Entérocoques, tandis que 4% sur *Staphylococcus aureus*. L'addition avec 7% sur les Entérocoques et 4% sur *Staphylococcus aureus*. L'antagonisme représente 29% sur les Entérocoques et 4% sur *Staphylococcus aureus*. L'association vancomycine-amikacine est la meilleure pour toutes les souches testées, concordant avec les schémas thérapeutiques adaptés dans la plupart des services concernant le traitement des infections sévères dues aux cocci Gram positif.

Les vancomycines sont des glycopeptides , leur mode d'action s'appuie sur l'inhibition de la synthèse de la paroi des bactéries gram positif en phase de multiplication grâce à l'augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire et l'inhibition de synthèse de l'acide ribonucléique (**Haddadi, 2013**).

Divers mécanismes peuvent expliquer les interactions synergiques des antibiotiques, tel que la facilitation de la pénétration. Ce mécanisme est observé lors de l'association d'un antibiotique inhibant la synthèse de la paroi avec un aminoside. Ainsi, les bêta-lactamines ou la vancomycine facilitent la pénétration des aminosides en augmentant la perméabilité de la paroi. Cet effet synergique a été démontré pour les Entérocoques, les Streptocoques, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, mais il n'est pas constaté pour toutes les souches de ces espèces. L'inhibition de la synthèse de la paroi , un effet synergique séquentiel se produit lors de l'association de la vancomycine avec une bêta-lactamine. L'association de deux bêta-lactamines se fixant sur des PLP différentes peut également avoir un effet synergique. Les PLP ou Protéines Liant les Pénicillines constituent les cibles d'action des bêta-lactamines (**Khيرات et al., 2014**).

Discussion

L'association antagoniste peut être expliquée par le fait de combiner un antibiotique bactériostatique et une bêta-lactamine. Les antibiotiques bactériostatiques diminuent l'activité bactéricide des bêta-lactamines, car celles-ci ne sont actives que sur les bactéries en phase de multiplication. Cet antagonisme a été démontré *in vitro* et *in vivo* (**Khirat et al., 2014**).

L'activité bactéricide synergique la plus intéressante est observée avec l'association des bêtalactamines avec les aminosides. Le deuxième objectif de l'association est d'élargir le spectre antibactérien dans le traitement des infections sévères microbiologiquement non documentées (méningites purulentes, pneumonies sévères) ou potentiellement pluri microbiennes (cellulites nécrosantes, infections intra abdominales). En dehors de ces circonstances, l'association d'antibiotiques doit être évitée en raison des antagonismes d'action de certains antibiotiques, du risque d'augmentation des effets indésirables, et du coût élevé (**Touibi, 2010**).

Les notions de synergie ou de résistance sont bien définies *in vitro* et les tests sont validés. L'extrapolation de ces modèles aux situations *in vivo* n'est cependant pas claire. En effet, la répercussion la plus grave qu'est l'antagonisme n'a été mise en évidence que dans une étude et certains modèles bien étudiés *in vitro* ne se comportent pas de façon identique *in vivo*. Cela implique que le lien entre cliniciens et bactériologistes soit renforcé de manière à discuter au cas par cas des associations inhabituelles, qui pourraient avoir des conséquences sur le traitement de l'infection (**Khirat et al., 2014**).

Cela est d'autant plus vrai que si le clinicien veut faire tester une ou plusieurs associations *in vitro* par le bactériologiste, celui-ci vu la complexité des techniques ne pourra en tester que quelques-unes. Une discussion tenant compte du type d'infection (localisation et germe) est donc indispensable pour tester la ou les quelques combinaisons qui semblent intéressantes pour le traitement du patient (**Khirat et al., 2014**).

Néanmoins, les associations d'antibiotiques ont des inconvénients tels que : Antagonisme dû aux interactions, peuvent être générateur de résistances (céphalosporinase inductibles) et présentes des effets secondaires (**Khirat et al., 2014**).

Conclusion

Le traitement des infections sévères surtout celles survenant dans les services de réanimation est souvent difficile. Ceci est dû d'une part à la multirésistance des germes isolés et d'autre part à la sévérité du tableau clinique et la fragilité et/ou l'immunodépression des malades. Le recours à une bithérapie est souvent la règle dans ces situations. Le laboratoire de microbiologie apporte une aide précieuse quant au choix de l'antibiothérapie seule (antibiogramme, CMI) ou associations de plusieurs molécules (test d'association) ou vérifier l'efficacité du traitement instauré (test de suivi).

Notre étude a permis d'avoir des résultats concernant les différents effets des associations d'antibiotiques sur les bactéries responsables d'infection graves dans nos services de réanimation.

La plupart des souches testées sont des BGN (86 %), confirmant leur prédominance dans les services de réanimation.

La majorité des associations testées ne sont pas synergiques. Le pourcentage de l'indifférence et de l'antagonisme sont beaucoup plus importants (59% et 23%) alors que celui de la synergie n'est que de 12%, et l'effet additif représente que 6%.

Les souches d'*Acinetobacter baumannii*, germe redoutable, dans notre hôpital est devenu totorésistant avec émergence même de la résistance à la colistine. Pour ce même germe, la colistine et la rifampicine sont les seuls antibiotiques qui restent actifs et dont l'association est peu synergique (16%). En plus, la rifampicine est réservée pour le traitement de la tuberculose, elle est très peu utilisée en dehors de ce contexte.

L'association céfotaxime- amikacine semble être la plus efficace. En cas de souche sécrétrice de BLSE, l'imipénème est plus synergique avec les aminosides par rapport à l'ertapénème pourtant cette molécule est plus adaptée aux entérobactéries.

Pour les cocci à Gram positif l'association vancomycine-amikacine est la meilleure pour toutes les souches testées, concordant avec les schémas thérapeutiques adaptés dans la plupart des services concernant le traitement des infections sévères dues aux cocci Gram positif.

L'effet obtenu de l'association des antibiotiques *in vitro* n'est pas toujours synergique. Seul le laboratoire de microbiologie peut déterminer les différents effets résultants et permettra de choisir la meilleure association. Les tests actuellement disponibles sont peu utilisés car de réalisation fastidieuse et longue, l'interprétation est assez subjective et manque de précision.

En attendant leur standardisation, l'utilisation de la technique de dilution en milieu liquide (plus facile, peu couteuse et reproductible) semble être plus adaptée à la pratique courante des laboratoires hospitaliers.

Références bibliographiques

- Abdoul A-S. (2004). Evaluation de la prescription de à triple association (amoxicilline-gentamycine-metronidazole) dans les fractures ouvertes : A propos de 44 cas colligés dans le service de chirurgie orthopédique et traumatologique de l'hôpital Gabriel Touré. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako, Mali, 50p
- Achkour Z.(2012). Emergence de la résistance aux carbapénemes chez les bacilles à Gram négatif. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V-Soussi, Rabat, 60p
- Agence nationale de sécurité du médicaments et des produits de santé. (2016). Dominique martin. Liste des antibiotiques critiques. Site pleyel, France, 13p
- Ahanogbe K-A-L. (2014). Résistance bactérienne en cas d'infections de plaies diabétiques : Diagnostic et surveillance au laboratoire Rodolphe Merieux de Bamako. Thèse de Doctorat en pharmacie . Université des sciences, des techniques et des technologie de Bamako, Mali, 78p
- Ait-Miloude K. (2011). L'infection urinaire : Experience du laboratoire de Microbiologie de l'hopital des spécialistes de Rabat. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohamed V, Rabat, 82p
- Ait-mouhoub S-E. (2015). L'automédication aux antibiotiques en médecine générale: étude quantitative auprès de patients. Doctorat en médecine générale. Université de Picardie Jules Verne, France, 76p
- Alioua m-a. (2015). Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie , 207p
- Auboyer C. (2000). Associations d'antibiotiques ou monotherapie en reanimation chirurgicale et en chirurgie Recommandations de la Societe francaise d'anesthesie et de reanimation. Elsevier SAS, 30; 185-90
- Ayad A. (2017). Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien. Thèse de Doctorat en biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 139p
- Basilio J.A. 2009. Serratia. eMedicine Specialties. Infectious Diseases. Bacterial Infections. Sur le lien:<http://emedicine.medscape.com/article/228495-overview>
- Battraud M.P. (2017). La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lille 2, France, 27p
- Beaudoux O. (2009). Epidémiologie et caractérisation moléculaire des souches de *Klebssiella oxytoca* isolées en 2006-2007 au CHU de NANTES. Thèse de Doctorat en biologie. Université de NANTES-France, 94p
- Ben Abdellah H., Noomen S., Khelifa A., Ben Elhadj., Sahnoun O., Elargoubi A., Mastouri M.(2008).Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans la région de Monastir. Médecine et maladies infectieuses, 38 : 554-556

Références bibliographiques

- Ben Redjeb S. Boutiba-Ben Boubaker I. Saidani M. (2013). L'Antibio-Résistance en Tunisie. Données 2008-2010. LART, Tunisie. 76p
- Bernier-lachance J. (2015). Prévalence et caractérisation de Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline d'origine aviaire au Québec. Thèse de l'obtention du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.) en Sciences vétérinaires option microbiologie. Université de Montréal, 136p
- Bevilacqua S. (2011). Évaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy : (Essai d'intervention contrôlé). Thèse de Doctorat en biologie. École Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement), France, 139p
- Bibbal D. (2008). Impact des β -lactamines sur l'émergence des entérobactéries résistantes dans la flore digestive chez le porc : caractérisation et stratégie de prévention. Doctorat en pharmacologie. Université toulouseIII- Paul- Sabatien, 151p
- Birembaux J. (2017). Conseils à l'officine: prévention des infections alimentaires chez les populations à risques. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Lille 2-France, 73p
- Bouglé, A., Mira, J.-P., & Duranteau, J. (2014). Réanimation. Médecine Sciences publications, Lavoisier, Paris, 775p
- Bouguenna I. (2016). Adaptation de l'antibiothérapie dans la Pyélonéphrite aigüe Enquête de pratique. Thèse de Doctorat en médecine. Université Paris Diderot-Paris7, 31p
- Bouguenoun W. (2017). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leurs dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma. Thèse de doctorat en biologie moléculaire et cellulaire. Université Badji Mokhtar, Annaba, 176p
- Bouras M. Le Floch R. Asehnoune K. Roquilly A. Conférence d'Actualisation : Le Congrès 2017, Service d'anesthésie réanimation, Hôtel Dieu-HME, CHU de Nantes, Nantes, France. SFAR, Paris. Administration des antibiotiques en réanimation
- Bousquet-Mélou, A., Ferran, A., Toutain, P.-L. (2012). Impact du schéma posologique sur la résistance. Bulletin des G.T.V. (64), 29-36
- Boyer C-T-P. (2013). Lutte contre les bactéries multi résistantes en ville : Etat des lieux et moyens mis en œuvre après une hospitalisation. Thèse de Doctorat en médecine. Université Paris Diderot-Paris7, 90p
- Briand M. (2016). Tuberculose multirésistante : Stratégies thérapeutiques actuelles et place de la bédaquiline (Sirturo®). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Rennes1, France, 146p
- Brugère-Picoux, J., & Rey, M. (2010). Les maladies infectieuses exotiques: Risques d'importation et d'implantation en Europe, 88p
- Calop, J., S. Limat, C. Fernandez, F. Gimenez. (2008). Chapitre 45. Principes d'utilisation des antibiotiques. Dans « Pharmacie clinique et Thérapeutique, 3^{ème} édition ». Editions Masson, Paris. 1336p

Références bibliographiques

- Camille Delarras. (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures. Paris : Lavoisier-Tec & Doc, P238
- Capitain A. (2010). Impact de la diffusion des recommandations de bon usage d'antibiolor sur la prescription d'antibiotiques au centre hospitalier de Neufchateau. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Henri Poincaré, Nancy 1, France, 149p
- Cazes M. (2017). La dispensation des Fluoroquinolones par le pharmacien d'officine. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de toulouseIII-Paul-Sabatien, 115p
- Chaussade H, Sunder S, Bernard L, Coloby P, Guy L, Karsenty G, et al. Les médicaments antibiotiques en urologie. Progrès en Urologie 2013;23:1327-41
- Claude Martin; Jean-Louis Vincent. Sepsis sévère et choc septique. Paris : Springer-Verlag France, 2005.p184
- Cohen Y. Jacquot C. (2008). Pharmacologie. 6^{ème} édition. Elsevier MASSON, Paris. 513p
- Collectif (2008). Résistance des micro-organismes aux antibactériens. In : Le manuel Vétérinaire Merck. 3rd ed française, Edition d'après, 2053-2054
- Comité sur les infections nosocomiales du Québec, Direction des risques biologiques et de la santé au travail, Comité sur les infections nosocomiales du Québec, Savard, P., Moisan, D., Lavallée, C., Brideau, M., Perna, S., Plante, M.-P., et Institut national de santé publique du Québec (2015). Mesures de prévention et de contrôle de la transmission des bacilles Gram négatif multirésistants dans les milieux de soins aigus au Québec (Montréal: Institut national de santé publique du Québec).
- Couderc C. (2015). Impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale par *Staphylococcus aureus*. Thèse de Doctorat en Epidémiologie. Université Pierre et Marie CURIE, France, 121p
- Courvalin P. Leclerc R. (2012).Antibiogramme.3eme eddition, Editions ESKA, P800
- Coustès T. (2016). Loi d'avenir agricole, Règlementation du médicament vétérinaire et lutte contre l'antibiorésistance. Thèse de Doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, France, 99p
- D. Frasca, C. Dahyot-Fizelier, O. Mimos. (2008). La colistine en réanimation. Elsevier Masson SAS, vol :17, p251-258
- Da Silveira Dominique Michel. (2009). L'infection urinaire au service d'anesthésie-réanimation du CHU Gabriel Toure. Thèse de Doctorat en médecine. Université de BAMACO-Mali, 81p
- Dali Ali Abdessamed. (2015). Infections nosocomiales à bactéries multirésistantes en réanimation adulte à l'EHUO : Profil épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques. Thèse de doctorat en médecine.Université d'ORAN-1 Ahmed Benbella, Algérie, 197p
- Delarras, C. (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire: Recherche de bactéries et de levures-moisissures. Paris: Lavoisier-Tec & Doc, 772p

Références bibliographiques

- Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., Cattoir, V., Barbeyrac, B. de, Barraud, O., Bébéar, C., and Fumat, C. (2016). Bactériologie médicale : techniques usuelles. 3ème édition Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux, pp. 291-298
- Desert J. (2017). Prise en charge des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte dans la région dieppoise. Thèse de Doctorat en médecine. Université de Rouen, France, 138p
- Diallo C-D-T. (2010). Typage et prévalence du genre EMM codant pour la protéine M du *streptococcus pyogenes* : Etude BGAS2000 à Bamako-Mali. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako, 88p.
- Dorosz, Ph., Vital Durand, D., Le Jeune, C. (2011). Guide pratique des médicaments. 30ème éd. ;Maloine, Paris, p1892.
- Dutitre-Patrao C. (2016). L'allergie à la pénicilline, attitude pratique et conséquences : Enquête auprès des médecins généralistes de la Somme. Thèse de doctorat en médecine. Université de Picardie Jules Verne, France, 48p.
- Eddayab Y. (2012). Détection des bactéries multirésistantes au laboratoire de bactériologie du CHU de Limoges. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges, France, 118p.
- El bouamri M-C. (2017). Etude épidémiologique des Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi au CHU de Marrakech. Thèse de doctorat en médecine. Université Mohammed V, Rabat, 144p.
- El Fertas R., Messai Y., Alouache S., Bakour R. (2012). Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. PATBIO-3048; No. of Pages 8.
- El ghazouani G. (2010). Les infections à germes multirésistants en réanimation. Thèse de Doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc, 81p.
- Elaïboud N. (2013). Prévalence des souches d'*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* à l'Imipénème, isolées au CHU Ibn sina de Rabat. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Mohammed V, Rabat, 84p
- Ghazali F.N. (2012). Intérêt d'une promotion de la réévaluation antibiotique écrite à J3 : Etude « Avant-Après » menée en Geriatrie. Thèse de doctorat en médecine. Université de Poitiers, France, 93p.
- Goita Adam. (2014). Les bactéries pathogènes d'origine hydrique : de l'épidémiologie à la prévention. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Mohammed V, Rabat, 134p.
- Gordona N.C., Warehama D.W. (2010). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. International Journal of Antimicrobial Agents. 35: 219–22.
- Gouin P. Veber B. 51^e Congrès national d'anesthésie et de réanimation. Médecins. Conférences d'actualisation, (2009), 51^e Congrès national d'anesthésie et de réanimation. Médecins. Conférences d'actualisation, 2009, Service d'anesthésie-réanimation chirurgicale – Samu, CHU de Rouen, 1, rue de Germont, 76031 Rouen cedex, France, Elsevier Masson SAS, 2009. Gestion raisonnée des antibiotiques en réanimation

Références bibliographiques

- Guerin-fauble V, (2010). Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. In : Journées nationales GTV, Lille, p93-101
- H. Rodriguez-Villalobos, M.-J. Struelens . (2006). Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. Elsevier SAS, Paris, 15 (2006) 205–213.
- Hadaddi A-Z-E. (2013). Construction d'un score prédictif du risque nosocomial pour des patients de réanimation . Doctorat en biologie. Ecole doctorale biologie santé de Lille-France, 120p
- Holman A-M. (2016). Etude épidémiologique des Entérobactéries productrices de Carbapénèmase, à la réunion de 2010 à 2015. Thèse de Doctorat en médecine. Université de Bordeaux, France, 62p
- <http://www.biomerieux.fr>
- Institut de veille sanitaire (InVS) et Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) François Bourdillon, Dominique M. Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée et durable. Bilan des données de surveillance, 18 novembre 2014. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire ; 2014. 10 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>
- Irzi A. (2011). Résistance au carbapénèmes : Mécanismes et enjeux. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohamed V, Rabat, Maroc, 146p
- Janin V. (2010). Evaluation de l'antibiothérapie au Centre Hospitalier de Neufchâteau (France) et à la Polyclinique du Sud de Marrakech, Maroc. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Henri Poincaré-Nancy 1, 173p
- Joly B. Reynaud A. (2007). Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Tec et Doc Paris, p:3-182
- Khennouchi N-C-E. (2016). Evaluation de l'antibiorésistance du genre Enterobacter aux antibiotiques. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 137p
- Khennouchi N-C-E. (2016). Evaluation de l'antibiorésistance du genre Enterobacter aux antibiotiques. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar, Annaba, 137p
- Khirat M. Benali KC. Khatraoui H. (2014). Association d'antibiotiques. Institut Pasteur d'Algérie. 34p
- Kouatchet A. Eveillard M .(2012). *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline en réanimation. springer link. Volume 21, Issue 4, pp 493–505
- Lacroute H-M-M. (2014). Résistance aux antibiotiques chez les colibacilles, Agent de colibacilloses chez le veau: Contribution à une étude dans l'Allier entre 2011 et 2013. Thèse de Doctorat vétérinaire . Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, France, 183p
- Langhendries J-P. Kaguelidou F. Jacqz-Aigrain E. (2013). Évaluation des anti-infectieux en néonatalogie : étude de leur relation pharmacocinétique/ pharmacodynamique. La Lettre du Pharmacologue, Vol. 27 - n° 2 – p 41-45

Références bibliographiques

- Legrand, Émilie. « Quand la réanimation échoue : l'expérience des familles », *Sciences sociales et santé*, vol. vol. 28, no. 1, 2010, pp. 43-70
- Liazid A. (2012). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de Magistaire en biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie, 95p
- Liu Y, Cao B, Gu L, Liu K, Feng Z. (2012). Successful control of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* nosocomial outbreak in a teaching hospital in China. *American journal of infection control*, 40(6):568-571
- Mamoutou Siaka Traoré. (2010). Pathologies médicales en réanimation polyvalente : Evaluation du cout de la prise en charge. Thèse de doctorat en médecine. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako, Mali, 64p
- Maoulaininea F.-M.-R. Elidrissia N.-S. Chkila G. Abbaa F. Soraac N. Chabaac L. Amined M. Aboussada A. (2014). Epidémiologie de l'infection nosocomiale bactérienne dans un service de réanimation néonatale marocain. Elsevier masson, Vol 21, Issue 9, Pages 938-943
- Maria S-O. Antony C. Guy P. (2015). *Streptococcus* et VITEK®2 : Un rêve ou une réalité. CHU Vaudois. Suisse. 51p
- Marine, Nicole, Gisèle, BOISSON. (2016). Etude du portage d'Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération, et aux carbapénèmes, chez les carnivores domestiques sains CHUVA. Doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, France, 76p
- Matthew E, Falagasa A, Petros I. Rafailidis A, Dimitrios K. Matthaioua. (2010). Résistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. 1368-7646.
- Mayet T. Mazou J-M. Andrieu M. Haffiane A. Hanisch A. Kalaitzis E. Robert S. Sciaux S. (2015). Guide pratique à l'attention des proches et des patients hospitalisé. Centre hospitalier de DAX-côte d'Argent, France, 11p
- Medboua C. (2001). Caractérisation des phénotypes de résistance aux β -lactamines à large spectre des bacilles à Gram négatif isolés au niveau du laboratoire central mère et enfants du CHU Beni-Messous d'Alger. Mémoire de magister : Microbiologie Appliquée aux Substances Antimicrobiennes .Université Abderrahmane MIRA – Béjaïa, algérie, p 4.32.38
- Merad boudia E. (2014). Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii*. Thèse de Doctorat en biologie. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, 105p
- Mezaache Samia. (2012). Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre.. Thèse de Doctorat en microbiologie. Université Ferhat ABBAS, Sétif, Algérie, 141p
- Milan D. (2003). Guide pratique de prescription antibiotique et antalgique adaptée aux patients à risque, en odontostomatologie. Thèse de doctorat en chirurgie dentaire. Université Henri Poincaré Nancy 1, France, 175p

Références bibliographiques

- Mullie P. (2014). Une innovation vaccinale face au méningocoque de type B : Le BEXSERO®. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de ROUEN, France, 82p
- Munoz G. (2015). La colistine : Dernière ligne thérapeutique contre les bactéries multirésistances. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Claud-Bernard, Lyon, 96p
- Muylaert A. MAINIL J-g. (2013). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur contagiosité. Annales de Médecine Vétérinaire, Belgium, 156, 109-123
- Muylaert A. Mainil J-G. (2014). Quinolones et fluoroquinolones : des décennies de développement et d'utilisation Le point sur les molécules vétérinaires. Annales de Médecine Vétérinaire, Belgium, 158, 73-87
- Ndiongue B-M. (2014). Validation d'une méthode d'étude in vitro des associations d'antibiotiques sur des souches de bacilles à gram négatif. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Cheikh Anta Diop, 103p
- Niare Lamine. (2012). Morbidité et mortalité en réanimation au CHU de KATI. Thèse de doctorat en médecine. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako, Mali, 87p
- Nour, M., Mastouri, M., Ben Nejma, M., (2005). Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: emergence and molecular basis. Pathologie-biologie 53, 334-340.
- O. Bouchaud, S. Blanchy, J. Delmont, F. Gay- Andrieu. (2013). Résistance aux antibiotiques : un problème mondial. Colloque parrainé par la Société de Pathologie Infectieuses de Langue Française (SPILF), France. 13p
- Oberlé K. (2012). Devenir des antibiotiques et des populations d'*Escherichia coli* et d'*Enterococcus spp*, dans les hydrosystèmes de surface. Thèse de Doctorat en biologie. Université de Rouen, France, 138p
- Ouamri M. (2015). Évaluation des endocardites à entérocoques en réanimation au CHU d'Amiens: étude rétrospective incluant 220 patients. Thèse de Doctorat en médecine. Université de Picardie Jules Verne, France, 58p
- Ouhhan Z. (2017). Desescalade antibiotique en réanimation : Indications, Intérêts et Limites . Doctorat en pharmacie. Université Mohamed V, Rabat, Maroc, 147p
- Pajot o. Regnie B. (2007). Échec de l'antibiothérapie en réanimation. Isevier Masson SAS, Vol16-N3-p179_192
- Philippon A. (2008). Résistance bactérienne : définitions, mécanismes, évolution. EMC - Maladies infectieuses, Paris, 1-13 [Article 8-006-N-10]
- Qachaou A. (2011). Enterobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi : Epidémiologie et profil de résistance aux antibiotiques. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Mohamed V, Rabat, Maroc, 54p
- Qassimi L. (2010). Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation (A propos de 147 cas). Thèse de Doctorat en médecine. Université Sidi mohamed Ben Abdellah, Fes, Maroc, 186p

Références bibliographiques

- Rakotoarivony S-T. RIEL A-M . Razafimpanarivo M. Velomora A . Randrianjafisamindrakotroka A . Randriamiarana J-M. (2009). Profil bactériologique des infections urinaires nosocomiales en réanimation chirurgicale de deux CHU à Antananarivo. *Anesthésie-Réanimation et de Médecine d’Urgence*, France, 1(3): 15-17.
- Ramoul A. (2014). Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d’infections respiratoires basses. Thèse de Doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 133p
- Randani Boughazi N, Seghir M, Belouni, et al. Manuel de microbiologie .Office des publications universitaires ; 2011, 277p.
- Regragui S. (2010). Evaluation de la prescription des antibiotiques en médecine de ville à partir d’une officine à Knitra. Thèse de Doctorat en médecine. Université Mohamed V, Rabat, Maroc, 188p
- Reveillon-istin M. (2017). Cystites à risque de complications : Définition, épidémiologie et stratégie thérapeutique en 2017 d’après une cohorte prospective de 568 cystite communautaires. Thèse de doctorat en médecine. Université de Rouen, France, 108p
- Robert David. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l’exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Angers .2013.125p
- Roca I., Espinal P., Vila-Farrés X., Vila J. (2012). The *Acinetobacter baumannii* oxymoron: commensal hospital dweller turned pan-drug-resistant menace. *Frontiers in microbiology*, 23;3:148
- S. Malaquin, Y. Mahjoub, P. Montravers, H. Dupont. (2017). Antibiothérapie probabiliste en réanimation. Elsevier Masson, paris, p13
- Sbiti, M., Lahmadi, khalid, & louzi, L. (2017). Profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi. *The Pan African Medical Journal*, 28, 29. <http://doi.org/10.11604/pamj.2017.28.29.11402>
- Scott G.(2009). Antibiotic resistance. *Medicine(Baltimore)* 37, 551-556.
- Sekhri A-N. (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse de Doctorat en biologie. Université Mentouri de Constantine, 187p
- Shafiqul Islam AHM., 2009. Démonstration de particularités la membrane externe et antigénique : Protéine (s) d'*Acinetobacter baumannii*. Thèse de doctorat. P5
- Sibylle BEVILACQUA. (2011). Évaluation de l’impact d’une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy. (Essai d’intervention contrôlé). Thèse de Doctorat en biologie . École Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement), 139p

Références bibliographiques

- Soroka D. (2016). Rôle du motif SDN dans l'inhibition et l'activité des β -lactamases des mycobactéries. Thèse de doctorat en biochimie. Université Pierre et Marie Curie, 130p
- Sougane Moussa. (2006). Mortalité et morbidité au service de réanimation du CHU de l'hôpital Gabriel Toure de Bamako. Thèse de doctorat en médecine. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako, Mali, 57p
- Souna Djahida. (2017). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. Mémoire de Magistaire en biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie, 104p
- Srinivasan V B., Vaidyanathan V., Mondal A., Rajamohan G. (2012). Role of the Two Component Signal Transduction System CpxAR in Conferring Cefepime and Chloramphenicol Resistance in *Klebsiella pneumoniae* NTUH-K2044, Volume 7, Issue 4, e3377
- Tiry C. (2015). Les bactéries du complexe *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* isolées au CHU d'Angers entre 2010 et 2014 : épidémiologie et intérêt de leur identification au rang d'espèce . Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Poitiers, France, 81p
- Touati M. (2013). Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba. Thèse de Doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar-Annaba-Algérie, 137 P
- Urbach Allan. (2006). Beta-lactames bicycliques pontés (N1-C3) : synthèse et évaluations théorique, chimique et biochimique. Prom. : Marchand-Brynaert, Jacqueline. Université catholique de Louvain, Belgique
- Vasseur M. (2014). Détermination de nouvelles modalités d'utilisation des β -lactamines, en médecine vétérinaire par des approches PK/PD, en vue de la protection de la santé publique : Implication de la taille de la charge bactérienne pathogène. Doctorat en pharmacie. Université Toulouse III- Paul- Sabatien, 237p
- Vincent C. (2008). Les nouvelles bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). France. Pathologie infectieuse en réanimation, 203-209.
- Vodovar D. Marcadé G. Raskine L et al., (2013). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. Médecine interne, 34: 687693.
- Walrave Y. (2016). Causes et caractéristiques des décès en réanimation : Une étude nationale. Thèse de doctorat en médecine. Université De Nice Sophia Antipolis, France, 55p
- Weitz J. (2017). Exploration au laboratoire de la résistance aux carbapénèmes chez *Enterobacter* sp. Thèse de Doctorat en médecine. Université Toulouse III – Paul SABATIER, France, 74p
- Yassine Khayar. (2011). Comportement des Entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'Amoxicilline-Acide clavulanique, l'Imipénème et l'Ertapénème. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Mohhamed V., Rabat, Maroc, 81p

Références bibliographiques

- Youssef Touibi.(2010). Antibiothérapie aux urgences : Etat des lieux Hopital militaire Moulay Ismail de Meknes. Thèse de doctorat en médecine. Université Mohamed V, Rabat, 95p
- Zahar J-R. (2012) Epidémiologie et conséquences des infections nosocomiales en réanimation: Impact et conséquences de la résistance bactérienne en réanimation. Thèse de doctorat en biologie. Université de GRENOBLE –ALPES, 2012, 789p
- Zhang, D., Micek, S. T. & Kollef, M. H. (2015). Time to Appropriate Antibiotic Therapy Is an Independent Determinant of Postinfection ICU and Hospital Lengths of Stay in Patients With Sepsis*: Crit. Care Med. 43, 2133–2140

Matériel non biologique

1-Antibiotiques testés

- **β -lactamines**
 - Amoxicilline (20 µg)
 - Cefotaxime (30 µg)
 - Ceftazidime (30 µg)
 - Ertapénème (10 µg)
 - Imépinème (10 µg)
 - Oxacilline (05 µg)
- **Aminosides**
 - Amikacine (30 µg)
 - Gentamicine (10 µg)
- **Fluoroquinolones**
 - Ciprofloxacine (05 µg)
- **Polymyxines**
 - Colistine (10 µg)
- **Glycopéptide**
 - Vancomycine (30 µg)
- **Ansamycines**
 - Rifampicine (30 µg)
- **Autres antibiotiques non classées**
 - Fosfomycine (50 µg)

2-Milieus

- ChromAgar
- Gélose nutritif (GN)
- Gélose au sang cuit (GSC)
- Gélose au sang cuit (GSF)
- Gélose Héктоen
- Müller-Hinton (MH), MH au sang (Solide)
- Bouillon cœur-cerveau (BHIB)
- Müller-Hinton liquide (MHL)

3-Matériel de laboratoire

- **Automates**
 - VITEK®2, BioMérieux
 - Automate de coloration de Gram RAL Stainer
 - Analyseur microscopique "UriSed mini"
 - Bact/Alert 3D

Annexe n°1

- BD BACTEC FX40

➤ **Petit matériel**

- Désinfectant de surfaces Descosept AF
- anse stérile jetable calibrée à 10 μ l , et 1 μ l
- cellules de comptage Nageotte ou Malassez
- colorant: Bleu de Méthylène
- Lames, lamelles, écouvillons stériles, eau physiologique
- sachets générateurs d'anaérobiose
- Jarre à CO₂
- Galeries et réactifs pour identification biochimique
- Boîtes de Pétri
- Tubes en verre stériles à 25 ml
- Tubes secs stériles à 9 ml
- Embouts stériles
- Micropipettes : 100ul, 1000ul
- Lame Bistouri
- Pince
- pipettes jetable.
- Disques d'antibiotiques
- pied à coulisse.
- Pipettes Pasteur stériles
- Portoirs pour tubes
- Bec électrique
 - **Autre matériel**
- Microscope optique
- Etuve
- Hotte à flux laminaire

Annexe n°1

Composition des milieux de culture

- **BD CHROMagar Orientation Medium**

Formule* par litre d'eau purifiée

Chromopeptone	16,1 g
Mélange chromogène	1,3
Gélose	15,0
pH 6,9 ± 0,2	

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

- **Gélose Nutritive**

Composants	Concentration
Peptone	6,0 g/litre
Extrait de bœuf	1,0 g/litre
Extrait de levure	2,0 g/litre
Chlorure de sodium	5,0 g/litre
Agar	14,0 g/litre
pH final: 7,3 +/-0,2	

- **Bouillon cœur-cerveille (BHIB)**

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Extrait de cœur	5,00
Extrait de cerveau	12,50
Peptone	10,00
Glucose	2,00
Chlorure de sodium	5,00
Phosphate disodique	2,50
pH final à 25°C : 7,4 +/- 0,2	

- **Gélose Héктоen**

(Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu

Annexe n°1

Peptone pepsique de viande	12,0 g
Extrait autolytique de levure	3,0 g
Lactose	12,0 g
Saccharose	12,0 g
Salicine	2,0 g
Sels biliaires	9,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Thiosulfate de sodium	5,0 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
Bleu de bromothymol	65 mg
Fuchsine acide	40 mg
Agar agar bactériologique	13,5 g
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2.	

- **Mueller-Hinton** (en g/l d'eau distillée)*

Le milieu Mueller-Hinton avec ou sans addition de sang de mouton ou de cheval

Peptones	3,0
Hydrolysate de caséine	17,5
Agar	15
Ca ²⁺	20 - 25 mg/L
Mg ²⁺	10 - 12,5 mg/L
pH final	7,4 ± 0,2
Suppléments : + 5% sang de mouton (pour le milieu MHB) ou 5% sang de cheval (pour le milieu MHF)	
β-NAD (pour le milieu MHF)	20 mg/L

β-NAD : Nicotinamide Adenine Dinucléotide * formule adaptée pour assurer les meilleures performances du milieu.

- **Mueller Hinton (Bouillon)**

Composants	Concentration
Hydrolysate acide de caséine	17,5 g/litre
Amidon	1,5 g/litre
Extrait de cœur en pâte	5,0 g/litre
pH final: 7,4 +/-0,2	

Annexe n°1

- **Gélose au sang cuit (Chocolat)**

Peptone	15,0 grammes
extrait de viande	3,0 grammes
extrait de levure	3,0 grammes
lactose	15,0 grammes
désoxycholate de sodium	1,0 gramme
cristal violet	0,005 gramme
bleu de bromothymol	0,080 gramme
thiosulfate de sodium	1,0 gramme
agar-agar	11,0 grammes
pH = 7,4 - 7,5	

- **Gélose au sang frais**

Composition en grammes par litre d'eau distillée

Mélange spécial de peptones	23
Amidon	1
NaCl	5
Agar	10
Sang de mouton	50 mL
pH final = 7,3	

Annexe n°1

HCA-AIN NAADJA

N° Client bioMérieux : 15233 **Rapport du laboratoire** Imprimé 4 mars 2017 17:25 GMT+01:00
Référence du système : VK2C 15233 Impression automatique

Nom du patient : ID du patient :
Groupe d'isolats : 245 f1 f2-1 Paillasse : HEMOCULTURE/LCR

Type de carte : GN Instrument de test : 0000179174BF (HCA ALG)
Type de carte : AST-N233 Instrument de test : 0000179174BF (HCA ALG)

Profil biochimique : 6607715373565212

Commentaires :	

Informations sur l'identification	Carte : GN	N° de lot : 2410126103	Péremption : 1 avr. 2018 12:00 GMT+01:00
	Terminée le : 4 mars 2017 17:16 GMT+01:00	État : Final	Heure de l'analyse : 8,75 heures
Germe sélectionné	90% de probabilité Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae		
	Profil biochimique : 6607715373565212		Fiabilité : Bonne identification
Germe SRF			
Germes identifiés et tests discriminants :			
Commentaire sur l'ident. :			
Tests à l'encontre	Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae BXYL(99), dSOR(99),		

Version de VITEK 2 Systems installée : 07.01 Politique d'interprétation thérapeutique : NATURAL RESISTANCE
Norme d'interprétation des CMi : Global CLSI-based Dernière modification du paramètre AES : 14 août 2017 13:54 GMT+01:00
Nom du jeu de paramètres AES : Global CLSI-based - Natural Resistance

Annexe n°1

HCA AIN NAADJA

N° Client bioMérieux : 15233
Référence du système : VK2C 15233

Rapport du laboratoire

Imprimé 4 mars 2017 17:25 GMT+01:00
Impression automatique

Nom du patient :
Groupe d'isolats : 245 fl f2-1

ID du patient :
Paillasse : HEMOCULTURE/LCR

Type de carte : GN Instrument de test : 0000179174BF (HCA ALG)
Type de carte : AST-N233 Instrument de test : 0000179174BF (HCA ALG)

Profil biochimique : 6607715373565212

Résultats AntibioGramme	Carte : AST-N233	N° de lot : 6330273203	Péréemption : 26 août 2018 12:00 GMT+01:00
	Terminé le : 4 mars 2017 17:31 GMT+01:00	État : Final	Heure de l'analyse : 9,00 heures

Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ampicilline	>= 32	R	Imipénème	<= 0,25	S
Amoxicilline/acide clavulanique	16	I	Amikacine	<= 2	S
Ticarcilline	>= 128	R	Gentamicine	<= 1	S
Pipéracilline/tazobactam	32	I	Tobramycine	<= 1	S
Céfalotine	>= 64	R	Acide nalidixique	16	S
Céfoxitine	<= 4	S	Ciprofloxacine	1	S
Céftaxime	>= 64	R	Ofloxacine	2	S
Ceftazidime	16	R	Nitrofurantoïne	32	S
Ertapénème	<= 0,5	S	Triméthoprim/sulfaméthoxazole	>= 320	R

+= Antibiotique déduit. *= Modification AES **= Modification Utilisateur

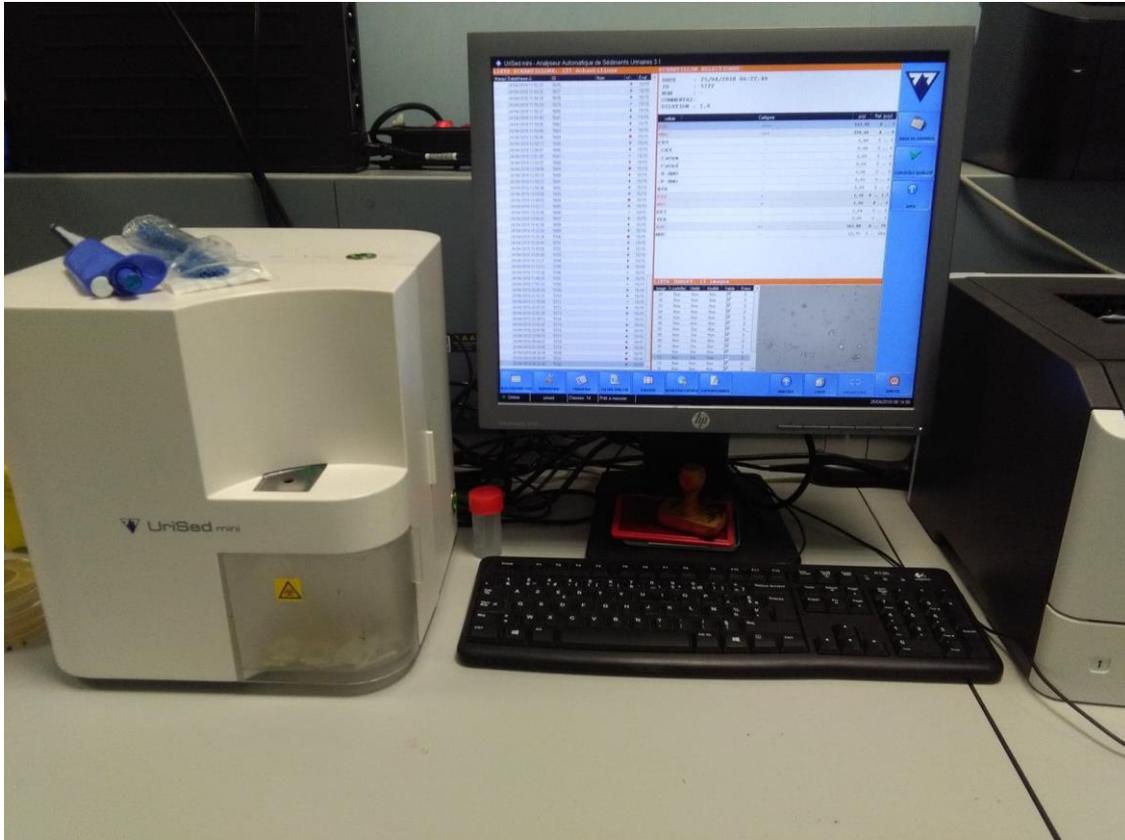
Résultats AES :	Dernière modification : 14 août 2017 13:54 GMT+01:00	Normes/Phénotype : Global CLSI-based+ : Natural Resistance
Niveau de fiabilité :	Concordant	
Phénotypes à vérifier :	BÊTA-LACTAMINES BÊTA-LACTAMASE À SPECTRE ÉTENDU	

Version de VITEK 2 Systems installée : 07.01
Norme d'interprétation des CMI : Global CLSI-based
Nom du jeu de paramètres AES : Global CLSI-based+Natural Resistance

Politique d'interprétation thérapeutique : NATURAL RESISTANCE
Dernière modification du paramètre AES : 14 août 2017 13:54 GMT+01:00

Page 2 / 2

Annexe n°1



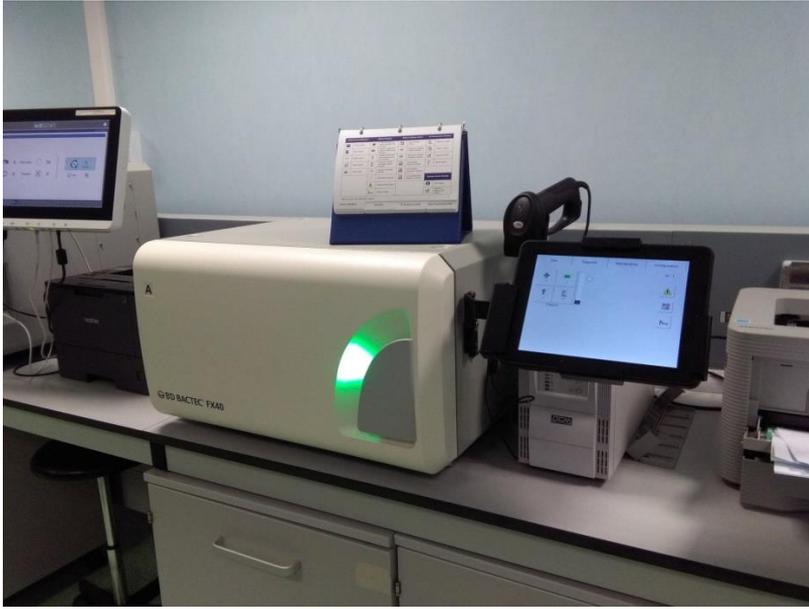
Analyseur microscopique “UriSed mini”

Annexe n°1



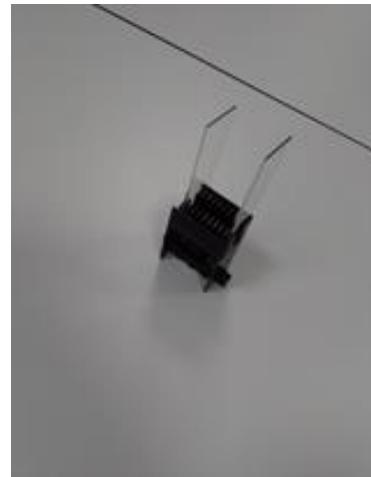
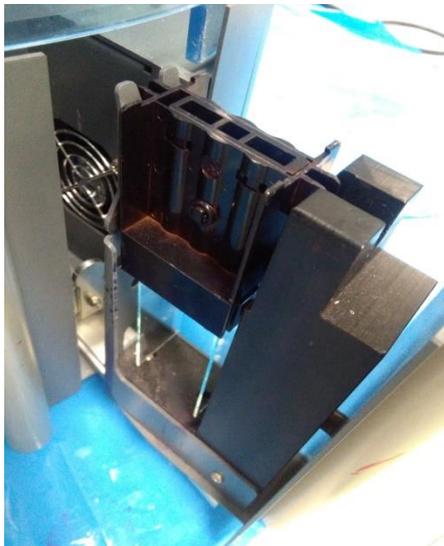
Bact/Alert 3D

Annexe n°1



BD BACTEC FX40

Annexe n°1



Automate de coloration de Gram RAL Stainer

Annexe n°2

Fiche de renseignements

Un minimum de renseignements cliniques concernant le patient doit accompagner les Prélèvements :

- Nom et Prénom
- Age du patient
- Service d'hospitalisation
- Contexte clinico épidémiologique.
- Présomption Diagnostic.
- Traitement antibiotique antérieur ou actuel.
- Recherche spécifique d'une bactérie (*Mycobacterium tuberculosis*).
- Nom du Médecin.

Table de lecture 1 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries

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 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), céftriaxone (1g toutes les 24h)... 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. 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).
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 - 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	
Céfialotine	30µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Céfoxitine	30µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 - 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Céftriaxone	30µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Impénème / Méropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5	
Amikacine	30µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	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 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h, Méropénème : 1g toutes les 8h. La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 - 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16	
Ciprofloxacine	6µg	≤ 16	18 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
	6µg	≤ 20	21 - 30	≥ 31	≥ 1	0.12 - 0.5	≤ 0.06	
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Colistine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Furanes	300µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	
Triméthoprime+Sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 476	---	≤ 2/38	

Valable pour entérobactéries autres que *Salmonella* Typhi et *Salmonella* spp. extra-intestinales.
Valable pour *S. Typhi* et *Salmonella* spp. extra-intestinales.
Ne pas tester en routine sauf pour les salmonelles.
Ne tester à l'antibiogramme que pour un but diagnostique. (résistance si culture au contact du disque ou présence d'une coccarde).

Indiqué uniquement pour les souches d'*E. coli* isolées d'infections urinaires. Le disque de 200µg contient 50µg de glucose-6-phosphate. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose 6-phosphate.

Table de lecture 2* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)				CMI critiques ($\mu\text{g/ml}$)				Commentaires
		R	I	S	R	R	I	S		
Ticaraciline	75 μg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128	32 - 64	≤ 16	Les valeurs critiques pour la piperaciline et la ticaraciline (avec ou sans ac clavulanique), sont basées sur une posologie d'au moins 3g toutes les 6 heures.		
Ticaraciline + ac. clavulanique	75/10 μg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	$\geq 128/2$	32/2 - 64/2	$\leq 16/2$	Détecter une BLSE en plaçant le disque de TOC 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.		
Ceftazidime	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	En cas de diamètre R ou I, faire une détection de carbapénèmes (voir recherches complémentaires).		
Imipénème	10 μg	≤ 15	16 - 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2	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	5 μg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1			
Lévofloxacine	5 μg	≤ 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 $\leq 128 \text{ mg/L}$ (ECOFF) (Epidemiological cut-off value) pourraient être traitées avec de la fosfomycine.		
Colistine	10 μg	≤ 10	---	≥ 11	≥ 8	4	≤ 2			

Table de lecture 3 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter* spp.

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'impénème sont basés sur la posologie de 500 mg toutes les 6h.
Ticarilline + ac clavulanique	75/10 µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128/2	32/2-64/2	≤ 16/2	
Piperacilline	100 µg	≤ 17	18 - 20	≥ 21	≥ 128	32-64	≤ 16	
Céfazidime	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	5 µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Doxycycline	30 µg	≤ 9	10 - 12	≥ 13	≥ 16	8	≤ 4	Si résistance à doxycycline, réponse variable pour tétracycline.
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	La colistine est testée pour usage thérapeutique. Il faut déterminer la CMI.
Colistine	CMI	---	---	---	≥ 4	---	≤ 2	

Table de lecture 4* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		CMI critiques (µg/ml)		Commentaires	
		R	S	R	S		
Pénicilline	10 UI	≤ 28	≥ 29	≥ 0,25	—	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, piperacilline...).	
Oxacilline (<i>S. aureus</i> et <i>S. lugdunensis</i>)	—	—	—	≥ 4	—	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	—	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	—	Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S. aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.	
Céfoxitine (S.C.N. sauf <i>S. lugdunensis</i>)	30 µg	≤ 24	≥ 25	—	—	—	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 16	8	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la clindamycine.	
Kanamycine	30 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 64	32	La détermination de la résistance à l'amikacine est mieux détectée avec la kanamycine.**	
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 64	32	—	
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14 – 22	≥ 8	1-4	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	1-2	—	
Vancomycine (<i>S. aureus</i>)	—	—	—	≥ 16	4-8	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	—	
Teicoplanine	30 µg	≤ 10	11 – 13	≥ 14	16	—	
Cloxacine	5 µg	< 14	15 – 17	> 18	> 4	2	—
Ciprofloxacine	5 µg	< 15	16 – 20	> 21	> 4	2	—
Lévofloxacine	5 µg	< 15	16 – 20	> 21	> 4	2	—
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	< 10	11 – 15	> 18	> 4/78	—	< 0,38
Rifampicine	5 µg	< 16	17 – 19	> 20	> 4	2	< 1
Tétracycline	30 µg	< 14	15 – 18	> 19	> 16	8	< 4
Chloramphénicol	30 µg	< 12	13 – 17	> 18	> 32	16	< 8
Quinuprisine-dalpropristine	15 µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4	2	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
Fostomycine IV**	—	—	—	—	> 32	—	≤ 32

* Tableau extrait du Document M100 – S24, Vol. 34, n°1, 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement.

** Extraits des recommandations 2014 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Table de lecture 5* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤16	—	≥17	≥16	—	≤8	Interprétation valable pour amoxicilline. Les résultats des tests de sensibilité à l'ampicilline doivent être utilisés pour ordonner l'activité de l'amoxicilline.
Tétracycline	30µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4	Interprétation valable pour la doxycycline.
Vancomycine	30µg	≤14	15-16	≥17	≥32	8-16	≤4	Rechercher la sensibilité diminuée aux glycopeptides (voir « Tests complémentaires »). Confirmer par la CMI de vancomycine et de teicoplanine en cas de réponse R ou I ou de screening test positif. Pour les souches dont la CMI est entre 8 et 16µg/ml, il faut confirmer l'identification biochimique.
Teicoplanine	30µg	≤10	11-13	≥14	≥32	16	≤8	
Gentamicine Haut niveau	120µg	≤6	7-9	≥10	>500	—	≤500	CMI en milieu solide (BHI agar).
Streptomycine Haut niveau	300µg	≤6	7-9	≥10	>1000	—	≤500	CMI en milieu liquide (BHI bouillon).
					>2000	—	≤1000	CMI en milieu solide (BHI agar).
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16-20	≥21	≥4	2	≤1	
Lévofloxacine	5µg	≤13	14-16	≥17	≥8	—	≤2	
Erythromycine	15µg	≤13	14-22	≥23	≥8	1-4	≤0,5	
Furanes	300µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Rifampicine	5µg	≤16	17-19	≥20	≥4	2	≤1	
Fosfomycine	200µg	≤12	13-15	≥16	≥256	128	≤64	Recommandé pour les souches d' <i>E. faecalis</i> isolées du tractus urinaire.
Quinuoprastine-dalloprastine	15µg	≤15	16-18	≥19	≥4	2	≤1	A reporter pour les souches d' <i>E. faecium</i> vancomycine résistant.
Chloramphénicol	30µg	≤12	13-17	≥18	≥32	16	≤8	Interprétation valable pour la pristinamycine.
Tigécycline**	15µg	15	—	18	0,5	—	0,25	Interprétation valable pour théramphénicol. Réponse en cas de multirésistance. Des CMI supérieures à la concentration critique de sensibilité sont très rares. L'identification et le test de sensibilité devront être répétés. En cas de confirmation, la souche devra être envoyée à un centre de référence et catégorisée «résistant».

* Tableau extrait du Document M100 – S24, Vol. 34, n°1, 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement.

** Extraits des recommandations 2014 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Tableau 6: Technique d'antibiogramme (diffusion de disques antibiotiques).

Microorganismes	Milieu	Inoculum	Conditions d'incubation
Entérobactéries <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Vibrio</i> spp., <i>Aeromonas</i> spp., <i>Plesiomonas</i> spp. Autres bactéries non exigentes	Gélose Mueller-Hinton	0,5 MF en eau physiologique	18 heures (à prolonger pour OXA et VAN/TEC) 35°C Atmosphère ordinaire
<i>Streptococcus</i> spp.	Gélose Mueller-Hinton + 5% sang de mouton	0,5 MF en eau physiologique	20-24 heures 35°C 5% CO2
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Gélose GC+ 1% supplément*	0,5 MF en tampon Phosphate pH 7,2	20-24 heures 35°C 5% CO2
<i>Neisseria meningitidis</i>	Gélose Mueller-Hinton + 5% sang de mouton	0,5 MF en tampon PBS ou eau physiologique	18-24 heures 35°C 5% CO2 Atmosphère humidifiée
<i>Haemophilus</i> spp.	Gélose Haemophilus Test Medium*	0,5 MF en eau physiologique	16 – 18 heures 35°C 5% CO2

* : voir composition en annexe

Annexe n°3

Tableau n°7 : Utilisation des disques d'antibiotiques pour la préparation des solutions et des concentrations à réaliser

Fiche technique 7. ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES

Antibiotique	Charge du disque (µg)	Nb de disques dans 2 ml de bouillon M-H	Concentration à réaliser (mg/L)
Ac. fusidique	10		
Ac. nalidixique	30	2	10
Amikacine	30	1	5
		1	15
Ampicilline	10		
Amoxicilline + Ac.clavulanique	20	1	7,5
	10	1/4	5
	10	1/2	1,25
Aslocilline	75		6,25
Mezlocilline	75	1/2	
Ac.étréronam	30	2	18,75
Ceftazidime	30	1/2	75
Céfalotine	30	2	7,5
Céfazoline	30	1	30
		1/3	15
Céfopérazone	30		5
Céfotaxime	30	1	15
Ceftriaxone	30	1/4	3,25
Cefuroxime	30	1/4	3,25
Céfamandole	30	2	30
Céfotiam		1	15
Chloramphénicol	30	1/2	7,5
Cindamycine	15	1/3	2,5
Colamycine	50	1/4	6,25
Erythromycine			
Spiramycine	100	1/4	12,5
Fosfomycine	50	1/2	12,5
Gentamicine	15	2,3	5
			Entérobactéries <i>P. aeruginosa</i> , Streptocoques
Imonicine		Solution	0,5
Imipénème	10	1/2	2,5
Kanamycine	30	1	15
Latamoxel	30	1/4	3,25
Nétilmicine	30	1/3	5
			Entérobactéries <i>P. aeruginosa</i> , Streptocoques
		Solution	0,5
			Streptocoques
Norfloxacine	10	1/2	2,5
Nitroimidazole	30	2	10
Oxacilline, Mécilline	5	2	5
Pipoxacine, Ciprofloxacine	5	1	2,5
Penicilline G	6	1/2	1,5

753

Fiche technique 7. ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES

Tableau 1. Utilisation des disques d'antibiotiques pour la préparation des solutions et des concentrations à réaliser* (suite).

Antibiotique	Charge du disque (µg)	Nb de disques dans 2 ml de bouillon M-H	Concentration à réaliser (mg/L)
Pipéracilline	100	1/4	12,5
		2	100
Pristinamycine, Virginiamycine	15	1/3	2,5
Rifampicine	30	1/3	5
		Solution	0,5
			Streptocoques
Streptomycine	10	3	15
Sulfamides	200	4	400
Tétracycline, Minocycline	30	1/4	3,2
Ticarcline	75	1/2	18,7
Ticarcline + Ac.clavulaninique	75	3	112
Tobramycine	10	1	5
			Entérobactéries <i>P. aeruginosa</i> , Streptocoques
		Solution	0,5
			Streptocoques
Triméthoprime	5	1	2,5
Vancomycine	30	1/2	7,5

* L'usage des disques est acceptable en pratique. La préparation de solutions filtrées s'impose lorsque la concentration à réaliser est faible et implique un trop important fractionnement du disque.

Annexe n°3
