

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



Université Saad Dahleb Blida
Faculté de médecine
Département de pharmacie



*Thèse de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de
Docteur en Pharmacie*

Rédigée par :

ANIBA Yousra
ANIBA Leila

Encadrée par :

Dr S.AZROU

Session juin 2021

Membres du Jury :

Dr. BEROUAKEN.S: Maître assistante en microbiologie USDB -Présidente

Dr. BENAMARA.M: Maître assistante en microbiologie USDB -Examinatrice

Dr. AZROU.S: Maître assistante en microbiologie USDB -Promotrice

Année Universitaire 2020-2021

Remerciements

*A Dieu le tout puissant
Qui nous a toujours soutenues et fortifiées dans notre
parcours scolaire, à lui soit la gloire.*

*Nous tenons à remercier très sincèrement notre
encadreur : Mme le Docteur AZROU Siham
Maître assistante en Microbiologie à la faculté de
médecine de l'université Saad Dahlab de Blida pour
son encadrement, son aide, ses précieux conseils avisés
dans ce travail, recevez Madame notre reconnaissance
et notre gratitude inconditionnelle.*

*Nous remercions l'ensemble des membres du jury, Pour
avoir aimablement accepté de faire partie de notre jury
de thèse, qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir
examiner avec attention notre travail.*



Dédicace



A notre cher père :

Notre grand regret est que vous soyez parti très tôt avant d'avoir assisté aux fruits de vos efforts investies en nous.

Aucune dédicace ne saurait exprimer nos sentiments, que dieu vous accueille dans son paradis spacieux.

A notre chère mère :

Tu nous as donné la vie, le soutien, l'amour, l'affection et le courage pour réussir. A cette mère forte qui nous a protégé de toutes ses forces et qui nous aime de tout son cœur. Merci pour tes prières et tout tes sacrifices, que dieu te préserve et te procure santé, bonheur et longue vie.

A nos chers frères et chères sœurs :

*Qui nous ont supporté dans les moments difficiles,
Merci énormément pour votre soutien, que dieu vous garde.*

A tous nos ami(e)s

A tous ceux que nous aimons et ceux qui nous aiment



Résumé

Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) sont les infections nosocomiales les plus fréquentes et les plus graves en réanimation. Elles représentent environ 15 % des infections nosocomiales.

Le diagnostic bactériologique est basé en routine sur les cultures quantitatives et qualitatives des prélèvements respiratoires distaux protégés (PDP).

Dans le but d'étudier les étiologies bactériennes des PAVM ainsi que le profil de résistance des germes isolés, on a réalisé une étude rétrospective sur 03 ans allant 01/01/2018 au 31/12/2020 au niveau de l'unité de microbiologie du CHU Blida qui a porté sur 113 patients qui ont été hospitalisés dans l'unité de réanimation polyvalente subissant une ventilation mécanique sur sonde endotrachéale ou canule de trachéotomie et ont bénéficiés de 184 PDP dans le cadre du diagnostic d'une PAVM.

Notre population d'étude est principalement masculine avec une sex-ratio H/F de **2,89** (84/29). L'âge moyen des patients est de 48 ans avec des extrêmes d'âge allant de 16 mois à 87 ans. La tranche d'âge des plus de 60 ans est prédominante.

La PAVM est confirmée bactériologiquement dans **75,56%**(82/113) des cas. Sur les 184 PDP analysés : **64,67%** (119/184) sont revenue positifs, **30,98 %** (57/184) négatifs, et **4.35%** (8/184) contaminés.

On note une nette prédominance des cultures mono microbiennes **54,6%**(65/119) contre **37%** (44/119) de cultures bi microbiennes.

183 bactéries ont été isolées, les bacilles à gram négatif prédominent avec en tête ***Acinetobacter baumannii* 39, 51%** (44/183) suivi par ***Klebsiella pneumoniae* 18,58%** (34/183) et ***Pseudomonas aeruginosa* 15,85%** (29/183), ***Haemophilus influenzae* 8,74%** (16/183). Les Cocci à gram positives sont dominés par ***Staphylococcus aureus* à 11,48%** (21/183).

On note une multirésistance chez les souches d'***Acinetobacter baumannii***. La résistance à la céftazidime est égale à **90,48%** (38/42), à l'imipénème est égale à **97,06%** (33/34) La résistance aux fluoroquinolones (lévofloxacine et ciprofloxacine) est égale à **92,68%** (**38/41**) et **94,12%** (**32/34**) respectivement.

Le diagnostic des PAVM nécessite une confirmation microbiologique pour la prescription d'un traitement adéquat. Les mesures préventives sont toujours requises à la diminution de la fréquence de ces infections.

Mot clés : Pneumopathies, ventilation mécanique, réanimation, bactéries multi résistantes, *Acinetobacter baumannii*.

ABSTRACT

Pneumopathies acquired under mechanical ventilation (PAVM) are the most common and serious nosocomial infections in resuscitation. They represent about 15% of nosocomial infections.

The bacteriological diagnosis is based routinely on quantitative and qualitative cultures of protected distal respiratory samples (PDP).

In order to study the bacterial etiologies of VAP and the resistance profile of isolated germs, A retrospective study was carried out over 03 years ranging from 01/01/2018 to 31/12/2020 at the level of the microbiology unit of the CHU Blida which involved 113 patients who were hospitalized in the multipurpose resuscitation unit undergoing mechanical ventilation on probe endotracheal or tracheotomy cannula and received 184 PDPs as part of the diagnosis of VAP.

Our study population is predominantly male with an H/F sex ratio of **2.89** (84/29). The average age of patients is 48 years with age extremes ranging from 16 months to 87 years. The age range over 60 is predominant.

VAP is confirmed bacteriologically in **75.56%** (82/113) of cases.

Of the 184 PDPs analyzed: **64.67%** (119/184) returned positive, **30.98%** (57/184) negative, and **4.35%** (8/184) contaminated.

There is a clear predominance of mono-microbial cultures **54.6 %**(65/119), **37%** (44/119) of bi-microbial cultures.

183 bacteria have been isolated, gram-negative bacilli predominant with *Acinetobacter baumannii* **39.51%** (44/183) followed by *Klebsiella pneumonia* **18,58%** (34/183) and *Pseudomonas aeruginosa* **15,58%** (29/183), *Haemophilus influenzae* **8,74%** (16/183). Gram-positive cocci are dominated by *staphylococcus aureus* at **11,48%** (21/183).

There is multiresistance in *Acinetobacter baumannii* strains. Resistance to ceftazidim is **90.48%** (38/42), imipenem is **97.06%** (33/34). Resistance to fluoroquinolones (levofloxacin and ciprofloxacin) is **92.68%** (38/41) and **94.12%** (32/34) respectively.

The diagnosis of VAP requires microbiological confirmation for the prescription of adequate treatment. Preventive measures are always required to reduce the frequency of these infections.

Keywords: Pneumopathies, mechanical ventilation, resuscitation, multi-resistant bacteria, *Acinetobacter baumannii*.

ملخص

التهاب الرئة المكتسب نتيجة التنفس الاصطناعي هو من بين الامراض المكتسبة في المستشفى الاخطر والأكثر انتشارا .
تمثل حوالي 15 في المائة من هذه الامراض .

يستند التشخيص البكتيريولوجي على الزراعة الكمية والنوعية لعينات من الافرازات الرئوية المحمية من التلوث.

بهدف دراسة عوامل الخطر الاساسية والبكتيريا المسببة لهذه الامراض وطرق مقاومتها للمضادات الحيوية . قمنا باجراء دراسة على مدى 03 سنوات تمتد من 2018/01/01 الى غاية 2020/12/31 و التي اجريت على مستوى وحدة الانعاش للمستشفى الجامعي بالبلدية .وشملت دراستنا 113 مريض من مرضى مصلحة الإنعاش الخاضعين للتنفس الاصطناعي حيث كان مجموع العينات المسحوبة 184 عينة بغية التشخيص.

في دراستنا غلبت فئة الذكور حيث بلغت نسبتهم بين الجنسين **2.89** (29/84). ويبلغ متوسط أعمار المرضى 48 سنة حيث تتراوح الأعمار القصوى بين 16 شهراً و87 عاماً. أما الفئة العمرية التي تزيد على 60 سنة فهي الغالبة.

نسبة المرضى الذين تم تأكيد اصابتهم كانت **75.56%** (113/82) .بحيث **64.67%** (184/119) من التحاليل كانت ايجابية ، و**30.98%** (184/57) سلبية ، و**4.35%** (184/8) ملوثة. حيث كانت هناك هيمنة واضحة للإصابات احادية الميكروبات **54.6%** (119/65) ، **37%** (119/44) ثنائية الميكروبات و**8.4%** (119/10) ثلاثية الميكروبات .

تم عزل 183 بكتيريا حيث غلبت البكتيريا سالبة الغرام على رأسها اسينيتوبكتار بوماني **39.51%** (183/44) تليها الكلابسيلا بنومونيا **18.58%** (183/34) . بسودوموناس ايغوجينوزا **15.85%** (183/29) و ايموفيليس انفلونزا **8.74%** (183/16) . و اغلبيية الكريات ايجابية الغرام كانت من فصيلة ستافيلوكوكيس اوغيبس **11.48%** (183/21) . اما ايشيريشيا كولي و ستربتوكوكيس بنومونيا نادرا ما تم عزلهم.

نلاحظ تعدد مقاومة سلالات اسينيتوبكتار بوماني حيث بلغت مقاومة سيفتازيديم **90.48%** (42/38) ، و الايميبينام **97.06%** (34/33) ، فليوروكينولون (ليفلوكزاسين ، سبيروفلوكزاسين) **92.68%** (41/38) و **94.12%** (34/32) على التوالي .

يتطلب التشخيص التاكيد الميكروبيولوجي من اجل وصف العلاج المناسب ويلزم دائما اتخاذ تدابير وقائية للحد من تواتر الإصابة بهذه الأمراض.

كلمات البحث: الالتهاب الرئوي . التنفس الاصطناعي . الانعاش . بكتيريا متعددة المقاومة . اسينيتوبكتار بوماني .

Table des matières

Liste des tableaux.....	X
Liste des figures.....	XII
Liste des abréviations.....	XIII
INTRODUCTION	
Partie théorique	
CHAPITRE I : Généralités sur l'appareil respiratoire.	
I.1. Anatomie de l'appareil respiratoire	3
I.2. Colonisation de l'appareil respiratoire.....	4
I.3. Moyens de défense.....	4
I.4. Infections respiratoires basses.....	5
I.5. Définition de la ventilation mécanique.....	6
CHAPITRE II : Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique.	
II.1. Définition de la pneumopathie acquise sous ventilation mécanique.....	8
II.2. Classification.....	8
II.3. Physiopathologie.....	9
II.3.1. Voies de contamination.....	9
II.3.1.1. Voie endogène.....	9
II.3.1.2. Voie exogène.....	9
II.3.2. Colonisation oropharyngée et gastrique.....	9
II.3.3. Inhalation.....	10
II.4. Epidémiologie.....	11
II.4.1. Facteurs de risque.....	11
II.4.2.1. Facteurs de risque intrinsèque.....	11
II.4.2.2. Facteurs de risque extrinsèque.....	12
II.4.2. Incidence et prévalence.....	13
II.4.3. Épidémiologie microbienne.....	13
CHAPITRE III : Principales étiologies bactériennes des PAVM et leurs résistances aux antibiotiques.	
III.1. Bactéries à Gram négatif.....	16
III.1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
III.1.2. <i>Acinetobacter baumannii</i>	17
III.1.3. Entérobactéries	19
III.1.4. <i>Haemophilus influenzae</i>	22
III.2. Bactéries à Gram positif.....	23
III.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	23
III.2.2. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	24
III.2.3. <i>Corynebacterium striatum</i>	25
CHAPITRE IV : Diagnostic microbiologique des PAVM.	
IV.1. Prélèvements.....	28
IV.1.1. Lavage broncho alvéolaire.....	28
IV.1.2. Mini-LBA.....	29
IV.1.3. Brossage télescopique protégé	29
IV.1.4. Prélèvement distal protégé	29
IV.1.5. Aspiration endotrachéale	30
IV.2. Transport et conservation	30
IV.3. Examen macroscopique.....	30
IV.4. Examen microscopique	31
IV.5. Mise en culture.....	31

IV.6. Interprétation.....	32
IV.7. Identification	33
IV.8. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	33
IV.8.1. Antibiogramme standard.....	33
IV.8.2. Détermination de la CMI	34
IV.8.3. Tests complémentaires	34
IV.8.3.1. Recherche des BLSE chez les entérobactéries, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter</i> spp	34
IV.8.3.2. Recherche de la production de carbapénèmases.....	35
IV.8.3.3. Recherche de la résistance du <i>Staphylococcus aureus</i> à l'oxacilline.....	35
IV.8.3.4. Recherche de <i>Staphylococcus</i> spp. de sensibilité diminuée aux glycopeptides.....	35
IV.9. Biologie moléculaire	36
CHAPITRE V : Traitement et prévention des PAVM.	
V.1. Traitement	39
V.1.1. Traitement probabiliste	39
V.1.2. Traitement adapté	40
V.2. Prévention	41
V.2.1. Mesures universelles et standards.....	41
V.2.2 Mesures spécifiques.....	41
V.2.2.1. Réduction de la durée de la VM.....	41
V.2.2.2. Prévention de la colonisation de la sonde.....	41
V.2.2.3. Réduction des micro-inhalations.....	42
V.2.2.4. Limitation de la colonisation	42
Etude pratique	
I. Problématique	45
II. Objectifs de l'étude	46
III. Présentation de l'étude	46
III.1. Type et durée de l'étude	46
III.2. Population de l'étude	46
III.3. Critères d'inclusion	46
III.4. Critères d'exclusion	46
IV. Matériels et méthodes	46
IV.1. Matériel : Fiche de renseignements	46
IV.2. Méthodes : Etude des dossiers médicaux	48
V. Résultats	49
V.1. Caractères de la population.....	49
V.1.1. Répartition des cas de PAVM selon le sexe	49
V.1.2. Répartition des cas de PAVM par tranche d'âge	49
V.1.3. Répartition des cas de PAVM en fonction du motif d'hospitalisation.....	50
V.1.4. Répartition des cas de PAVM en fonction du terrain	51
V.1.5. Infections associées.....	51
V.1.6. Devenir des patients.....	52

V.2.Résultats de l'étude bactériologique.....	53
V.2.1. Résultats de la culture bactérienne	53
V.2.2. Nombre de cas de PAVM confirmés par la culture bactérienne	54
V.2.3. Répartition des cas selon le délai d'apparition de PAVM(précoces/tardives).....	54
V.2.4. Etiologies bactériennes des PAVM	55
V.2.5.Répartition des étiologies bactériennes selon le délai d'apparition de PAVM.....	56
V.2.5.1. PAVM précoces	56
V.2.5.2 PAVM tardives	57
V.2.6. Profils de résistances aux antibiotiques des principales étiologies bactériennes isolées	58
V.2.6.1. <i>Acinetobacter baumannii</i>	58
V.2.6.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	59
V.2.6.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60
V.2.6.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	61
VI. Discussion.....	62
CONCLUSION	
Références bibliographiques.	
Listes des annexes.....	XXXI
ANNEXE.....	XXXII
Résumé	
Abstract	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Prévalence des PAVM et fréquence des bactéries selon les études.....	14
Tableau 2 : La résistance naturelle aux antibiotiques chez les entérobactéries.....	20
Tableau 3 : Caractéristiques des techniques de prélèvements microbiologiques.....	30
Tableau 4 : Dilutions proposées pour la mise en culture et seuil de significativité selon le type de prélèvement.....	33
Tableau 5 : Répartition des cas de PAVM en fonction du motif d'hospitalisation au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	50
Tableau 6 : Répartition des cas selon le délai d'apparition de la PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) au CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	54
Tableau 7 : Répartition des étiologies bactériennes des PAVM chez les malades sous ventilation mécanique au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	55
Tableau 8 : Répartition des étiologies dans les PAVM précoces chez les malades sous ventilation mécanique au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	56
Tableau 9 : Répartition des étiologies dans les PAVM tardives chez les malades sous ventilation mécanique au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	57
Tableau 10 : Profil de résistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> isolé chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	58
Tableau 11 : <i>Acinetobacter baumannii</i> multirésistante chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/20).....	58
Tableau 12 : Profil de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	59
Tableau 13 : <i>Klebsiella pneumoniae</i> multirésistante chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/20).....	59
Tableau 14 : Profil de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolés chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	60
Tableau 15 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirésistant chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/20).....	60

Tableau 16 : Profil de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> isolés chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	61
Tableau 17 : Comparaison des fréquences des étiologies bactériennes des PAVM.....	64

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie de l'appareil respiratoire.....	3
Figure 2 : Les mécanismes de défense de l'épithélium respiratoire.....	5
Figure 3 : Etapes de l'infection dans le cas de PAVM (originale).....	10
Figure 4 : Intubation endotrachéale, principales voies d'acquisition des microorganismes.....	12
Figure 5 : Technique de brossage télescopique protégé.....	29
Figure 6 : Représentation des étapes de l'étude bactériologique des différents Prélèvements des sécrétions bronchiques	32
Figure 7 : Schéma générale de démarche de diagnostic des PAVM (original).....	37
Figure 8 : Répartition des cas de PAVM selon le sexe au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	49
Figure 9 : Répartition des cas des PAVM par tranche d'âge dans l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	49
Figure 10 : Répartition des patients selon le terrain.....	51
Figure 11 : Répartition des patients selon les infections associées.....	51
Figure 12 : Devenir des patients atteints de PAVM à l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/20).....	52
Figure 13 : Répartition des résultats de culture des PDP réalisés chez les patients sous ventilation mécanique à l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	53
Figure 14 : Répartition des résultats des cultures positives des PDP chez les patients sous ventilation mécanique à l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).....	53
Figure 15 : Nombre de cas de PAVM confirmées par la culture bactérienne des PDP chez les patients sous ventilation mécanique à l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/20).....	54

Liste des abréviations

AARN: Algerian Antimicrobial Resistance Network.
ABMR : *Acinetobacter baumannii* multirésistant.
AET: aspiration endotrachéale.
ATB : antibiotiques.
ATS: American Thoracic Society.
AVC : Accident vasculaire cérébral.
BGN : bacilles à Gram négatif.
BLSE : bêtalactamases à spectre élargie.
BMR : Une bactérie multirésistante.
BPCO : Broncho-pneumopathie chronique obstructive.
BTP : brossage télescopique protégé.
°C : degré de celsius.
CAZ : céftazidime.
CDC : Centre de contrôle des maladies.
CGP : cocci à Gram positif.
CHN : les céphalosporinases hyperproduites.
CHX : Chlorhexidine.
CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.
C1G : Céphalosporines de 1^{ère} génération.
C2G : Céphalosporines de 2^{ème} génération.
C3G: Céphalosporines de 3^{ème} génération.
C4G: Céphalosporines de 4^{ème} génération.
DDS : Décontamination digestive sélective.
EBLSE : Les entérobactéries productrices de bêtalactamase à spectre élargi.
EBCASE: Entérobactéries résistantes aux β -lactamines par hyperproduction de céphalosporinases
ECBT : l'examen cytobactériologique trachéal.
EPC : Les Entérobactérie productrice de carbapénèmase.
ERG : Enterocoques résistants aux glycopeptides.
ERV : Entérocoques résistants à la vancomycine.
GISA/VISA : *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides/
vancomycine.
H : Heure.
HTA: hypertension artérielle.
IDSA: Infectious Diseases Society of America.
IMP: imipénème.
IN : Les infections nosocomiales.
KPC : *Klebsiella Pneumoniae* Carbapénémase.
LPS : lipopolysaccharides.
LBA: lavage broncho alvéolaire.
MGG: May-Grunwald-Giemsa.
MH : Mueller Hinton.

μL : microlitre.
mL : millilitre.
Mm : millimètre.
OAP : oedème aigue pulmonaire.
OMS : organisation mondiale de santé.
OprD : opéron D.
PAMR : *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant.
PAVM : les pneumonies acquises sous ventilations mécaniques.
PCR: Polymerase Chain Reaction.
PDP : prélèvement distal protégé.
PH : potentiel d'hydrogène.
PLP : Protéine de liaison à la pénicilline.
PRNA : Polyradiculonévrite aigue.
SAMS : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline.
SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.
UFC : Unité formant colonie.
UMC : **urgences** médicales chirurgicales
VI : Ventilation invasive.
VNI : Ventilation non invasive.
VM : Ventilation mécanique.

Introduction

Les infections nosocomiales (IN) représentent un problème de santé publique particulièrement dans les services de réanimation et de soins intensifs.

Dans ces services à risque, les pneumonies acquises sous ventilations mécaniques (PAVM) représentent les complications infectieuses nosocomiales les plus fréquentes (30 à 50 %) [1].

La PAVM est une pneumopathie survenant après au moins 48 heures de ventilation mécanique (VM) [2]. Ces infections résultent de la colonisation et de la pénétration de microorganismes dans les voies aériennes inférieures favorisées par la présence de la sonde endotrachéale [3]. Elle est associée à une augmentation de la durée de ventilation mécanique, de l'hospitalisation et de la mortalité [4].

L'étiologie bactérienne de ces infections est variable. Elle dépend du caractère précoce ou tardif de la PAVM et des facteurs de risque particulièrement la durée d'hospitalisation, la durée préalable de ventilation mécanique et également l'antibiothérapie antérieure. Il s'agit majoritairement de bacilles à Gram négatif (BGN), exceptionnellement des cocci à Gram positif (CGP). Toutefois, la prédominance des bactéries multirésistantes est ubiquitaire [5].

Le diagnostic se base sur des critères cliniques, biologiques, radiologiques et bactériologiques. La confirmation bactériologique est indispensable, en raison de la nécessité de l'identification du microorganisme et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (ATB) nécessaire à l'adaptation du traitement [6] [7].

La thérapeutique anti-infectieuse des PAVM doit d'être optimale, nécessitant une collaboration étroite entre le réanimateur et le microbiologiste [6].



**Partie
théorique**

CHAPITRE I :
Généralités
sur
l'appareil
respiratoire

I.1. Anatomie de l'appareil respiratoire :

L'appareil respiratoire regroupe les organes dont la fonction est d'assurer la respiration. Cette fonction vitale est un échange gazeux entre les poumons et l'air atmosphérique. Les voies aériennes peuvent être divisées en deux étages, supérieur et inférieur :

- les voies aériennes supérieures (VAS) sont situées dans la tête et dans le cou, elles comprennent toutes les structures situées au dessus de la trachée, ce sont les cavités nasales avec le sinus paranasaux, le pharynx et le larynx. Elles véhiculent l'air atmosphérique. Dans le pharynx les voies aériennes et digestives se croisent.
- les voies aériennes inférieures (VAI) se situent dans le cou et le thorax et se composent de la trachée et des ramifications de l'arbre bronchique jusqu'aux alvéoles pulmonaires. Elles se composent des :

-des poumons, en majeure partie formée par les alvéoles pulmonaires qui constituent la surface d'échanges.

-des plèvres, enveloppes séreuses permettant le glissement des poumons contre la paroi thoracique.

-des muscles respiratoires qui assurent en permanence la circulation de l'air dans les voies aériennes et les poumons.

-de la circulation sanguine pulmonaire [8].

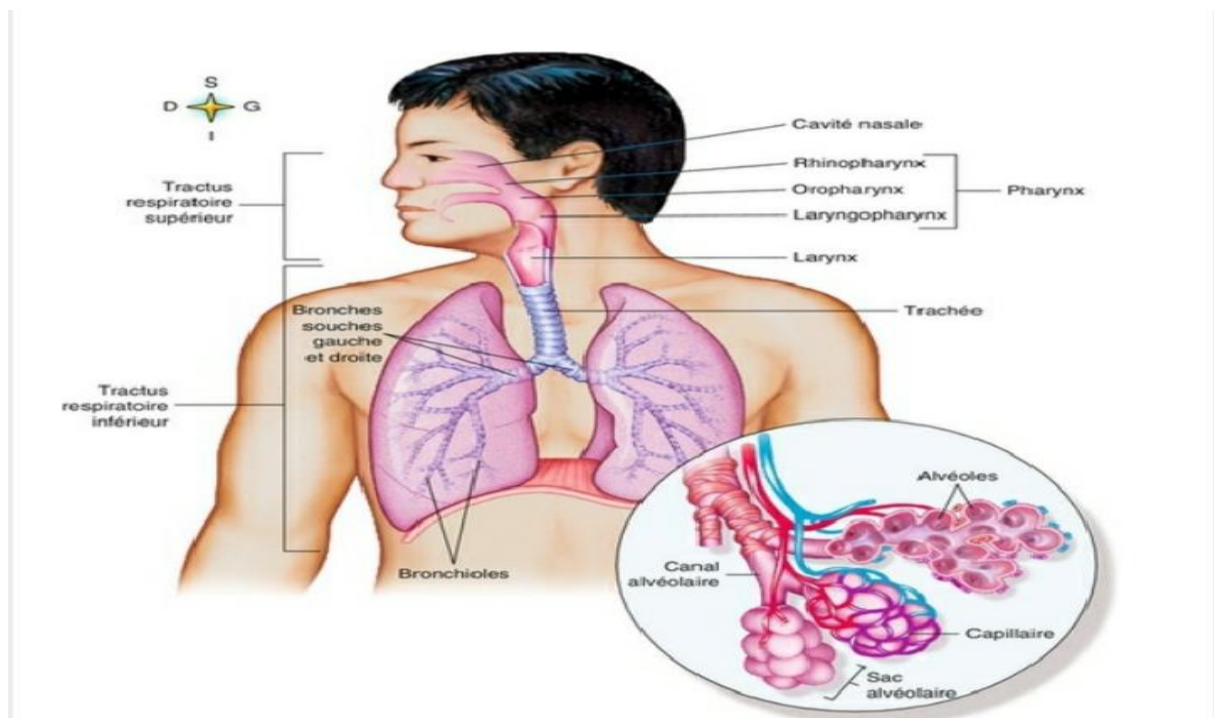


Figure 1 : Anatomie de l'appareil respiratoire [9].

I.2.Colonisation de l'appareil respiratoire :

Comme toutes les muqueuses de l'organisme, les voies aériennes sont tapissées par des communautés de microorganismes appelées microbiotes [10].

Le microbiote des VAS contient de nombreux genres ou espèces dont certains sont des pathogènes opportunistes majeurs : *Staphylococcus aureus* (dont la niche préférentielle est représentée par les fosses nasales), *Streptococcus* (groupables ou non, dont *Streptococcus pneumoniae*), *Haemophilus*, *Neisseria* (éventuellement *Neisseria meningitidis* dont le portage est transitoire), *Moraxella catarrhalis*, ainsi que des corynébactéries, lactobacilles et également de nombreuses bactéries anaérobies [10].

Les poumons humains étaient considérés comme un organe stérile et aseptique, selon des études essentiellement fondées sur les méthodes microbiologiques conventionnelles (examen direct et cultures microbiologiques de prélèvements respiratoires). Ce n'est que récemment, grâce au développement des techniques moléculaires de séquençage à haut-débit, qu'il a été démontré la présence d'une flore polymicrobienne appelée microbiote, probablement transitoire dans les poumons de l'homme [11].

La composition du microbiote pulmonaire est unique et spécifique à chaque individu [12].

I.3.Moyens de défense :

Au niveau pulmonaire, le premier opposant à l'infection est la barrière constituée par l'épithélium respiratoire. L'épithélium des voies respiratoires présente différents systèmes, de nature mécanique ou biologique, qui préviennent la colonisation par un agent pathogène, première étape de la plupart des infections. Les cellules épithéliales ciliées et les cellules sécrétrices de mucus constituent un ascenseur mucociliaire permettant l'élimination mécanique de la majorité des pathogènes pulmonaires. Les cellules épithéliales ont notamment la capacité de réguler les réponses immunitaires innées et adaptatives grâce à la production de médiateurs spécifiques, secondaire à la reconnaissance de motifs portés par les micro-organismes pathogènes [13].

Les principaux mécanismes de défense sont les barrières anatomiques des voies respiratoires, les réflexes de toux, le mucus [14] et la clairance mucociliaire [15] (Figure 2).

Une défaillance de la fonction épithéliale peut ainsi être induite par les thérapeutiques mises en œuvre, notamment la ventilation mécanique [16].

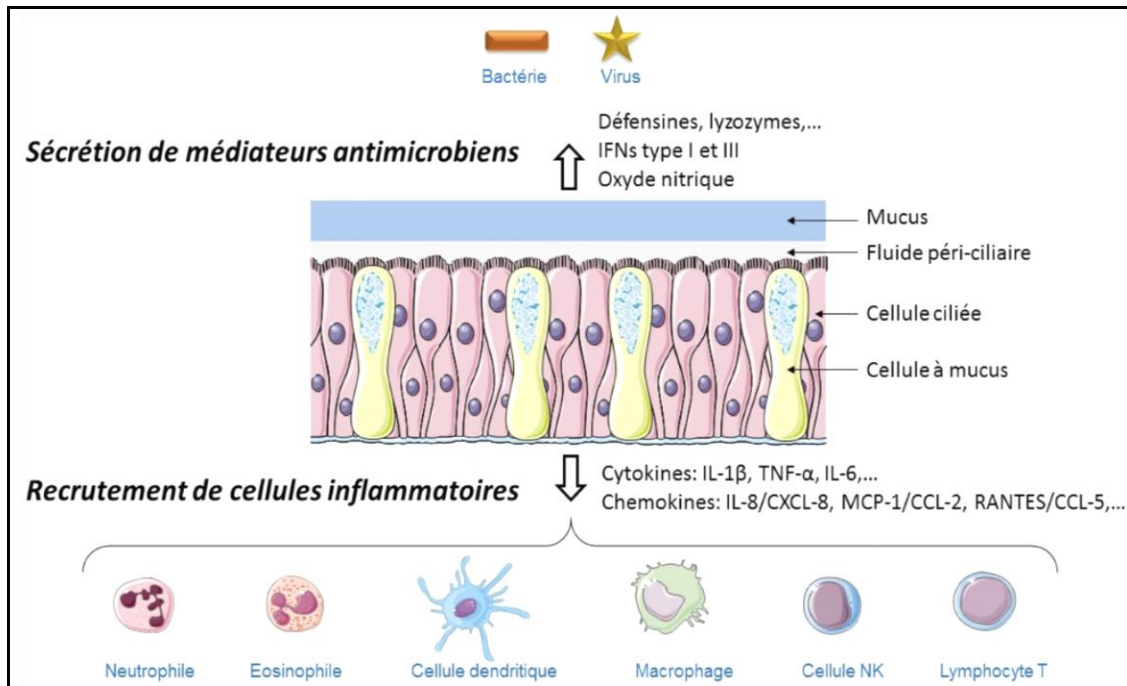


Figure 2 : Les mécanismes de défense de l'épithélium respiratoire [16].

I.4. Infections respiratoires basses :

Sous le terme d'infections respiratoires basses, trois situations cliniques distinctes sont regroupées :

- Bronchite aiguë :

La bronchite aiguë est une inflammation de l'arbre trachéobronchique secondaire à une infection, le plus souvent virale [17].

- Broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) :

La BPCO est une inflammation chronique de l'arbre trachéobronchique, caractérisée par une diminution non complètement réversible des débits aériens [17].

- Les pneumonies :

-Pneumonie communautaire : La pneumonie, définie comme une infection du parenchyme pulmonaire d'évolution aiguë, elle est dite communautaire si elle est acquise en milieu extrahospitalier ou si elle survient avant la 48^{ème} heure d'hospitalisation. Il s'agit d'une affection potentiellement grave pouvant engager le pronostic vital [17].

-Pneumonie nosocomiale : on distingue :

La pneumonie acquise à l'hôpital, lors d'un séjour hospitalier, au-delà de la 48^{ème} heure d'hospitalisation et qui n'était pas en incubation à l'admission. Les pneumonies associées à la ventilation mécanique, survenant après plus de 48 h d'intubation endotrachéale [18].

I.5. Définition de la ventilation mécanique :

La ventilation mécanique est une procédure médicale qui permet d'assister partiellement ou totalement l'activité respiratoire du patient. Elle peut être réalisée à l'aide d'une interface invasive (sonde d'intubation ou canule de trachéotomie) ou non invasive à l'aide d'un masque ou d'un casque [19].

Elle peut être réalisée sans la participation des muscles respiratoires des patients, elle est dite alors " contrôlée " ou avec l'aide des muscles respiratoires des patients qui conservent une activité musculaire, elle est dite alors " assistée" [20].

Elle est nécessaire à la survie des patients en état critique dans l'attente de l'effet d'un traitement étiologique. Elle est nécessaire chez 30 à 50 % des patients admis en réanimation [21].

CHAPITRE II :
Pneumopathies
acquises sous
ventilation mécanique

II.1. Définition de PAVM :

La pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) est définie comme étant toute pneumonie survenant dans un délai égal ou supérieur à 48 heures après une intubation endotrachéale et/ou une trachéotomie. C'est une infection qui n'était ni présente, ni en incubation au début de la ventilation mécanique [22] [23].

La PAVM touche environ 9,21% à 57,14% des patients sous ventilation mécanique. Elle constitue l'infection nosocomiale la plus fréquente dans les unités de soins intensifs [24].

La définition des PAVM est fondée sur l'association de critères cliniques, microbiologiques et radiologiques :

- infiltrat à la radiologie de thorax
- une fièvre ou une hypothermie,
- une hyperleucocytose ou une leucopénie,
- des sécrétions respiratoires purulentes, et une dégradation de l'hématose [25] [26].

De plus, la confirmation microbiologique est indispensable, qu'elle soit constatée par culture positive de l'examen cytobactériologique trachéal (ECBT) [$\geq 10^5$ CFU/ml] ou du lavage broncho alvéolaire (LBA) [$\geq 10^4$ CFU/ml] [27].

II.2. Classification des PAVM :

Le délai d'apparition permet de classer les PAVM en précoces ou tardives selon qu'elles apparaissent avant ou après le 5ème jour de ventilation mécanique [28].

- PAVM précoces : Les germes retrouvés dans ce contexte sont (*Streptococcus pneumoniae*, *Hemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus méthi-S*, *Escherchia coli*).
- PAVM tardives : Elles sont liées à des germes hospitaliers multirésistants (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter*) [29].

II.3. Physiopathologie :

II.3.1. Voies de contamination :

Deux voies de contamination sont possibles :

II.3.1.1. Voie endogène :

Les sites normalement stériles sont contaminés puis colonisés par la flore dont est porteur le patient lui-même, à la faveur d'une rupture des barrières de défense.

Cette flore est souvent modifiée par rapport à celle des sujets sains du fait de la maladie, de ses conséquences et d'éventuels traitements antibiotiques antérieurs, avec en particulier une augmentation de la fréquence des bactéries à Gram négatif résistantes aux antibiotiques.

II.3.1.2. Voie exogène :

La voie exogène est associée à la colonisation du patient par des bactéries extérieures, provenant d'autres malades ou de l'environnement, transmises de manière indirecte (aérosols, manuportage, matériels).

Cette voie a une importance relative plus grande en réanimation que dans d'autres secteurs, du fait de la densité des soins et de la fréquence des procédures, augmentant le risque d'exposition des malades à une transmission croisée.

la contamination par voie exogène peut être en grande partie limitée par une bonne observance de l'hygiène des mains, un entretien de l'environnement et des matériels adéquats, et un personnel en nombre suffisant pour permettre un regroupement efficace isolant les patients [30].

II.3.2. Colonisation oro-pharyngée et gastrique :

La flore normale de l'oropharynx chez le patient sain est composée principalement de streptocoques, d'espèces d'*Haemophilus* et d'anaérobies. Le flux et le contenu salivaires sont les principaux facteurs de l'hôte qui maintiennent la flore normale de la bouche (et de la plaque dentaire) [31].

Au cours d'une maladie grave, en particulier chez les patients en unité de soins intensifs, la flore buccale peut se détériorer et change radicalement et devient prédominante en agents pathogènes aérobies à Gram négatif et à Gram positif, tels que *Staphylococcus aureus* [32].

La colonisation oropharyngée est un prédicteur puissant de la colonisation trachéobronchique ultérieure [33]. De nombreuses études montrent que la colonisation de l'oropharynx est un phénomène quasi universel chez les patients gravement malades sous ventilation mécanique [34] [35].

De plus, l'estomac est considéré aussi comme un important réservoir d'organismes responsables de la PAVM [36]. Chez les personnes en bonne santé, peu de bactéries entrant dans l'estomac survivent en présence d'acide gastrique. Les conditions qui réduisent le pH gastrique, comme l'achlorhydrie, le traitement par des antagonistes H2 ou des inhibiteurs de la pompe à protons, ou la nutrition entérale, prédisposent à la prolifération bactérienne dans l'estomac [37].

Les micro-organismes gastriques peuvent refluer dans l'œsophage, favorisés par la position couchée et la présence de la sonde naso- ou oro-gastrique, et être aspirés dans la trachée. [38][39].

II.3.3. Inhalation :

Elle survient essentiellement chez des malades ayant une altération de la conscience. L'inhalation du contenu gastrique ou oropharyngé dans le larynx ou les voies aériennes inférieures est liée à quatre mécanismes qui peuvent être associés : retard à la vidange gastrique, hypersécrétion gastrique, facteurs favorisant le reflux gastro-œsophagien et atteinte laryngée lésionnelle ou réflexe. Les conséquences cliniques des inhalations sont variables et dépendent de la nature, du pH et du volume des sécrétions inhalées [40].

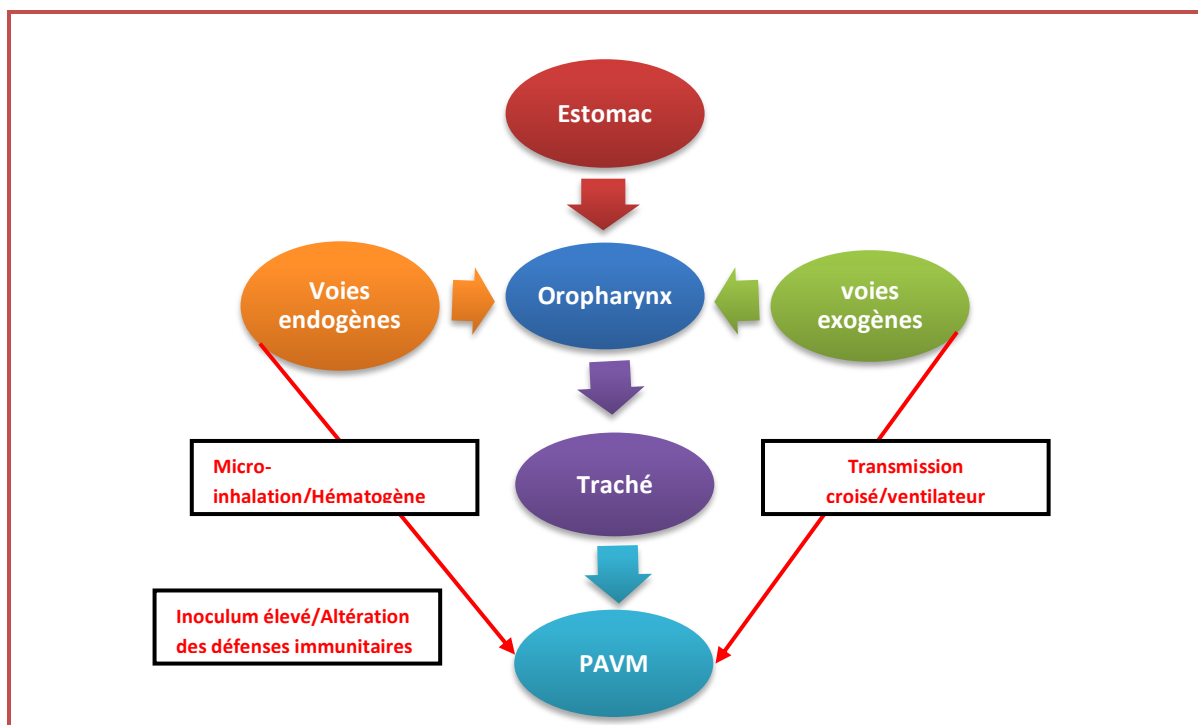


Figure 3 : Etapes de l'infection dans le cas de PAVM (originale).

II.4. Épidémiologie :

II.4.1.Facteurs de risque :

II.4.2.1.Facteurs intrinsèques :

a- Age :

La plupart des études indiquent que le risque des PAVM en réanimation augmente avec l'âge en raison de la sénescence du système immunitaire des sujets âgés ce qui les rend plus exposés aux risques infectieux [41] [42].

b- Sexe :

Les personnes de sexe masculin sont beaucoup plus exposées à la survenue des PAVM [41] [42].

c-Terrains et pathologies sous-jacent:

➤ Trouble de conscience :

Les troubles de la conscience étaient significativement corrélés à la survenue des PAVM. Les réflexes physiologiques des patients souffrant de troubles de la conscience, tels que la déglutition, la toux et l'expectoration, sont affaiblis, ce qui affecte l'évacuation des sécrétions respiratoires. De plus, les patients souffrant de troubles de la conscience sont dans une position passive, Par conséquent, le contenu gastrique peut refluer, ce qui favorise l'inhalation des sécrétions vers les voies respiratoires inférieures. [43][44][45].

➤ Comorbidités :

Les maladies chroniques peuvent constituer un facteur de risque de PAVM, notamment les maladies coronariennes, le diabète, les maladies respiratoires, l'insuffisance rénale chronique et la thyroïdite de Hashimoto. [46][44][47]. Ces maladies conduisent ensemble à une immunodépression, entraînant des déficiences des organes vitaux tels que le cœur, le foie, les reins et les poumons, rendant le patient plus vulnérable aux infections [48].

➤ Prévention antiulcéreuses :

Chez les personnes en bonne santé, peu de bactéries entrant dans l'estomac survivent en présence d'acide gastrique. Les conditions qui réduisent le pH gastrique, comme l'achlorhydrie, le traitement par des antagonistes H2 ou des inhibiteurs de la pompe à protons, ou la nutrition entérale, prédisposent à la prolifération bactérienne dans l'estomac. Les micro-organismes gastriques peuvent refluer de l'estomac vers le haut et coloniser les voies respiratoires [49] [50].

II.4.2.2. Facteurs extrinsèques :

a-La durée de ventilation et la durée d'hospitalisation :

La PAVM est significativement liée à l'augmentation de la durée de ventilation mécanique [51] [52], Le risque est 6 fois plus important chez les sujets ayant une durée d'intubation > 8 jours avec une fraction étiologique du risque chez Les exposés égale à 83,3% [53]. Par ailleurs, le risque de PAVM augmente de 01 à 03 % pour chaque jours de ventilation, il est de 6,5‰ à 10 jours, 19‰ à 20 jours et jusqu' à 69‰ à 30 jours [54] [55].

b-Matériel incriminé :

➤ Circuit de ventilateur, aérosols et humidificateur:

Sous réserve d'une stérilisation adéquate du matériel et du respect des règles élémentaires d'hygiène en réanimation, il est clairement démontré que les circuits ne sont pas responsables de PAVM [56] [57]. Néanmoins, Le condensat formé dans les tuyaux peut contenir plus de 10^5 bactéries à Gram négatif par ml et le risque est alors son déversement dans la trachée ou vers l'extérieur, en particulier sur les mains du personnel lors de manipulations de circuits. Les nébuliseurs pour aérosols peuvent véhiculer des particules jusqu'aux structures respiratoires distales et s'ils sont contaminés, peuvent entraîner des pneumopathies très sévères.

Les humidificateurs chauffants ne seraient que peu en cause dans la survenue de PAVM à condition d'utiliser de l'eau stérile [58] et l'utilisation des échangeurs de chaleur et d'humidité , dont certains sont censés avoir des propriétés antimicrobiennes [59] [60].

➤ Sondes d'intubation :

La sonde d'intubation favorise le passage des germes depuis l'oro-pharynx vers la trachée en dépit des ballonnets, qui lorsqu'ils n'atteignent pas une pression de 20 cmH₂O, multiplient par 2,5 le risque de PAVM. Des études antérieures ont également montré que la trachéotomie, l'aspiration endotrachéale des expectorations, la bronchoscopie, étaient associées de manière significative à la PAVM [61].

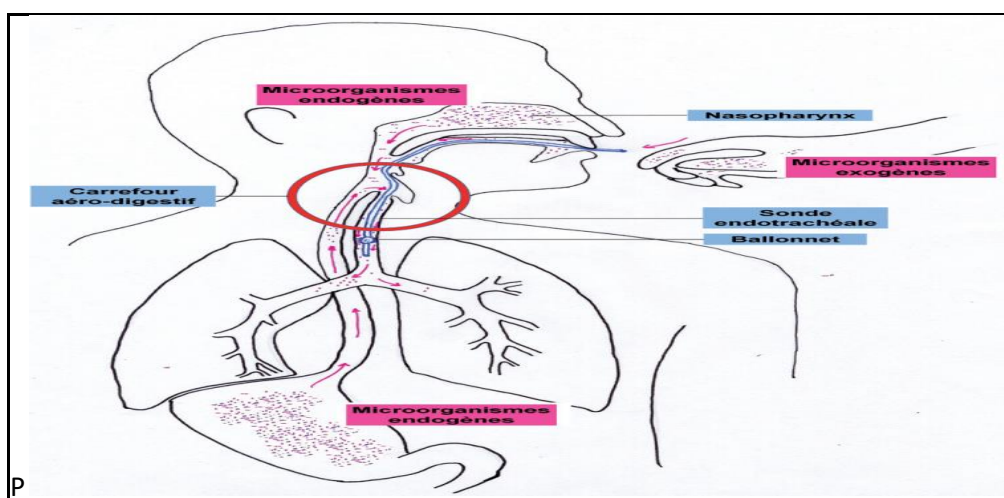


Figure 4: Intubation endotrachéale, principales voies d'acquisition des microorganismes [62].

II.4.2. Incidence et prévalence :

L'incidence exacte des PAVM reste difficile à définir en raison des variations entre les définitions utilisées, les populations étudiées et les méthodes diagnostiques microbiologiques utilisées [63].

Aux états unis, La plus large étude cas-témoins, portant sur 9 080 patients de réanimation ventilés mécaniquement plus de 24 heures, retrouvait une incidence de PAVM de 9,3 % [64].

L'étude de prévalence multicentrique européenne, portant sur 10 000 patients, rapporte une prévalence des pneumopathies nosocomiales à 10 %, ce qui représente 47% des infections acquises en réanimation [65].

Dans une enquête de prévalence réalisée en France, portant sur 236 334 patients avec la participation de 2337 établissements, la prévalence des pneumopathies nosocomiales s'établissait à 14,7%. Ce qui représente 22,40% des infections acquises en réanimation [66].

Dans une étude publiée en 2007, réalisée au CHU Hassan II de Fès qui a porté sur 282 patients, la prévalence des pneumopathies nosocomiales était de 11% et représentaient 25% des infections acquises dans les services de réanimation. Elles surviennent chez 10 à 25% des patients ventilés [67].

La prévalence était de 10 % selon une étude menée dans 27 hôpitaux en Algérie et en Tunisie [68].

II.4.3.Épidémiologie microbienne:

Près de 60% de PAVM sont dues à des bactéries aérobies à Gram négatif suivi par les cocci à Gram positif [69].

Concernant les 10 bactéries les plus fréquemment isolées (classées par ordre décroissant), la majorité des auteurs retrouvent, en moyenne, les proportions suivantes : *Pseudomonas aeruginosa* (24,4 %), *Staphylococcus aureus* (20,4 %), *Haemophilus* spp. (9,8 %), *Streptococcus* spp. (8,0 %), *Acinetobacter baumannii* (7,9 %), *Streptococcus pneumoniae* (4,1 %), *Escherichia coli* (3,4 %), *Proteus* spp. (3,1 %), *Enterobacter* spp. (2,7 %) et *Neisseria* spp. (2,6%), entre 13% et 40% des épisodes de PAVM sont polymicrobiens [70].

Dans le cas de PAVM précoces, on retrouve le plus souvent : *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline et les entérobactéries sensibles. Dans les PAVM tardives, on retrouve des germes résistants comme *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, *Pseudomonas aeruginosa* et les entérobactéries multi résistantes [71].

Dans les pays du Maghreb, les étiologies bactériennes des PAVM sont les mêmes et souvent avec la même fréquence [Tableau 1] :

Tableau 1 : Prévalence des PAVM et fréquence des bactéries selon les études.

Pays	Prévalence	Fréquence des bactéries isolées aux services de réanimations			
		BGN			CGP
		Entérobactéries	Pseudomonas aeruginosa	Acinetobacter baumannii	Staphylococcus aureus
Maroc (Fès) (2007) [67][72]	11%	Klabiella.pneumonai e : 15.4% Escherechia.coli : 6.3%	13.7%	33%	/
Tunisie (2010) [73][68]	10%	34%	50%	16%	11%
Algérie (2010) [68]	10%	/	20.18%	30.43%	10.99%
AARN(2017) [74]	/	25,47%	20,5%	31,13%	11,14%

CHAPITRE III :
Principales étiologies
bactériennes des
PAVM et leurs
résistances aux
antibiotiques

III.1. Bactéries à Gram négatif :

III.1.1. *Pseudomonas aeruginosa* :

Pseudomonas aeruginosa, connue sous le nom de bacille pyocyanique en raison de sa forme allongée et de la production de pigments bleus et verts : la pyocyanine et la pyoverdine, on retrouve cette bactérie ubiquitaire, particulièrement dans les milieux humides : la bactérie a pour habitat naturel l'eau douce, le sol et les plantes [75].

Le *Pseudomonas aeruginosa*, est une bactérie mobile, asporulé et acapsulé, elle est de type respiratoire aérobie strict, elle possède l'oxydase et la catalase et une nitrate réductase. Elle pousse facilement sur milieux usuels en 24 heures à 37°C. Les cultures dégagent une odeur très caractéristique de seringa et elle présente généralement une coloration verdâtre. Elle est glucose -, lactose -, mannitol +, elle ne produit pas H₂S, elle utilise l'ion citrate comme seule source de carbone, ADH positif, Uréase négatif, Indole négatif, TDA négatif [75].

Ce micro-organisme est responsable de nombre d'infections nosocomiales qui sont liées à sa forte capacité de résistance aux antibiotiques (ATB) et la multiplicité de ses facteurs de virulence [76] : les facteurs de virulence impliqués dans la mobilité et dans l'adhérence de la bactérie (le flagelle, les pilis, les lipopolysaccharides et le facteur d'attachement de type fimbriae), les systèmes de sécrétion qui permettent aux toxines (protéase alcaline, exotoxine A, l'élastase, phospholipase C, ...) d'atteindre les cellules hôtes, la formation du biofilm bactérien qui permet notamment de s'attacher aux tissus de l'hôte ou à des surfaces inertes (cathéters, implants...) [75].

Dans les services de réanimation, de soins intensifs et les centres de brûlés où les patients sont souvent immunodéprimés et habituellement intubés, ventilés, sondés et porteurs de cathéters périphériques et centraux, le risque de contamination et d'infection à *Pseudomonas aeruginosa* est majeur [76]. Ainsi, au total *Pseudomonas aeruginosa* est responsable d'environ 20 % des broncho-pneumopathies chez les patients sous ventilation mécanique et la mortalité liée aux PAVM à *Pseudomonas aeruginosa* est plus importante (60 à 70 %) que celle liée aux autres espèces bactériennes (20 à 50%) [77].

Pseudomonas aeruginosa présente une résistance naturelle à un grand nombre des antibiotiques : les aminopénicillines, les céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème} ou 3^{ème} génération (céfotaxime, ceftriaxone), les anciennes fluoroquinolones (péfloxacin, norfloxacin), mais aussi les tétracyclines, et le cotrimoxazole [78].

➤ Résistance aux céphalosporines :

Pseudomonas aeruginosa exprime naturellement une céphalosporinase inductible codée par le gène chromosomique *ampC*, proche de celui qui est retrouvé chez les entérobactéries du groupe III. Son expression peut être fortement induite par certaines bêta-lactamines, notamment l'imipénème (IMP), l'acide clavulanique et les céphamycines. Elle est réversible et elle confère une résistance à toutes les bêta-lactamines sauf les carbapénèmes. Cette hyperproduction de céphalosporinase explique la majorité des cas de résistance à la ceftazidime (CAZ) et à l'aztréonam [78] [79].

Pseudomonas aeruginosa peut produire également des bêtalactamases à spectre élargie (BLSE) plasmidiques ou des oxacillinases de classe D qui ont un spectre d'activité de type BLSE [80].

➤ **Résistance aux carbapénèmes :**

-Imperméabilité aux carbapénèmes :

L'imperméabilité par mutation inactivatrice de l'opéron oprD, gène codant la protéine D2 constitue le principal mécanisme de résistance aux carbapénèmes chez *Pseudomonas aeruginosa*. La perte de cette porine de la membrane externe confère une résistance de haut niveau à l'IMP et une diminution variable de la sensibilité au méropénème et au doripénème, mais n'affecte pas l'activité des autres bêtalactamines [79].

-Production de carbapénémases :

Elles appartiennent aux classes A et B et affectent fortement les carbapénèmes. Certaines d'entre elles ont diffusé à partir des entérobactéries. Elles sont insensibles aux inhibiteurs, mais ne touchent pas l'aztréonam. En revanche, l'association à d'autres mécanismes de résistance aux bêtalactamines masque cette sensibilité [81].

III.1.2. *Acinetobacter baumannii* :

Acinetobacter baumannii est un coccobacille à Gram négatif [82], ubiquitaire retrouvées dans l'environnement, notamment dans les sols, les eaux, les végétaux et les animaux [83]. Ces bactéries représentent 20 % de l'écologie générale de l'hôpital où elle colonise les équipements médicaux (Appareils de ventilation, lits, matelas, chariots ...) [84], elles sont également présentes dans la flore cutanée de l'homme au niveau des mains, Le tractus digestif et aussi dans le tractus respiratoire [85].

C'est une bactérie aérobie strict non-fermentaire, elle ne produit pas de spores, immobile et parfois capsulé [82]. Elle pousse facilement dans des milieux de culture usuels avec une température optimale entre 33°C et 35 °C. Les colonies d '*Acinetobacter* apparaissent lisses, opaques, de couleur jaune pâle ou grisâtre [86], elle est Oxydase -, Catalase +, Gélatinase -. Elle acidifie, sans production de gaz, du glucose, mannose, galactose, xylose, arabinose et lactose.

Les facteurs de colonisation et de virulence spécifiques à *Acinetobacter baumannii* inclut les mécanismes qui permettent l'adhésion aux surfaces biotiques et abiotiques, l'acquisition du fer, la synthèse de capsule, la formation de vésicules extracellulaires ainsi que la sécrétion de phospholipases [87].

La majorité des infections dues à *Acinetobacter baumannii* sont nosocomiales, particulièrement chez les patients immunodéprimés et/ou admis en réanimation [88] [89].

Acinetobacter baumannii est naturellement résistant à plusieurs bêta-lactamines; les aminopénicillines, les céphalosporines de 1^{ère} génération et de 2^{ème} génération ainsi que l'ertapénème, fosfomycine, Triméthoprime, et aux furanes ,du fait de l'association de différents mécanismes impliquant :

-La production des bêta-lactamases (céphalosporinases qui permettent d'hydrolyser les aminopénicillines et les céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération , carbapénémase)
- efflux et imperméabilité [90] [91].

Dans les années 70, *Acinetobacter baumannii* était une bactérie sensible à tous les ATB commercialisés sauf la pénicilline. Sa capacité à acquérir un large panel de composants de résistance aux ATB lui a permis de passer rapidement de l'état de commensal à celui de pathogène nosocomial multirésistant.

➤ **Résistance aux céphalosporines :**

Acinetobacter baumannii peut produire plusieurs types de bêtalactamases (pénicillinases, céphalosporinases, BLSE) qui sont à la fois chromosomiques ou acquises. Les BLSE et les céphalosporinases hyperproduites (CHN) sont les enzymes les plus étudiées [79].

L'hyperproduction de céphalosporinases a lieu suite à une mutation chromosomique. Ces enzymes inhibent les céphalosporines de 1^{ère}, de 2^{ème} et de 3^{ème} génération (C1G, C2G, C3G), les aminopénicillines, les ureidopénicillines [79].

L'acquisition de BLSE conférant une résistance à l'ensemble des bêtalactamines à l'exception des carbapénèmes est un phénomène rare chez *Acinetobacter*, elles sont habituellement d'origine plasmidiques [92].

➤ **Résistance aux carbapénèmes :**

La résistance de l'*Acinetobacter baumannii* aux carbapénèmes a longtemps été liée à l'association d'une céphalosporinase haut niveau et d'imperméabilité, elle ne concernait qu'un nombre limité de souches, mais elle a explosé au cours des dernières années [92].

Des enzymes conférant la résistance acquise aux carbapénèmes ont été caractérisées dans les quatre classes moléculaires de bêtalactamases. Parmi la classe A de Ambler, différentes enzymes capables d'hydrolyser les carbapénèmes ont pu être identifiées chez *Acinetobacter baumannii* : c'est le cas des enzymes GES-11 ou GES-14 ou encore des enzymes de type KPC (pour « *Klebsiella Pneumoniae* Carbapénémase) [92].

Acinetobacter baumannii produit également naturellement une oxacillinase chromosomique (OXA51) hydrolysant faiblement les carbapénèmes, et dont la surexpression entraîne une résistance aux carbapénèmes [79].

➤ **Résistance à la colistine :**

La colistine antibiotique de la famille des polymyxines, interagit avec le composant de lipide A des lipopolysaccharides de la membrane externe et provoque ainsi la mort cellulaire en les perturbant [93]. Elle reste parfois le seul antibiotique disponible dans le cas des infections à *Acinetobacter baumannii* résistants aux carbapénèmes. La résistance aux polymyxines est rare mais augmente avec l'utilisation croissante de ces antibiotiques.

La résistance à la colistine chez *Acinetobacter baumannii* a lieu par mutation chromosomique grâce à deux mécanismes : la modification de la membrane externe des lipopolysaccharides (LPS) ou Perte de LPS [94].

III.1.3. Enterobacteriaceae:

Les entérobactéries constituent une famille hétérogène de bacille à Gram négatif BGN qui est fréquemment impliquée dans les infections humaines. Les germes de cette famille sont en majorité des colonisateurs normaux du tube digestif [95].

Les entérobactéries sont définies comme étant des BGN, aéro-anaérobies facultatifs, non exigeants, asporulés, capsulés ou non (selon les espèces), immobiles ou mobiles, fermentant le glucose, oxydase négative et réduisant les nitrates en nitrites [Annexe 1,2] [96] [97].

Les entérobactéries sont à l'origine de maladies de gravité très variable, en raison de mécanismes pathogéniques distincts. Elles peuvent être des pathogènes opportunistes ou des pathogènes spécifiques. Elles constituent les agents principaux de l'auto-infection [98].

Plusieurs facteurs sont impliqués dans leur pathogénicité, ils sont soit membranaires (adhésines, LPS, capsule) ou sécrétés (toxines, hémolysines sidérophores, protéases, ...) [99].

Les entérobactéries sont responsables de 14,1 % des cas de PAVM [100].

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux ATB actifs sur les Gram positifs : pénicillines G et M, macrolides, lincosamides, streptogramines, acide fusidique et les glycopeptides. Elles possèdent un certain nombre de phénotypes de résistance naturels tels que l'expression d'une pénicillinase ou d'une céphalosporinase selon la classe d'entérobactéries [97].

Tableau 2 : La résistance naturelle aux antibiotiques chez les entérobactéries [101].

Groupe	Gr0	Gr1	Gr2	Gr3	Gr4	Gr5	Gr6
Mécanisme de résistance	Sensible	Céphalosporinase de classe C non inductible	Pénicillines de bas niveau	Céphalosporinase de bas niveau	Céphalosporinase de classe C et Pénicillinase de classe A	Céphalosporinase de classe A inductible = Céfuroximase	BLSE chromosomique de bas niveau
Entérobactéries	salmonella spp p.mirabilis	E. coli Shigelle spp	K. pneumoniae K.oxytoca C.koseri E.hermani	E. cloacae E.aerogenes C. freundii M.morgani H.alvei P.rettgeri P.agglomerans	Yesnia entérolytica Serratia fonticola	P.vulgaris P.peneri	K.ascorba K.cryocrescens K.georgina R.aqualitis C.sedlaki E.perscinia
AminoP	S	S/I ^a	R	R	R	R	R/I → I
AminoP + CLA	S	S/I ^a	S	R	R	S	S/I ^a
CarboxyP	S	S	R	S	R	S	R/I → I
CarboxyP+CLA	S	S	S	S	S	S	S
UreidoP	S	S	S → I ^e	S	S → I ^e	S	I/S? I
UreidoP + TZA	S	S	S	S	S	S	S
C1G	S	S/I ^a	S	R	R	R	R/I
C2G	S	S	S	R/I/S ^b	S	R	R/I/I → I
Céfoxitine	S	S	S	R/I/S ^b	S	S	S
C3G	S	S	S	S	S	S	S → I ^d /I
C4G	S	S	S	S	S	S	S → I ^d /I
Carbapénème	S	S	S	S	S	S	S

S/I^a : sensible ou intermédiaire (résultat en fonction de l'espèce et de l'isolat)

R/I/S^b : résistante ou intermédiaire ou sensible (résultat en fonction de l'espèce et de l'isolat)

S → I^e : tous les résultats sensibles interprétés intermédiaires

S → I^d : tous les résultats sensibles interprétés intermédiaires si le test de synergie est positif pour au moins une C3G, une C4G, ou l'aztréonam.

Elles ont la capacité de produire des bêta-lactamases, il existe une grande variété de ces enzymes. Les deux classifications couramment utilisées pour les classer sont celle structurale d'Ambler et celle fonctionnelle de Bush [101] [Annexe 3]. Cependant, le risque de résistance actuellement émergent est représenté par la production de carbapénémases qui peut conduire à la totorésistance et par la suite à l'impasse thérapeutique [101].

➤ **Résistance aux céphalosporines de 3ème génération :**

-hyperproduction de céphalosporinase :

Des mutations au niveau du gène répresseur de l'ampC aboutissent à une hyperproduction constitutive de la céphalosporinase [102].

Ces souches mutantes deviennent alors résistantes à quasiment toutes les bêta-lactamines y compris les inhibiteurs et les céphamycines. Seul le céfépime et les carbapénèmes restent actifs [79].

-Production de bêta-lactamase à spectre élargi :

Ces bêta-lactamases entraînent une résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines, aux uréidopénicillines, aux céphalosporines de 1ère et de 2ème et de 3ème et de 4ème génération ainsi qu'à aztréonam, mais restent sensibles aux céphamycines et à l'imipénème [103], elles sont inhibées par l'acide clavulanique. Leur support étant plasmidique, elles sont transférables de bactérie à bactérie, de même espèce ou d'espèces différentes.

Les entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE) sont, dans leur très grande majorité, aussi résistantes aux autres familles d'ATB, notamment aux fluoroquinolones et au cotrimoxazole [79] [102].

➤ **Résistance aux carbapénèmes :**

Chez les entérobactéries, la résistance aux carbapénèmes est due à deux mécanismes :

- Le premier associe la production d'une céphalosporinase (chromosomique ou plasmidique) et / ou d'une BLSE à une diminution de perméabilité membranaire par perte ou altération de porines ;
- Le second mécanisme met en jeu des enzymes capables d'hydrolyser fortement les carbapénèmes nommées carbapénémases [104].

Les carbapénémases sont des bêta-lactamases qui constituent une famille très composite, celles décrites chez les entérobactéries appartiennent aux trois classes connues de bêta-lactamases (classe A, B et D de la classification de Ambler). L'espèce la plus impliquée dans ce genre de résistance est *Klebsiella pneumoniae*. Cependant, toutes les autres espèces peuvent être impliquées [79].

Les Entérobactérie productrice de carbapénémase (EPC) sont classées comme bactéries hautement résistantes en raison de leur multirésistance aux ATB et leur risque accru de diffusion épidémique [104].

➤ **Résistance à la colistine :**

La résistance des entérobactéries vis-à-vis de la colistine est principalement due à une modification enzymatique du LPS, laquelle tend à réduire son affinité pour la colistine par substitution des groupements phosphates du lipide A par des groupements cationiques 4-amino-4-désoxy-L-arabinose ou de phosphoéthanolamine. La résistance à la colistine peut être isolée mais est généralement liée à la production de BLSE et de carbapénèmes et donc s'inscrit dans un cumul de mécanismes aboutissant à la totorésistance [105].

III.1.4. *Haemophilus influenzae* :

Haemophilus influenzae est un coccobacille à Gram négatif polymorphe de la famille des *Pasteurellaceae*. C'est une commensale des voies respiratoires supérieures, avec un pourcentage de colonisation supérieur à 80%.

Il est aéro-anaérobie facultatif, immobile et non sporulé, parfois capsulé (souches virulentes). Il possède une catalase et une oxydase tardive. Sa culture est difficile car il est auxotrophe (exige les facteurs X et V). Il pousse à 35°C en 24 h à 48 h, en atmosphère enrichie en 05 à 10 % de CO₂ [96].

Haemophilus influenzae possède des *pili* et des adhésines, responsables de l'adhésion à la mucine et aux épithéliums, des lipooligosaccharides qui induisent la formation de biofilm. La capsule polysaccharidique produite par quelques souches constitue un facteur majeur de virulence.

Cette bactérie peut être responsable d'infections non invasives comme les sinusites et les otites moyennes aiguës et d'infections invasives comme les méningites, les pneumonies, et les bactériémies [96].

Chez les patients traumatisés crâniens graves, les PAVM à l'*Haemophilus influenzae* tiennent une place importante (28 à 47 %) [106] [107].

Comme d'autres espèces bactériennes, *Haemophilus influenzae* est concerné par la résistance aux antibiotiques touchant plusieurs familles d'antibiotiques.

La résistance naturelle concerne les macrolides, le mécilline, l'oxacilline et les glycopeptides. C'est une espèce modérément sensible aux macrolides, les streptogramines, les C1G (céfalotine).

La résistance acquise touchant plusieurs familles d'antibiotiques. Ce germe a développé des résistances aux bêta-lactamines essentiellement par production de bêta-lactamase, la résistance acquise concerne aussi la famille des tétracyclines, des phénicolés, des fluoroquinolones [108] [109].

III.2.Bactéries à Gram positif :

III.2.1.Staphylococcus aureus :

Staphylococcus aureus appartient à la famille des *Staphylococcaceae*. C'est une bactérie ubiquitaire, commensale de l'homme et de plusieurs animaux, qui colonise fréquemment les voies respiratoires supérieures, en particuliers les muqueuses nasales.

C'est un Cocci à Gram Positif, aéro-anaérobie facultatif qui se présente sous forme de diplocoques ou d'amas ayant la forme de grappes de raisin, acapsulé, asporulé et immobile, elle possède une catalase+, une Dnase thermostable et thermolabile et une coagulase. Elle produit un pigment caroténoïde d'où son appellation « Staphylocoque doré ». Elle croît sur milieux ordinaires, à 37 °C, avec un pH de 7,5. Il a la propriété de tolérer de fortes concentrations en NaCl (5 à 10 g %) [96].

Son pouvoir pathogène résulte de la sécrétion d'enzymes (Coagulase, fibrinolyse, phosphatase et protéase) qui lui confèrent un pouvoir invasif et des toxines (Entérotoxines, staphylolysines et leucocidines) lui confèrent un pouvoir toxique.

Staphylococcus aureus est responsable d'infections communautaires et nosocomiales [110], elle est responsable de 20 à 30 % de PAVM [111].

Staphylococcus aureus est naturellement résistant au mécilinam, quinolones de première génération (acide nalidixique et l'acide pipémidique), à l'aztréonam et à la colistine. Elle a un fort pouvoir adaptatif et a développé différents mécanismes de résistance aux anti-staphylococciques [79].

Des infections causées par des souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la métiline SARM ont été signalées dans les hôpitaux à la fin des années 70 et au milieu des années 80, l'émergence de ces souches a entraîné une pandémie mondiale dans les hôpitaux qui se poursuit jusqu'à nos jours. Le risque d'exposition au SARM est du soit à une longue durée d'hospitalisation, à une antibiothérapie antérieure, ou à une colonisation nasale des patients hospitalisés en sachant que cette dernière est très fréquente [112].

➤ Résistance aux Bêtalactamines :

-Résistance à la pénicilline :

La première vague de résistance aux antibiotiques par *Staphylococcus aureus* a commencé au milieu des années 40 lorsque la proportion d'infections causées par *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline a augmenté dans les hôpitaux. A cette époque des souches de *Staphylococcus aureus* ont produit une pénicillinase qu'est une enzyme capable d'hydrolyse l'anneau β -lactame de la pénicilline essentiel pour son activité antibactérien [112].

-Résistance à la méticilline :

L'émergence de la résistance à la méticilline au sein de l'espèce *Staphylococcus aureus* constatée au début des années 1960 en Europe, a été suivie par une rapide dissémination à travers le monde. 10 ans plus tard, le SARM était responsable d'épidémies d'infections hospitalières aux états unis et diffusait dans la plupart des établissements de soins où la proportion de SARM pouvait atteindre 30% [113].

La résistance à la méticilline est déterminée par la présence d'un gène chromosomique (*mecA*) qui code pour la PLP2a (Protéine de liaison à la pénicilline 2a) [114]. Cette PLP additionnelle a moins d'affinité pour les bêta -lactamines et en particulier pour la méticilline. Ce mécanisme est présent chez les SARM [115].

➤ **Résistance aux glycopeptides :**

L'apparition de la résistance aux glycopeptides chez *Staphylococcus aureus* est due à La dissémination de la résistance à la méticilline, ce qui a conduit à une augmentation de la prescription des glycopeptides [116] [117].

En 2002, la première souche clinique de *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine est décrite [118,119], cette sensibilité diminuée aux glycopeptides est due essentiellement à l'épaississement de la paroi bactérienne qui piège le glycopeptide dans les couches superficielles en les empêchant d'atteindre le peptidoglycane. Ceci est probablement dû à des mutations dans de multiples gènes [120].

III.2.2. *Streptococcus pneumoniae* :

Streptococcus pneumoniae est une cocci à Gram Positif appartenant à la famille des *Streptococcaeae*, elle se présente sous un aspect de diplocoques lancéolés, en flamme de bougie ou en courtes chainettes [96].

C'est une bactérie commensale du rhinopharynx, qui colonise progressivement les voies aériennes supérieures des les premiers mois de vie [121], c'est une bactérie fragile, exigeante, aéro-anaérobie facultatif donnant des colonies alpha-hémolytiques encapsulé, immobile et catalase négative.

Elle est responsable d'otites moyennes aiguës, de pneumonies et de méningites [121], *Streptococcus pneumoniae* est susceptible d'être associé à une PAVM à début précoce [122], de nombreux facteurs de virulence sont impliqués dans la pathogenèse des PAVM :

- la capsule, la pneumolysine A et la pneumolysine C qui permettent l'échappement à la défense immunitaire.
- L'autolysine LytA et la pneumolysine qui lysent les cellules
- les acides teichoïques, lipotéchoïques et la phosphorylcholine entraînent des réactions inflammatoires
- CbpA (choline binding protéine A), neuraminidases et autres facteurs participent à l'adhésion, à la colonisation et aux premières étapes de l'infection [123].

Les pneumocoques sont naturellement résistants aux aminosides (résistance de bas niveau), à l'acide nalidixique et autres quinolones de 1ère génération et à la colistine. [124].

Le pneumocoque a acquis au cours des cinq dernières décennies de nombreuses résistances : sulfamides, tétracyclines, érythromycine, pénicilline et chloramphénicol [125].

La résistance du pneumocoque aux pénicillines est liée à une modification des protéines de liaison aux pénicillines. L'acquisition de ces PLP de faible affinité aux β -lactamines se fait par des échanges de fragments d'ADN entre le pneumocoque et certaines espèces proches, commensales du rhinopharynx. Cette variation génétique appelée transformation bactérienne est fréquemment soumise à une pression de sélection par les antibiotiques [126] [127].

III.2.3. *Corynebacterium striatum* :

Corynebacterium striatum est un bacille à Gram positif appartenant à la famille des *corynebacteriaceae*. Il est appelé aussi corynéforme ou diphtéroïde en raison de son étroite relation phylogénétique avec le *Corynebacterium diphteriae*. Il est classé parmi les corynébactéries non diphtériques [128].

Il s'agit d'une bactérie ubiquitaire, commensale de l'homme. Il colonise la peau et les voies respiratoires surtout le naso-pharynx [96], Il est de plus en plus reconnu comme pathogène chez le patient immunodéprimé ou non [128].

Corynebacterium striatum se distingue des autres types de *Corynebacterium* par sa capacité à fermenter le glucose et le saccharose, et son incapacité à fermenter le maltose. Sur gélose au sang, il donne des petites colonies (1 à 2 mm de diamètre), blanches, humides et lisses [96].

Il possède peu de facteurs de virulence. Son aptitude à former des biofilms a été récemment découverte, Sa virulence est lié surtout aux ses propriétés de résistance aux antibiotiques [129].

Corynebacterium striatum est responsable de plusieurs types d'infections : endocardites, bactériémies, infections des plaies, sa transmission se fait généralement par l'intermédiaire des mains du personnel soignant [128]. Elle était la cause de 11,2% des cas de PAVM., la mortalité attribuable à ce germe était de 58% [130].

- **Principales BMR :**

Une bactérie multirésistante 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) [131].

Ces BMR sont représentées principalement par :

- Pour les souches à Gram positif, on distingue :
 - *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM).
 - *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides/ vancomycine (GISA/VISA).
 - Entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) et notamment les entérocoques résistants à la vancomycine (BHRe).
- Pour les souches à Gram négatif, on distingue :
 - Les Entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE).
 - Les Entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC).
 - *Pseudomonas aeruginosa* multirésistante (PAMR).
 - Entérobactéries résistantes aux β -lactamines par hyperproduction de céphalosporinases (EBCASE).
 - *Acinetobacter baumannii* multirésistant (ABMR) [132].

Les BMR sont l'une des principales causes des PAVM [133]. L'expansion de la résistance bactérienne ces dernières années, en particulier de la résistance aux céphalosporines de 3ème génération, fluoroquinolones et carbapénèmes [134] [135] augmente la morbidité et la mortalité liées aux infections nosocomiales, compliquant le traitement des patients infectés.

Une étude de l'OMS (organisation mondiale de santé) a ainsi conclu à un risque relatif de décès de l'ordre de 2 chez les patients infectés par des souches résistantes aux céphalosporines de 3ème génération d'*Escherichia coli*, par rapport aux patients infectés par des souches sensibles ; ce risque relatif était de 1.6 pour les SARM [134]. L'émergence récente de la résistance à la colistine parmi les bactéries à Gram négatives est notamment un problème majeur [136], la colistine étant un antibiotique de dernier recours utilisé en cas de multirésistance.

CHAPITRE IV :
Diagnostic
microbiologique
des
PAVM

Le diagnostic des PAVM est souvent difficile et subjectif.

La suspicion repose sur un faisceau d'arguments cliniques et radiologiques non spécifiques. Les recommandations préconisent, à chaque fois que cela est possible, de s'assurer de la présence d'arguments microbiologiques [137].

Le Diagnostic clinique et radiologique repose sur l'association d'un syndrome infectieux (fièvre ou hypothermie/leucopénie ou hyperleucocytose), d'une bronchorrhée purulente et d'une détérioration gazométrique, d'un syndrome alvéolaire ou alvéolo-interstitiel par apparition ou modification d'une image radiologique préexistante [138] [139].

Le diagnostic microbiologique est indispensable en raison de l'insuffisance des signes cliniques et radiologiques spécifiques de PAVM, de l'absence d'un gold standard, et de la nécessité de l'identification du microorganisme et l'étude de la sensibilité aux ATB nécessaire à l'adaptation du traitement.

Seules les techniques microbiologiques classiques (examen direct et culture) sont disponibles et validées [140].

IV.1.Prélèvements :

Face à une suspicion clinique de PAVM, la réalisation de prélèvements microbiologiques des voies aériennes reste essentielle pour le diagnostic et le choix du traitement des PAVM. Ils sont à réaliser dans l'idéal avant toute introduction ou modification de l'antibiothérapie.

On distingue deux catégories des prélèvements respiratoires :

- **Les prélèvements invasifs** : -lavage broncho alvéolaire (LBA),
-mini LBA,
-brossage télescopique protégé (BTP),
-prélèvement distal protégé (PDP)

- **Les prélèvements non invasifs** : -aspiration endotrachéale (AET) et expectorations.
Des hémocultures peuvent également être réalisées dans le diagnostic des PAVM [141].

IV.1.1.Lavage broncho alvéolaire (LBA) :

C'est la technique de prélèvement la plus complète. Le LBA est une procédure médicale principalement diagnostique, peu invasive, visant à échantillonner l'espace alvéolaire et bronchiolaire distal.

Le LBA consiste à injecter dans une bronche segmentaire du sérum physiologique stérile par l'intermédiaire d'un fibroscope souple. ensuite le liquide doit être ré-aspiré avec une pression d'aspiration modérée pour éviter le collapsus bronchique. Le volume instillé varie entre 50 et 200ml pour être représentatif de la cellularité de l'alvéole, liquide recueilli contient des éléments cellulaires libres mais peut également contenir, en fonction de la pathologie, des micro-organismes, des composants biochimiques ou des particules inorganiques [142] [143].

IV.1.2. Mini LBA :

Une méthode dérivée appelée mini-LBA consiste à recueillir un volume d'environ 20mL à l'aveugle via la sonde d'intubation également par un cathéter double lumière. Cette technique finalement peu évaluée ne présente pas d'avantage par rapport au PDP [144].

IV.1.3. Brossage télescopique protégé (BTP) :

Ce prélèvement invasif s'effectue sous fibroscopie, constitué d'une brosse protégée par un double cathéter obturé par un bouchon de polyéthylène glycol, évitant ainsi une contamination du prélèvement par la flore de l'oropharynx lors du passage des voies aériennes supérieures. Le volume recueilli est de 1 à 10 μ L. Le cathéter interne est ensuite désinfecté par de l'alcool à 90 °C, puis l'extrémité distale de la brosse interne est sectionnée avec des ciseaux stériles et recueillie dans 1 ml de liquide (eau physiologique tamponnée stérile) que l'on agite sur place au lit du malade pendant 2 minutes [145].

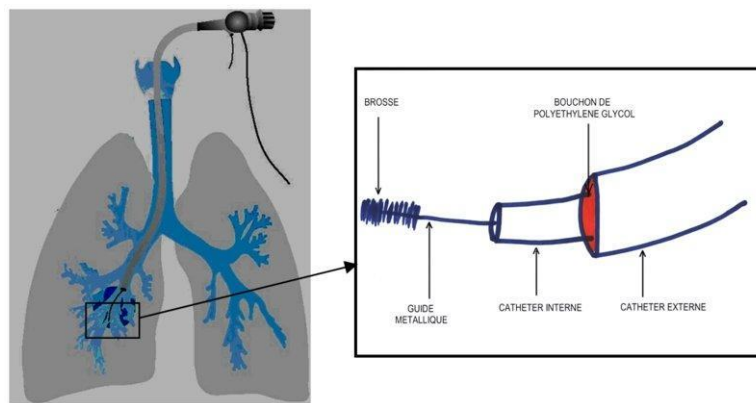


Figure 5 : Technique de brossage télescopique protégé [146].

IV.1.4. Prélèvement distal protégé (PDP) :

La sensibilité et spécificité du PDP sont proches de celles du LBA si le prélèvement est de bonne qualité, c'est une variante du brossage télescopique protégé avec moins d'effets secondaires [147].

Avec un seuil supérieur à 1000 UFC/ml, très sensible et surtout très spécifique, et permet de prélever dans la zone du poumon atteinte par la pneumopathie ce qui augmente la sensibilité du prélèvement. Mais l'inconvénient est le risque de complications surtout si patient instable: saignements, désaturations, bradycardie.

les sécrétions distales sont recueillies par aspiration à l'aveugle sans fibroscopie via un double cathéter dont la lumière interne est protégée par un bouchon hydrosoluble en polyéthylène glycol. le contenu de l'aspiration du cathéter interne est expulsé par une injection d'1mL de sérum physiologique et recueilli dans un pot adressé au laboratoire. L'extrémité du cathéter interne, découpée de façon stérile, peut également être déposée dans le pot [Annexe 4] [147].

IV.1.5. Aspiration endotrachéale (AET) :

L'aspiration endotrachéale des sécrétions bronchopulmonaires est une alternative chez les patients intubés ou trachéotomisés qui n'expectorent pas et chez lesquels des techniques invasives sont contre-indiquées. Elle est fréquemment réalisée en réanimation chez le patient intubé-ventilé.

Elle consiste à introduire une sonde d'aspiration stérile par la sonde d'intubation ou la canule de trachéotomie et à aspirer les sécrétions de l'arbre respiratoire dans un pot de recueil stérile. Cependant, elle manque de spécificité, en raison du risque de contamination par la flore salivaire qui colonise les sonde d'intubations endotrachéales [148] [149][150].

Tableau 3 : Caractéristiques des techniques de prélèvements microbiologiques [151].

Techniques de prélèvements	Sensibilité	Spécificité	Caractère invasif	Complications	Limites et/ou indications préférentielles
LBA	53–100 %	82–99 %	++	Pneumothorax Hypoxie Fièvre	Antibiothérapie préalable
BTP	70–100 %	95–100 %	++	Hypoxie Hémoptysie	Nécessite un fibroscope
PDP	80 %	66 %	+	Moins que BTP et LBA	Antibiothérapie préalable Caractère non dirigé
AET	82 %	83 %	+	Vomissements (non intubé) Contamination oropharyngée	Antibiothérapie préalable

IV.2. Transport et conservation :

Le recueil des prélèvements respiratoires s'effectue dans un récipient stérile, acheminé rapidement au laboratoire (idéalement en moins de 2 heures), afin d'éviter la prolifération des bactéries de la flore commensale et la diminution de viabilité du pneumocoque [152].

L'acheminement des échantillons pouvant contenir des bactéries sensibles au froid (par exemple, *Haemophilus*, *Neisseria*) doit être assuré à température ambiante de + 20° C.

IV.3. Examen macroscopique :

On note : -l'aspect (visqueux, salivaire, mucopurulent

-la couleur (verdâtre, rouille...).

Seules les AET sont concernés par l'examen macroscopique [152].

IV.4.Examen microscopique :

L'examen direct consiste à la recherche des bactéries par le microscope optique , se pratique sur les prélèvements avant la mise en culture.

L'examen direct peut comprendre la coloration de Gram, celle de May-Grunwald-Giemsa (MGG), la quantification des leucocytes, des cellules épithéliales squameuses ou ciliés.

L'interet de l'examen direct des sécrétions bronchiques pulmonaires est double :

- évaluer la qualité du prélèvement : après coloration au MGG, l'estimation du nombre des cellules épithéliales et des polynucléaires par moyenne de 10 champs, reflète le degré de contamination salivaire.

- Orienter le diagnostic étiologique : par la recherche des différents morphotypes bactériens par coloration de Gram La présence d'une flore monomorphe et/ou la présence de bactéries dans les polynucléaires sont des critères en faveur d'une infection [152].

La sensibilité de cet examen est cependant faible, le diagnostic définitif devra être apporté par d'autres techniques, dont la culture.

IV.5.Mise en culture :

La mise en culture doit se faire rapidement afin d'éviter la prolifération des commensaux et la perte de viabilité des pathogènes.

Divers milieux de culture sont utilisés qui doivent satisfaire les besoins nutritifs et énergétiques des bactéries à cultiver :

- milieux enrichis,
- milieux sélectifs qui permettent d'éliminer les bactéries de la flore commensale,
- milieux de base (Figure 6).

Après ensemencement, les divers milieux sont habituellement incubés dans une étuve ou une chambre chaude à 37°C, en atmosphère ambiante (culture aérobie) .De très nombreuses espèces bactériennes cultivent après 18 à 24 H d'incubation à 37°C [152].

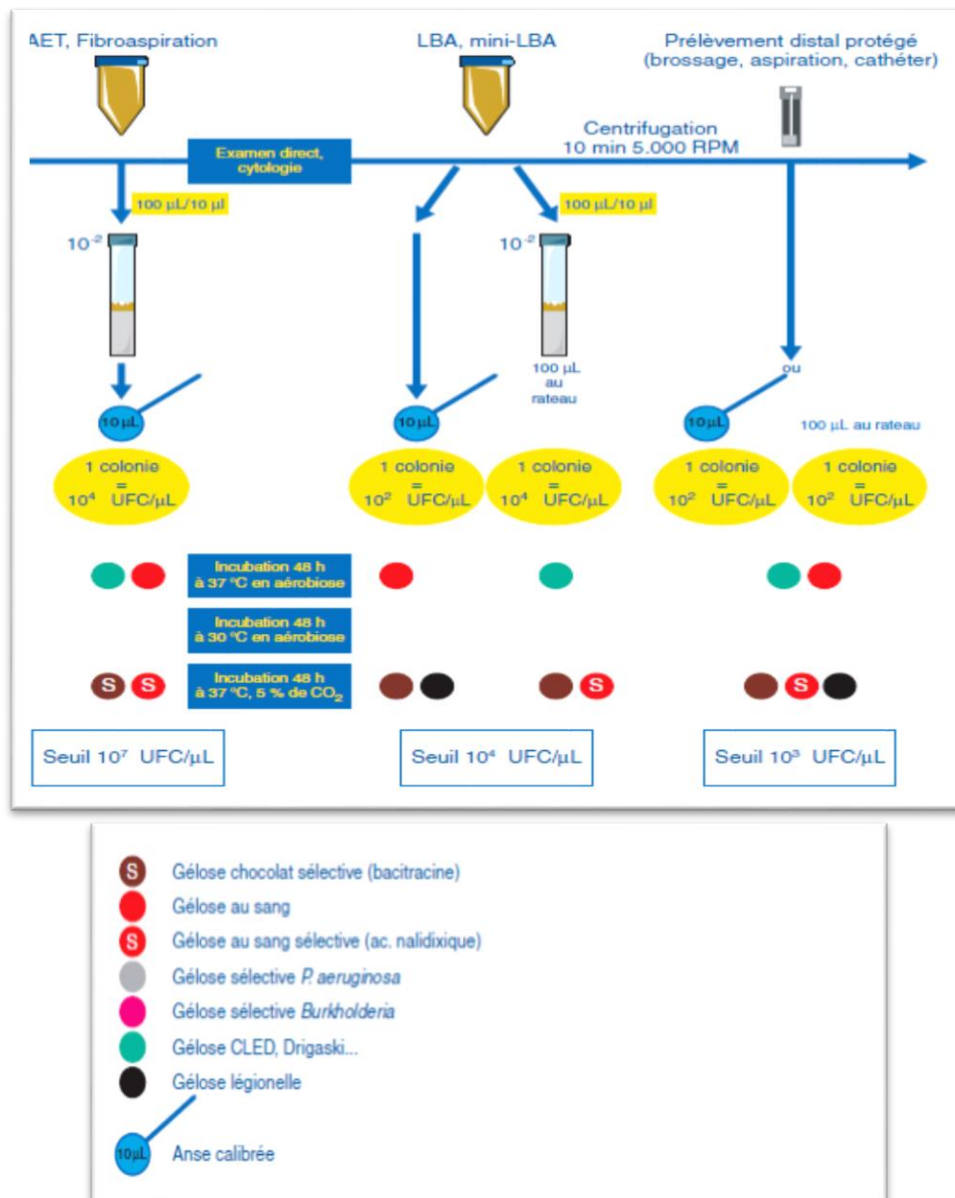


Figure 6 : Représentation des étapes de l'étude bactériologique des différents prélèvements des sécrétions bronchiques [153].

IV.6. Interprétation :

L'étude microscopique et la culture permet l'incrimination et l'identification de l'agent étiologique [152].

La numération quantitative et la détermination de seuil en UFC/mL sont nécessaires pour distinguer entre une infection pulmonaire et une colonisation de l'oropharynx permettant ainsi l'interprétation des résultats :

Les bactéries responsables des pneumonies sont présentes dans le tissu pulmonaire en concentrations supérieures à 10⁵ -10⁶ UFC/ml, alors que les contaminants sont généralement retrouvés en concentrations inférieures à 10⁴ UFC/ml [154].

Cependant, l'incrimination des bactéries isolées reste difficile à évaluer en raison de la colonisation trachéale fréquente par les *entérobactéries*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, ou *Staphylococcus aureus* chez les patient intubés [14].

Dans une culture polymicrobienne, il ne faut pas tenir compte de plus de deux espèces bactériennes [152].

Le seuil de significativité des cultures bactériennes est variable en fonction du type de prélèvement.

L'interprétation des résultats fait appel aussi à la confrontation avec les autres examens bactériologiques et les éléments cliniques [155].

Tableau 4 : Dilutions proposées pour la mise en culture et seuil de significativité selon le type de prélèvement [152].

Prélèvement	Dilution	Seuil de significativité
AET	$10^{-3}, 10^{-5}$	$\geq 10^5$ UFC/ml
LBA	$10^{-2}, 10^{-4}$	$\geq 10^4$ UFC/ml
PDP	Pur, 10^{-2}	$\geq 10^3$ UFC/ml

IV.7. Identification :

L'identification des colonies bactériennes se fait sur la base des caractères morphologiques (macroscopiques et microscopiques) et biochimiques (galeries d'identification, automates Phoenix®, Vitek2®).

En cas des pathogènes classiquement difficiles à cultiver et/ou à identifier, l'utilisation du MALDI-TOF a contribué à un grand essor dans l'identification et la détermination de la résistance des bactéries. Il s'agit d'une technique physique qui permet d'analyser et d'identifier les molécules par mesure de leur masse. Le MALDI-TOF possède des performances supérieures aux méthodes phénotypiques (C'est une technique rapide, résultat en quelques minutes) [Annexe 5] [156].

IV.8. Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

L'étude de la sensibilité aux ATB permet de classer les bactéries en sensibles, intermédiaires ou résistantes. Ces résultats sont obtenus à partir de l'antibiogramme, la recherche de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ou bien de tests complémentaires pour certaines bactéries.

IV.8.1. Antibiogramme standard :

L'antibiogramme permet de mesurer de la sensibilité d'une souche bactérienne à un ou plusieurs ATB et en classant les souches bactériennes en Sensibles, Intermédiaires ou Résistantes (S, I ou R). L'antibiogramme permet également le dépistage des résistances acquises et la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne qui orientera vers l'antibiothérapie probabiliste.

Le milieu utilisé pour antibiogramme est Mueller Hinton (MH) (simple ou enrichi au sang), dont la composition est proche de celle des liquides biologiques, de ce fait l'activité des antibiotiques in vivo est comparable à celle obtenue in vitro après diffusion sur la gélose. À partir d'une suspension bactérienne d'une opacité ou densité optique bien définie, on réalise des stries serrées à l'aide d'un écouvillon [157] [Annexe 6].

L'antibiogramme de la majorité des bactéries habituelles est alors précisé dans un délai de 18-24 h. [158]. puis la lecture se fait en mesurant le diamètre autour des disques [157] [Annexe 7].

IV.8.2. Détermination de la CMI :

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'ATB nécessaire pour inhiber la croissance visible d'une bactérie après 24 heures d'incubation. Parfois, et pour certaines espèces bactériennes l'antibiogramme à lui seul ne suffit pas à la détermination de la sensibilité à un antibiotique donné. La détermination de la CMI semble alors indispensable. Celle-ci peut être réalisée en milieu liquide, en milieu solide, ou par bandelettes imprégnés d'un gradient d'ATB [158] [157] [Annexe 7] [Annexe 8].

IV.8.3. Tests complémentaires :

Parfois les résultats de l'antibiogramme ne suffisent pas pour catégoriser une souche par rapport à un ATB ou une famille d'ATB. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour bien identifier la souche bactérienne [157].

IV.8.3.1. Recherche des BLSE chez les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* spp :

Une BLSE est recherchée devant toute diminution de diamètre au tour de : cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone et aztréonam.

a- Test de synergie :

Il consiste à observer dans les conditions standards de l'antibiogramme l'image de synergie (image en bouchon de champagne) entre un inhibiteur de bêtalactamase (l'acide clavulanique) et une C3G par dépôt des disques choisis à 30 mm de distance [157].

• Chez les entérobactéries :

Un disque d'acide clavulanique + amoxicilline est mis à 30 mm d'un disque de C3G (cefotaxime ou ceftriaxone).

• Chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. :

Un disque d'acide clavulanique + ticarcilline est mis à 30 mm d'un disque de ceftazidime, aztréonam, ou céfépime.

b- Test de confirmation ou test du double disque :

En cas d'absence de synergie entre les disques d'inhibiteur et de la C3G, il y'a lieu de réaliser le test de confirmation. Il consiste à déposer un disque d'inhibiteur de bêtalactamase à 25 mm (30 mm pour les entérobactéries) d'un disque de C3G. Puis remplacer le disque de l'inhibiteur après une heure par un disque de la même C3G.

Une augmentation \geq à 5 mm du diamètre d'inhibition au tour du C3G, appliqué après diffusion de l'inhibiteur par rapport à celui de l'autre C3G est en faveur de la présence d'une BLSE [157].

c- Test à la cloxacilline :

L'hypersécrétion de céphalosporinase peut être confondue avec la production d'une BLSE. La cloxacilline est utilisée comme un inhibiteur de céphalosporinase. Elle reste inactive sur les pénicillinases des BGN. L'antibiogramme est réalisé sur milieu Mueller Hinton additionné de la cloxacilline. Après incubation, l'antibiogramme est comparé à celui réalisé en l'absence de la cloxacilline [157].

IV.8.3.2. Recherche de la production de carbapénèmases :

La production de carbapénémase est suspectée à partir de l'antibiogramme devant toute souche de sensibilité diminuée (I/R) à au moins un des carbapénèmes (méro-pénème, doripénème, et IMP ≤ 22 mm, értapénème (ETP) ≤ 21 mm)

La recherche de carbapénèmases est réalisée par des méthodes phénotypiques et génotypiques [157].

IV.8.3.3. Recherche de la résistance du *Staphylococcus aureus* à l'oxacilline :

La détection de la résistance à l'oxacilline par production de protéine de liaison à la pénicilline PLP se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme, en testant un disque de céfoxitine qui est un marqueur de substitution à l'oxacilline [157].

Si le diamètre autour de la céfoxitine est ≥ 22 mm, la souche est sensible à l'oxacilline.

Si le diamètre autour de la céfoxitine est ≤ 21 mm, la souche est résistante à l'oxacilline.

IV.8.3.4. Recherche de *Staphylococcus* spp. de sensibilité diminuée aux glycopeptides :

La résistance aux glycopeptides est détectée en deux étapes :

- **Screening** : 3 techniques peuvent être utilisées [Annexe 9].
- **Confirmation** : La confirmation est réalisée par :
 - CMI en milieu gélosé ;
 - E-test [157].

IV.9. Biologie moléculaire :

Le diagnostic moléculaire fait référence à des méthodes de détection et d'analyse du génome d'un organisme. Les premières méthodes d'analyse de l'ADN existaient dans les années 1970, mais le développement de la PCR, vers la fin des années quatre-vingt, a démocratisé leur application. Peu de temps après, la possibilité d'amplifier l'ADN et l'ARN fut utilisée pour la détection des agents pathogènes. 30 ans plus tard, la PCR est devenue un pilier des laboratoires de microbiologies [159].

La PCR en temps réel est en général la méthode la plus sensible et la plus rapide donnant un résultat en moins de 24 heures. La valeur prédictive négative de ces tests est généralement excellente et peut réduire la consommation inutile d'antibiotiques prescrits empiriquement [160] [161].

L'analyse d'échantillons par la biologie moléculaire passe par trois étapes :

1. Extraction de l'ADN et / ou l'ARN de l'échantillon d'origine;
2. Amplification par PCR de la séquence ADN / ARN cible du pathogène ;
3. Détection des produits de l'amplification.

En plus leur grande rapidité par rapport à la culture, les méthodes basées sur la PCR ont également une spécificité et une sensibilité très élevées par rapport aux méthodes traditionnelles [162].

Il existe cependant actuellement une technique de PCR rapide, presque complètement automatisée, qui permet de rechercher en moins de 2 heures (délai théorique) la présence d'ADN de *Staphylococcus aureus*, sensible à l'oxacilline (SAMS) ou résistant à l'oxacilline (SAMR), dans des prélèvements respiratoires de patients présentant une pneumopathie acquise sous ventilation. Dans ces conditions, les valeurs prédictives négatives, sur LBA ou PDP, sont respectivement de 99,7 % et 99,8 % pour SAMS et SAMR [164] [165].

Une étude a été réalisée afin d'évaluer la performance d'une PCR multiplex The LightCycler SeptiFast® pour identifier la présence de pathogènes dans le LBA [166], les auteurs ont comparé les résultats microbiologiques obtenus après examen direct, culture standard et PCR sur le LBA. Le taux d'identification des microorganismes pathogènes était significativement supérieur par méthode PCR (82 %) en comparaison avec la culture standard (35 %) et l'examen direct (21 %). L'identification des pathogènes par PCR n'était pas modifiée par l'exposition préalable aux ATB et était significativement supérieure chez ces patients en comparaison avec la culture standard [167].

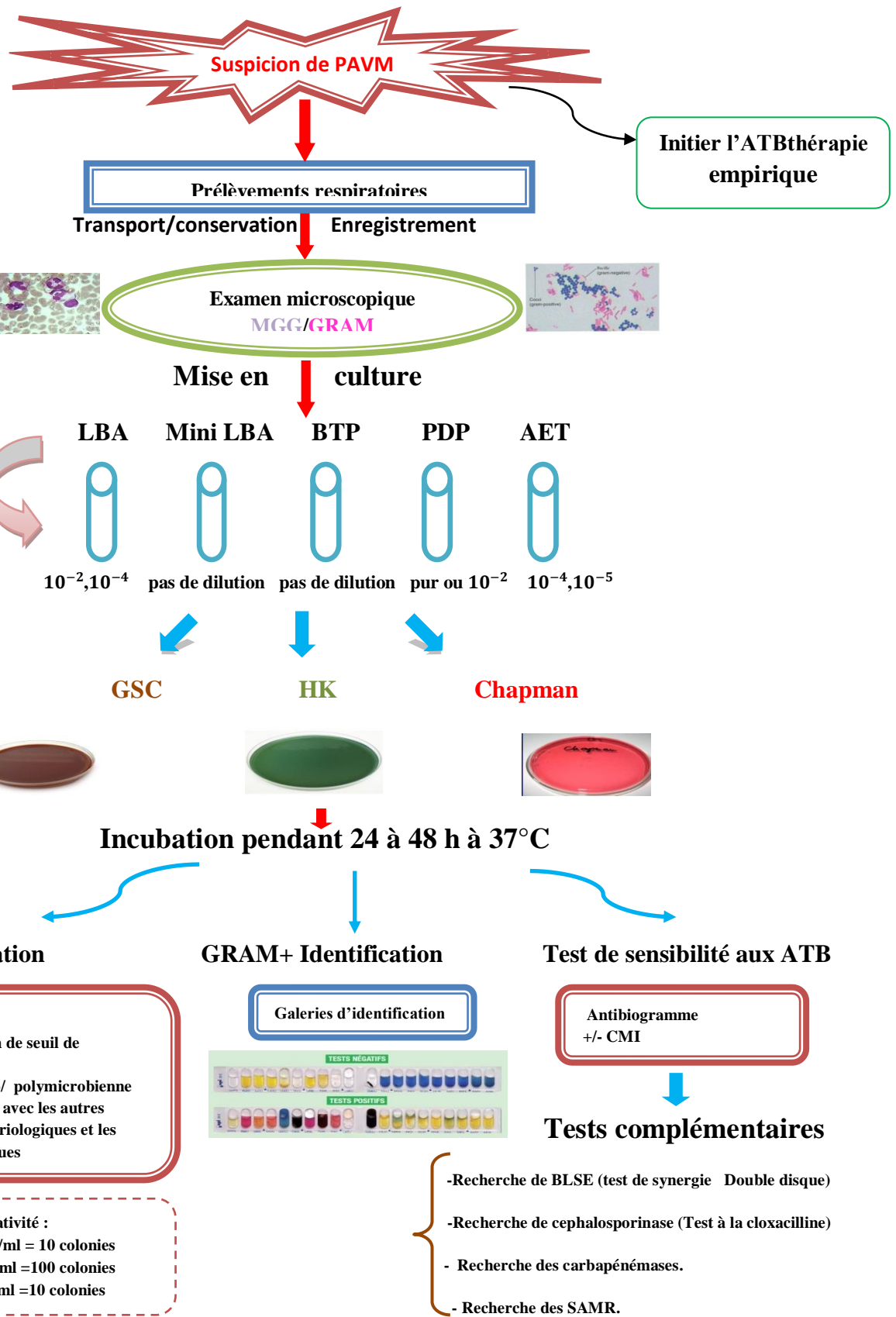


Figure 7: Schéma générale de démarche de diagnostic des PAVM (originale).

CHAPITRE V :
Traitement
et
prévention
des
PAVM

V.1.Traitement :

Le traitement des PAVM demeure compliqué par l'influence respective de trois facteurs : la disponibilité de nouveaux agents anti-infectieux, le développement de la résistance des microorganismes et la volonté des cliniciens d'utiliser des thérapeutiques ayant un rapport coût-efficacité raisonnable [168].

La stratégie thérapeutique se base essentiellement sur l'antibiothérapie probabiliste, suivie d'une antibiothérapie adaptée selon les résultats de l'antibiogramme. Cependant, chez près de 50% des patients en réanimations, le choix probabiliste des antibiotiques est, en fait, inapproprié aux germes retrouvés [169].

De nos jours, les BMR sont de plus en plus isolés dans les unités de soins intensifs, laissant peu de choix thérapeutique aux cliniciens. Le traitement de la PAVM se limite depuis de nombreuses années à la vancomycine ou au linézolide pour le SARM et aux bêtalactamines ou aux carbapénèmes actifs sur *Pseudomonas aeruginosa* (avec ou sans aminoglycoside ou fluoroquinolone) pour les BGN [170].

V.1.1. Traitement probabiliste :

Devant une suspicion de PAVM, l'antibiothérapie probabiliste est mise en place le plus tôt possible, le pronostic étant lié à la précocité de la mise en route du traitement [171]. Les modalités de prescription de cette antibiothérapie probabiliste ont été décrites dans les recommandations de l'ATS (American Thoracic Society) et celles de l'IDSA (Infectious Diseases Society of America) en 2005 et reposaient sur un faisceau d'arguments [172]:

- Le type de Réanimation
- L'écologie bactérienne du service d'hospitalisation
- Une exposition aux antibiotiques récente
- La durée de ventilation
- Les facteurs de risque de BMR, notamment les bacilles à Gram négatif non fermentant dont *Pseudomonas aeruginosa*.

Il est conseillé d'associer de 2 à 3 antibiotiques pour couvrir à la fois *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et les autres bacilles à Gram négatif. [173]. En revanche dans les autres cas, et en absence d'immunodépression sous-jacente, le traitement probabiliste doit consister en une monothérapie.

En pratique, il y a deux stratégies thérapeutiques :

- **Le traitement des PAVM précoces** (survenant en dehors de tout facteur de risque de BMR et de choc septique) : Monothérapie par :
Bêtalactamine inactive contre *Pseudomonas aeruginosa* : Amoxicilline/acide

clavulanique ou céphalosporine de troisième génération (par exemple céfotaxime), (Lévofoxacine si allergie aux bêtalactamines).

- **Le traitement des PAVM tardive** (survenant sur un terrain de facteurs de risque de BMR) : Bithérapie par :
Bêtalactamine active contre *Pseudomonas aeruginosa* : céfepime ou ceftazidime ou pipéracilline/tazobactam (Imipénème/cilastatine ou méropénème si portage de BLSE)
+ Aminoglycoside ou fluoroquinolone active contre *Pseudomonas aeruginosa* : Amikacine ou ciprofloxacine (Aztréonam + clindamycine si allergie aux bêtalactamines) [174].

Dans tous les cas, l'antibiothérapie probabiliste initiale doit être secondairement adaptée aux résultats des cultures obtenues (J2-J3) et, si possible, réduite en terme de spectre en fonction des données de l'antibiogramme si l'évolution s'avère favorable [175].

V.1.2.Traitement adapté :

Le traitement est adapté selon les résultats de l'antibiogramme.

Les ATB doivent être réduits en toute sécurité dès que les résultats microbiologiques sont disponibles, avec un arrêt après 7 jours en fonction de l'amélioration des marqueurs cliniques et biochimiques [176] [177] [178].

L'antibiothérapie choisie est réévaluée après 48 heures, on procède soit à :

1- la désescalade : Cette désescalade comprend à la fois une réduction de spectre antibiotique (passage à une monothérapie de spectre le plus étroit possible) et une réduction de la durée de traitement [179]. Cette mesure n'a pas seulement l'avantage de réduire la consommation d'antibiotiques [180], mais également d'éviter l'émergence des résistances, cependant, elle s'avère difficile à appliquer quand on s'adresse à des PAVM tardives ou liées à des BGN non fermentant [181].

2-l'arrêt de l'antibiothérapie : en l'absence de confirmation du diagnostic.

V.2.Prévention :

V.2.1.Mesures universelles et standards :

Les principales mesures générales reconnues comme efficaces incluent :

- l'hygiène des mains, des gants doivent être utilisés pour tout contact avec les liquides biologiques, le matériel non contaminé et les muqueuses .ils doivent être changés entre chaque patient et entre deux tâches chez un même patient.
- Le port de masque et de lunettes est impératif dans les situations où il existe un risque d'aérosol et de gouttelettes à partir de liquides. Des tabliers efficaces doivent être portés en cas de risque de projections.
- un personnel qualifié et suffisant en nombre, l'actualisation de la formation, l'organisation du travail, les mesures d'isolement des malades, la surveillance des IN et une politique de contrôle de l'emploi des antibiotiques [182].

V.2.2.Mesures spécifiques :

Les mesures plus spécifiques de prévention des PAVM font le plus souvent partie des protocoles de soins implantés dans les programmes multi interventionnels de prévention [183] [184].

V.2.2.1.Réduction de la durée de la VM :

La réduction de la durée de ventilation invasive (VI) diminue significativement le risque d'infection [185].

Plusieurs approches sont possibles pour tenter le raccourcissement de la durée de la ventilation invasive (VI) : une interruption programmée de la sédation, une évaluation quotidienne de la serviabilité du patient ou une extubation précoce et relais par la ventilation non invasive (VNI) [185] [186].

Pour certains auteurs la voie orale est associée à une réduction du risque de PAVM. Le non recours à l'intubation (invasive) et son remplacement dans certaines circonstances par des modalités de ventilation non invasives bien conduites, conduit à une diminution du risque de PAVM par non exposition au facteur de risque qu'est la présence d'une prothèse trachéale.

V.2.2.2.Prévention de la colonisation de la sonde :

L'utilisation de sondes d'intubation imprégnées par des sels d'argent peut réduire la fréquence des PAVM. Les ions argent libérés lentement dans le milieu par la sonde ont un important effet antibactérien [187]. La kinésithérapie, ou les mesures facilitant la toux, visant à améliorer le drainage des sécrétions bronchiques seront favorisées [182].

V.2.2.3.Réduction des micro-inhalations :

a-Drainage des sécrétions sous-glottiques :

Le drainage des sécrétions sous glottiques est fondé sur l'hypothèse d'une accumulation des sécrétions oropharyngées dans l'espace sous glottique au-dessus du ballonnet de la sonde, favorisant des micro-inhalations répétées des sécrétions oropharyngées et/ou gastriques. Les premières études ont montré l'importance du drainage dans la réduction du taux de PAVM [188].

b- Contrôle de la pression du ballonnet :

La pression du ballonnet de la sonde d'intubation endotrachéale joue un grand rôle dans la prévention des inhalations de sécrétions trachéales et du liquide gastrique. Elle doit être maintenue entre 20 et 30 cm H₂O [189].

c-Position de la tête du lit :

La mise des malades de réanimation en position demi-assise est la mesure la plus simple pour prévenir la survenue de pneumopathies, même si elle peut poser des problèmes pratiques, en particulier chez les malades très instables. Les mesures visant à éviter le reflux de liquide gastrique et réduction des inhalations du contenu gastrique .

Torres et al ont mis en évidence que la position en décubitus dorsal strict et la durée pendant laquelle le patient était maintenu dans cette position étaient associées à un risque majeur de reflux gastro-orotrachéal et ainsi la survenue des PAVM [190].

d - Changement des circuits du ventilateur :

Les circuits des respirateurs doivent être stérilisés entre chaque patient et le système maintenu clos lors de la ventilation. Le changement de circuit se fait toutes les 48 heures selon les recommandations du centre de contrôle des maladies (CDC).

Craven et al, ont démontré une réduction de PAVM avec les changements toutes les 48 heures [191].

V.2.2.4.Limitation de la colonisation :

a-Décontamination orale par des antiseptiques :

La réduction de la colonisation oropharyngée obtenue par l'amélioration de l'hygiène oropharyngée est apparue comme une cible potentielle dans la prévention des PAVM.

Les mesures proposées pour améliorer l'hygiène buccodentaire ont inclus essentiellement l'utilisation de solutions de rinçage contenant un antiseptique, en particulier la chlorhexidine

(CHX), des gels à la chlorhexidine, le brossage des dents manuel ou électrique, lavage de la bouche (eau, sérum salé), bains de bouche [192] [193].

b-Décontamination digestive sélective (DDS) et décontamination orale :

La décontamination digestive sélective associée à l'administration d'un traitement antibiotique court par voie orale est une méthode qui semble réduire l'incidence des PAVM, elle est loin d'être recommandée de façon systématique, en partie en raison du risque d'augmentation des résistances bactériennes à long terme [194].

c- Probiotiques:

Les probiotiques sont des microbes d'origine humaine qui procurent un bénéfice à l'hôte lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate.

L'utilisation de ces agents pourrait être intéressante pour modifier la flore des patients ventilés et réduire le risque de PVMM [195].

d- Arrêt de la prophylaxie antiulcéreuse :

L'utilisation des médicaments antiulcéreux a été identifiée comme un facteur de risque majeur des PAVM, puisque les médicaments antiulcéreux augmentent le pH gastrique, ce qui altère les mécanismes de défense immunologique fournie par l'acide gastrique, il paraît donc raisonnable de limiter l'emploi d'une prophylaxie de l'ulcère de stress aux malades ayant un véritable risque hémorragique, et dans ce cas de préférer le Sucralfate aux autres médicaments antiulcéreux [196].

Etude pratique

I-Problématique :

Les infections nosocomiales constituent un problème réel de santé publique du fait de leur fréquence croissante, de leur gravité et de la multirésistance des germes en cause, ils sont à l'origine d'un accroissement du risque de morbidité, de mortalité, d'une augmentation de la durée de séjour et d'un surcoût hospitalier [197] [198].

L'OMS estime que 1,4 millions de personnes souffrent à tout moment d'une infection nosocomiale [199].

Les PAVM figurent au second rang des infections nosocomiales, après les infections urinaires et au premier rang en réanimation [200].

Elle est retrouvée chez environ 8 à 28 % des patients ventilés [201] [202].

La mortalité attribuable à la PAVM varie de 33 à 50 selon certaines études cas témoins et pouvant atteindre jusqu'à 80 en cas de pneumopathie à bacilles à Gram négatif [203][204].

Le diagnostic de PAVM reste un challenge, puisqu' il repose actuellement sur une multitude de critères cliniques, biologiques et radiologiques dont l' utilisation est recommandée par des sociétés savantes [205] [206]. Toutefois, la performance diagnostique de ces critères utilisés seuls ou combinés en score reste faible [207].

Le diagnostic microbiologique est indispensable pour la confirmation des PAVM en raison de l'insuffisance des signes cliniques et radiologiques spécifiques et de la nécessité de l'identification du microorganisme et l'étude de la sensibilité aux ATB pour l'adaptation du traitement. Mais il reste difficile et l'antibiothérapie préalable rend le diagnostic encore plus difficile [207].

Lors de la prise en charge des PAVM, les cliniciens sont confrontés à un dilemme : entre la nécessité de prescription d'une antibiothérapie empirique appropriée et le souci d'éviter l'émergence de bactéries multirésistantes [208] [209].

Dans le cadre de cette étude ,réalisée en collaboration avec les réanimateurs , nous avons souhaiter faire un état des lieux de l'épidémiologie et la microbiologie des PAVM diagnostiquées à l'unité de réanimation polyvalente du CHU BLIDA dans le but de contribuer à l'amélioration de la prise en charge des patients et des pratiques professionnelles .

II-Objectifs de l'étude :

- Identifier les bactéries responsables des PAVM.
- Etudier la résistance aux antibiotiques des principales étiologies bactériennes isolées et des bactéries multi résistantes impliquées.
- Etudier les co-morbidités des PAVM.

III-Présentation de l'étude.

III.1. Type et durée de l'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique descriptive sur une période de 03 ans , allant du 1 janvier 2018 au 31 décembre 2020 , réalisée au niveau de l'unité de microbiologie du laboratoire central du CHU BLIDA en collaboration avec l'unité de réanimation polyvalente du même établissement.

III.2. Population de l'étude :

Les patients hospitalisés dans l'unité de réanimation polyvalente subissant une ventilation mécanique sur sonde endotrachéale ou canule de trachéotomie.

III.3. Critères d'inclusion :

-Patient sous ventilation mécanique et ayant subi d'un prélèvement distal protégé à visée diagnostique bactériologique.

III.4. Critères d'exclusion :

-Les patients ayant une pneumonie diagnostiquée avant la mise en place d'une ventilation mécanique.

-Les patients dont les données cliniques et para cliniques sont incomplètes.

Durant la période d'étude, **321** patients suspectés de PAVM ont bénéficiés d'un PDP. Nous avons retenus uniquement **113** patients qui (**184 PDP**) possèdent un dossier médical complet.

IV. Matériels et méthodes :

IV.1 .Matériel : Fiche de renseignements :

Nous avons établi une fiche de renseignements pour collecter les données des patients :

- nom et prénom du patient.
- données démographiques (âge, sexe)

- motif d'hospitalisation, comorbidités,
- Signes cliniques et biologiques.

Fiche de renseignements

Centre Hospitalo-universitaire de Blida

Laboratoire Central

Unité de Microbiologie

N° d'identification au laboratoire :

- **Nature du prélèvement** :
- **Date et heure du prélèvement** : / / ÂH.

Données du patient

- Nom et Prénom :
- Age :
- Sexe :
- Adresse :
- N° de téléphone :

Données relatives à l'hospitalisation

- Motif d'hospitalisation
- Comorbidités :
- Date d'admission :
- Date de ventilation :
- Durée de ventilation :
- Infections associées :
- Devenir du patient :

Données cliniques et biologiques

- Température : Fièvre
Hypothermie
- Sécrétions trachéales : Absence
Non purulente
Purulente
- Leucocytes : Hyperleucocytose
Hypoleucocytose
- Radiographie du thorax : Pas infiltrat
Infiltrat diffus
Infiltrat localisé

Antécédents médicaux

- Aucune :
- HTA :
- Diabète :
- Asthme :
- BPCO :
- AVC :
- Autres :

IV.2 .Méthodes : Etude des dossiers médicaux :

Nous avons analysé les données recueillies par le logiciel informatique Excel.

-les étapes de démarche du diagnostic microbiologique ont été détaillées dans la partie revue de la littérature.

V. Résultats :

Notre étude porte sur **113** patients qui dans le cadre du diagnostic d'une PAVM ont bénéficiés de **184 PDP** : **68.14%** (77/113) ont bénéficié d'un seul prélèvement, **17,7%** (20/113) de deux, **7,08%** (8/113) de trois, **4,42%** (5/113) de quatre, **0,88%** (1/113) de cinq, **0,88%** (1/113) de six et **0,88%** (1/113) de 12.

V.1.Caractères de la population :

V.1.1. Répartition des cas de PAVM selon le sexe :

On note une prédominance du sexe masculin **74,34%** (84/113), le sexe féminin présente **25,66%** (29/113). Le sexe ratio **H/F** est de **2,89**.

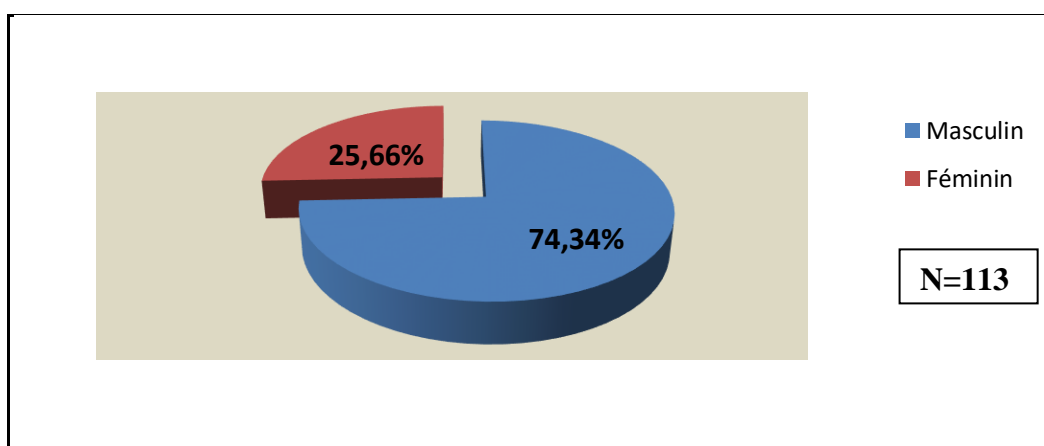


Figure 8 : Répartition des cas de PAVM selon le sexe au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).

V.1.2. Répartition des cas de PAVM par tranche d'âge :

Les patients dont l'âge appartient à l'intervalle **[60 – 70 ans]** sont les plus touchés par les PAVM. La moyenne d'âge des patients est de **45** ans avec des extrêmes d'âge allant de 16 mois à 87 ans.

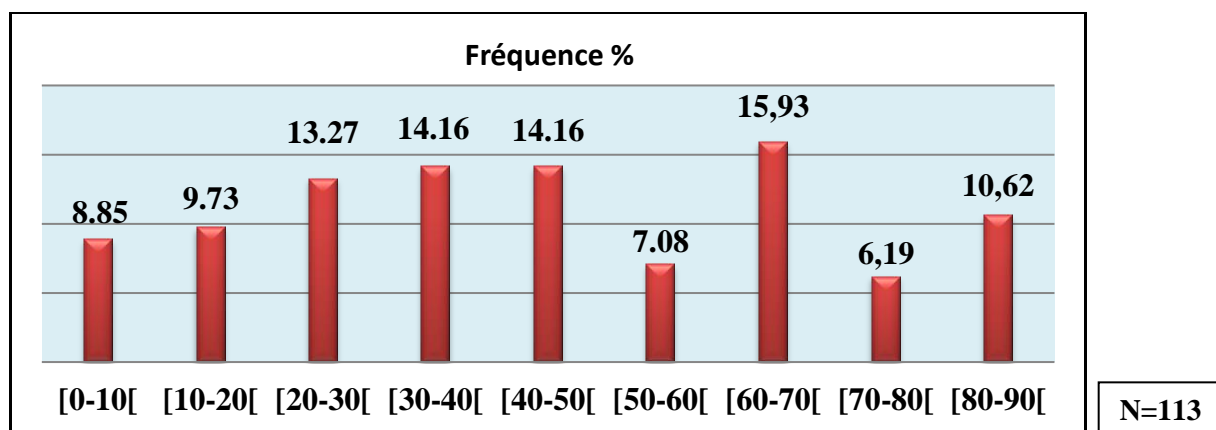


Figure 9 : Répartition des cas des PAVM par tranche d'âge dans l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).

V.1.3. Répartition des cas de PAVM en fonction du motif d'hospitalisation :

Le polytraumatisme représente le premier motif d'hospitalisation avec un pourcentage de **38,05%** (43/113), suivi par accident vasculaire cérébrale (AVC) **19,46%** (22/113) puis les troubles de conscience à **8,85%** (10/113).

Tableau 5 : Répartition des cas de PAVM en fonction du motif d'hospitalisation au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).

Motif d'hospitalisation	Nombre	Fréquence %
Poly traumatisme	43	38,05%
Accident vasculaire cérébrale (AVC)	22	19,46%
Trouble de conscience	10	8.85%
Détresse respiratoire	7	6.19%
Arrêt cardiaque	4	3.54%
Méningo-encéphalite	4	3.54%
Etat de mal épileptique	3	2.65%
Polyradiculonévrite aiguë (PRNA)	3	2.65%
Intoxication médicamenteuse	2	1.77%
Troubles veineux compliqués	2	1.77%
Pneumopathies	2	1.77%
Broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO)	2	1.77%
Choc septique	2	1.77%
Œdème aiguë pulmonaire (OAP)	2	1.77%
Tumeur cérébrale	1	0.88%
Noyade	1	0.88%
Asthme	1	0.88%
Crise myasthénique avec trouble bulbaire	1	0.88%
Emphysème pulmonaire	1	0.88%
Total	113	100%

V.1.4. Répartition des cas de PAVM en fonction du Terrain :

Chez les 113 patients, **54,87%** (62/113) ne présentent pas d'antécédents pathologiques particuliers, **19,47%** (22/113) souffrent d'hypertension artérielle (HTA), **12,39%** (14/113) d'un diabète, **4,42%** (5/113) d'Asthme, **5,31%** (6/113) de troubles psychiatrique et **3,55%**(4/113) de toxicomanie, goitre, épilepsie et cardiopathies.

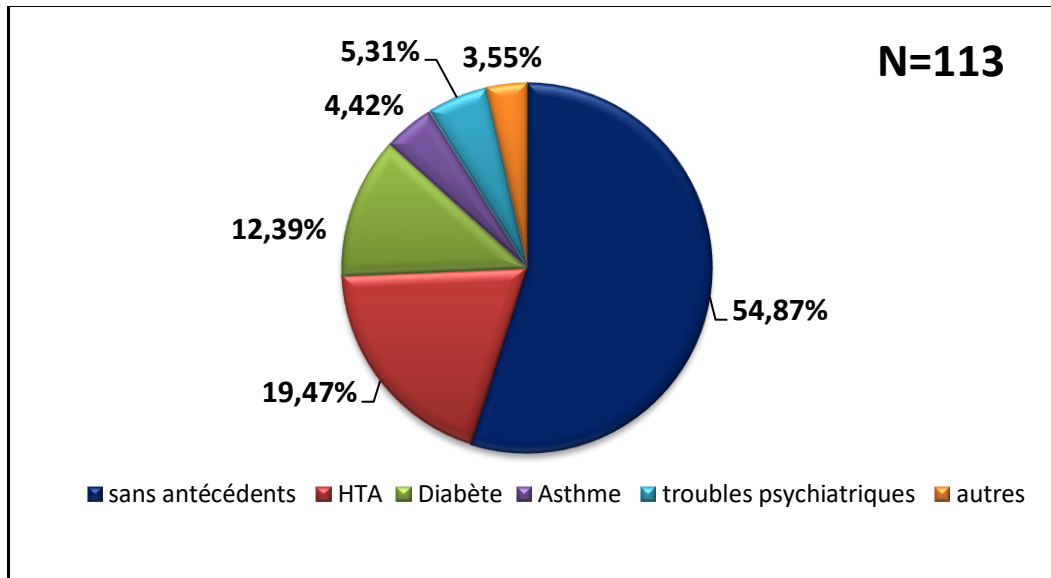


Figure 10 : Répartition des patients selon le terrain.

V.1.5. Infections associées :

Sur les **82** patients ayant développés une PAVM, **75,6%** (62/82) n'ont pas développé d'infections associées, **14,63%** (12/82) ont développé une bactériémie, **2,43%** (2/82) une infection urinaire et **7,31%** (6/82) une PAVM + une bactériémie + une infection urinaire.

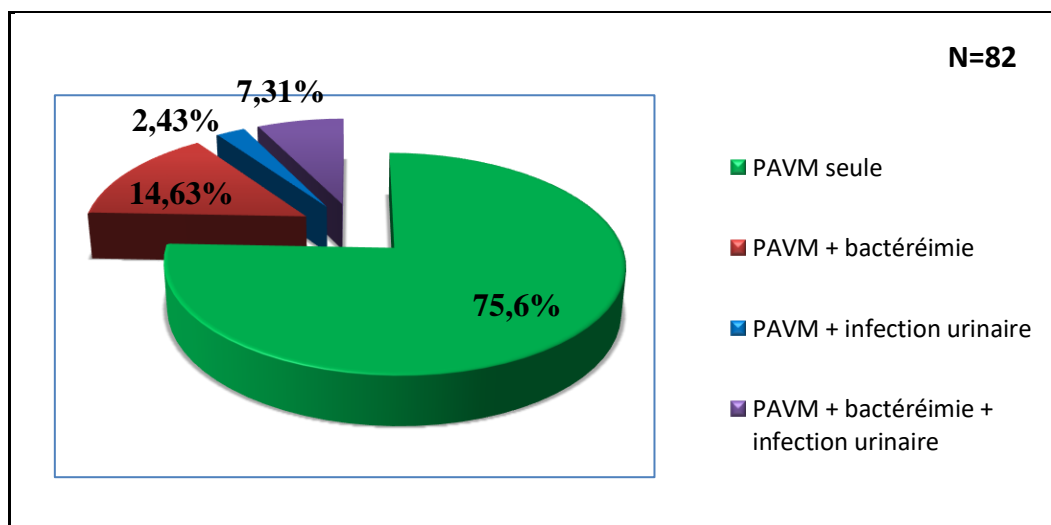


Figure 11 : Répartition des patients selon les infections associées.

V.1.6. Devenir des patients :

Plus de moitié des patients sont décédés **67,26%**(76/113), **31,86 %**(36/113) se sont rétablis et **0.88%** (1/113) ont été transférés aux autres services.

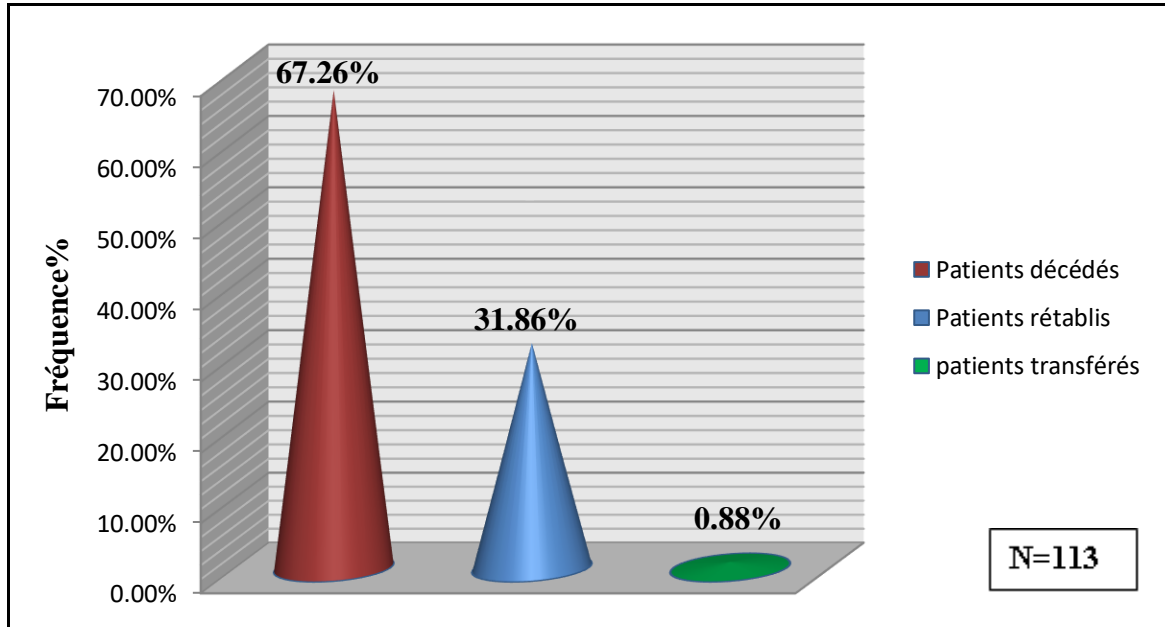


Figure 12 : Devenir des patients atteints de PAVM à l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/20).

V.2. Résultats de l'étude bactériologique :

V.2.1. Résultats de la culture bactérienne :

La culture bactérienne des **184 PDP** est positive dans **64,67%** (119/184) des cas, négative dans **30,98%** (57/184) des cas et contaminé dans **4,35%** (8/184) des cas.

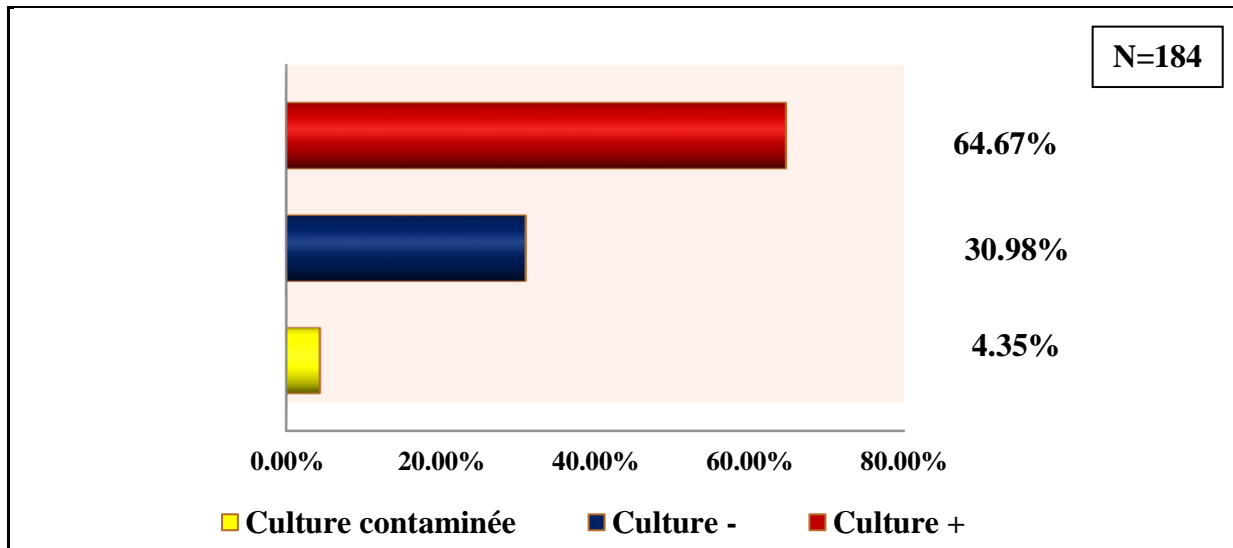


Figure 13 : Répartition des résultats de culture des PDP réalisés chez les patients sous ventilation mécanique à l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).

Parmi les **119** cultures positives on a : **54,6%** (65/119) de cultures monomicrobiennes, **37%** (44/119) de cultures bimicrobiennes et **8,4%** (10/119) cultures trimicrobiennes.

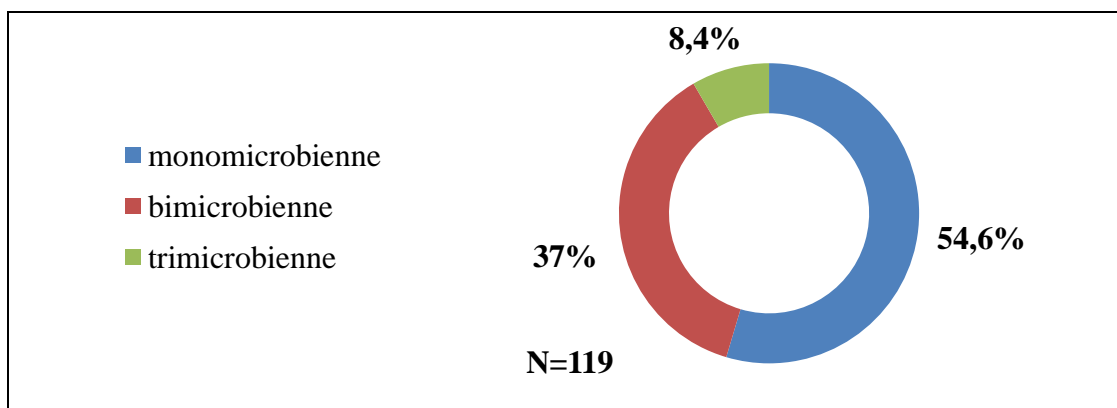


Figure 14 : Répartition des résultats des cultures positives des PDP chez les patients sous ventilation mécanique à l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).

V.2.2. Nombre de cas de PAVM confirmés par la culture bactérienne :

La PAVM est confirmée chez **75,56%** (82/113) des patients.

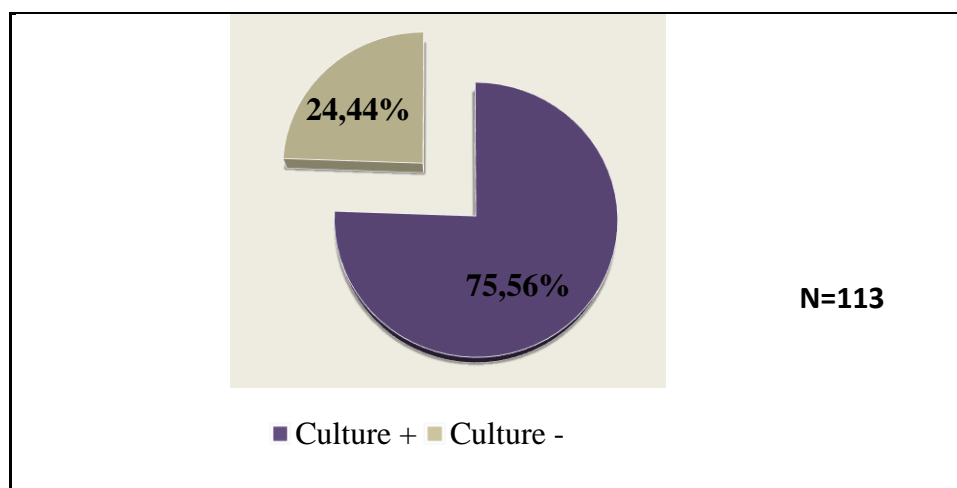


Figure 15 : Nombre de cas de PAVM confirmés par la culture bactérienne des PDP chez les patients sous ventilation mécanique à l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/20).

V.2.3. Répartition des cas selon le délai d'apparition des PAVM (précoces /tardives) :

Chez les 82 patients ayant développé une PAVM, **34,15%** (28/82) des cas sont de caractère tardif, et **65,85%** (54/82) des cas sont de caractère précoce.

Tableau 6 : Répartition des cas selon le délai d'apparition de la PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).

PAVM	Nombre	Fréquence %
Précoce	54	65,85%
Tardive	28	34,15%
Totale	82	100%

V.2.4. Etiologies bactériennes des PAVM :

183 étiologies bactériennes sont isolées à partir des PDPensemencés.

On constate la prédominance de l'*Acinetobacter baumannii* avec **24,01%** (44/183), suivie de *Klebsiella pneumoniae* **18,58%** (34/183), *Pseudomonas aeruginosa* **15,85%** (29/183) et du *Staphylococcus aureus* **11,48%** (21/183) et *Haemophilus spp* en 5^{ème} position avec **8,74%** (16/183). *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* et les autres entérobactéries sont rarement isolées.

Tableau 7 : Répartition des étiologies bactériennes des PAVM chez les malades sous ventilation mécanique au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).

Etiologie	Nombre	Fréquence
<i>Acinetobacter baumannii</i>	44	24,01%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34	18,58%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29	15,85%
<i>Staphylococcus aureus</i>	21	11,48%
<i>Haemophilus spp</i>	16	8,74%
<i>Serratia marcescens</i>	8	4,37%
<i>Escherichia coli</i>	5	2,73%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4	2,19%
<i>Proteus mirabilis</i>	3	1,64%
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	1,64%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	1,09%
<i>Providencia stuartii</i>	2	1,09%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2	1,09%
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	1,09%
<i>Enterobacter spp</i>	1	0,55%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	0,55%
<i>Providencia rettgeri</i>	1	0,55%
<i>Serratia liquifaciens</i>	1	0,55%
<i>Morganella morganii</i>	1	0,55%
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1	0,55%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0,55%
<i>Proteus spp</i>	1	0,55%

Total	183	100%
--------------	------------	-------------

V.2.5. Répartition des étiologies bactériennes selon le délai d'apparition de PAVM :

V.2.5.1. PAVM précoces :

Parmi les 183 étiologies bactériennes, 89 sont impliquées dans les PAVM précoces. Dont *Klebsiella pneumoniae* représente la principale étiologie dans les PAVM précoces avec un taux de **22,47%** (20/89), suivi d'*Acinetobacter baumannii* **16,85%** (15/89), *Haemophilus spp* **14,61%** (13/89) et *Staphylococcus aureus* **13,48%** (12/89).

Tableau 8 : Répartition des étiologies dans les PAVM précoces chez les malades sous ventilation mécanique au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12//2020).

Etiologie	Nombre	Fréquence
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	22,47%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	15	16,85%
<i>Haemophilus spp</i>	13	14,61%
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	13,48%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	10,11%
<i>Serratia marcescens</i>	3	3,37%
<i>Escherichia coli</i>	3	3,37%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	3,37%
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	3,37%
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1,12%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1,12%
<i>Providencia stuartii</i>	1	1,12%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1,12%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1,12%
<i>Serratia liquifaciens</i>	1	1,12%
<i>Morganella morganii</i>	1	1,12%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1,12%
Total	89	1,12%

V.2.5.2 PAVM tardives :

Parmi les 183 étiologies bactériennes, 94 sont impliquées dans les PAVM tardives. Dont *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* sont les principales étiologies bactériennes responsables des PAVM tardives à des taux de **30,85%** (29/94) et à **21,28%** (20/94) respectivement, suivi de *Klebsiella pneumoniae* **14,9%** (14/94) et *Staphylococcus aureus* à **9,57%** (9/94).

Tableau 9 : Répartition des étiologies dans les PAVM tardives chez les malades sous ventilation mécanique au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).

Etiologie	Nombre	Fréquence
<i>Acinetobacter baumannii</i>	29	30,85%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	21,28%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	14,9%
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9,57%
<i>Serratia marcescens</i>	5	5,32%
<i>Haemophilus spp</i>	3	3,19%
<i>Escherichia coli</i>	2	2,13%
<i>Proteus mirabilis</i>	2	2,13%
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	2,13%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	1,06%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1,06%
<i>Providencia stuartii</i>	1	1,06%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1,06%
<i>Enterobacter spp</i>	1	1,06%
<i>Providencia rettgeri</i>	1	1,06%
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1	1,06%
<i>Proteus spp</i>	1	1,06%
Total	94	1,06%

V.2.6. Profils de résistances aux antibiotiques des principales étiologies bactériennes isolées :

V.2.6.1. *Acinetobacter baumannii* :

On note une multirésistance chez les souches d'*Acinetobacter baumannii*. La résistance à la céftazidime est égale à **90,48%** (38/42), à l'imipénème est égale à **97,06%** (33/34) La résistance aux fluoroquinolones (lévofloxacine et ciprofloxacine) est égale à **92,68%** (38/41) et **94,12%** (32/34) respectivement.

Tableau 10 : Profil de résistance d'*Acinetobacter baumannii* isolé chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).

Antibiotique	Nombre des souches résistantes	Fréquence des souches résistantes
Ticarcilline	39/40	97,5%
Ticarcilline+ Ac.clavulanique	40/41	97,56%
Céftazidime	38/42	90,48%
Pipéracilline	39/40	97,5%
Imipénème	33/34	97,06%
Amikacine	33/39	84,62%
Gentamycine	27/30	90%
Tobramycine	34/42	80,92%
Ciprofloxacine	32/34	94,12%
Lévofloxacine	38/41	92,68%
Sulfaméthoxazole+Triméthoprime	37/40	92,5%

*Parmi les souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées **76,19%** (32/42) se distinguent par leur multirésistance.

Tableau 11 : *Acinetobacter baumannii* multirésistante chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/20).

Résistance aux ATB	Nombre	Fréquence
Céftazidime	38/42	90,48%
Imipénème	33/34	97,06%
Ciprofloxacine	32/34	94,12%
Totorésistante Céftazidime, Imipénème, ciprofloxacine.	32/42	76,19%

V.2.6.2. *Klebsiella pneumoniae* :

On note un niveau de résistance élevé aux céphalosporines de 1^{ere} génération (cefazoline **85,29%** (29/34)) et de 3^{eme} génération (cefotaxime **80%** (20/25)), à la Sulfaméthoxazole+Triméthoprim (SXT) **81,8%**, aux quinolones **61,3%**, aux aminosides **73,3%**, La résistance aux carbapénèmes est alarmante, 4/19 des souches sont résistante à l'ertapénème.

Tableau 12 : Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).

Antibiotique	Nombre des souches résistantes	Fréquence des souches résistantes
Céfazoline	29/34	85,29%
Céfotaxime	20/25	80%
Imipénème	11/19	57,9%
Ertapénème	4/19	21%
Gentamycine	22/30	73,3%
Amikacine	17/33	51,5%
Sulfaméthoxazole+Triméthoprim	27/33	81,8%
Ciprofloxacine	19/31	61,3%
Acide nalidixique	13/21	61,9%

*Parmi les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées **38,24%** (13/34) sont des EBLSE et **5,88%** (2/34) sont des EPC.

Tableau 13 : *Klebsiella pneumoniae* multirésistante chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/20).

Résistance	Nombre	Fréquence
EBLSE	13/34	38,24%
EPC	2/34	5,88%
BLSE+ EPC	0/34	0%

V.2.6.3. *Pseudomonas aeruginosa* :

8/29 des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées sont résistantes à la ticarcilline ,7/29 des souches sont résistantes à l'association ticarcilline + acide clavulanique, 2/29 à la céftazidime et 4/21 à l'imipénème.

La résistance aux aminosides touche un faible nombre de souches et aucune souche n'est résistante à la colistine

Tableau 14 : Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* isolés chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/2020).

Antibiotique	Nombre des souches résistantes
Ticarcilline	8/29
Ticarcilline+ Ac.clavulanique	7/29
Céftazidime	2/29
Pipéracilline	3/29
Azétronam	0/23
Imipénème	4/21
Gentamycine	3/26
Amikacine	0/28
Tobramycine	1/28
Nétlimicine	4/28
Ciprofloxacine	0/28
Lévofloxacine	0/29
Colistine	0/22

*Parmi les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées 2/29 sont multirésistantes.

Tableau 15 : *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018 au 31/12/20).

Résistance	Nombre
Céftazidime	2/29
Imipénème	4/21
Céftazidime +Imipénème	2/29
Ciprofloxacine	0/28

V.2.6.4. *Staphylococcus aureus* :

La résistance à la pénicilline touche presque toutes les souches de *Staphylococcus aureus* (18 /20). La résistance à l'oxacilline concerne (4/21) des souches.

On note de faibles taux de résistance aux aminosides : (4/19) pour l'amikacine et (4/15) pour la gentamycine, aux macrolides (4 /21), aux quinolones (3/21) et à l'acide fusidique (3/18) .Aucune résistance à la vancomycine, la teicoplanine et le co-trimoxazole n'a été détectée.

Tableau 16 : Profil de résistance de *Staphylococcus aureus* isolés chez les cas de PAVM au niveau de l'unité de réanimation polyvalente (UMC) du CHU Blida (du 01/01/2018au 31/12/2020).

Antibiotique	Nombre des souches résistantes
Pénicilline	18/20
Oxacilline	4/21
Erythromycine	4/21
Kanamycine	4/19
Ciprofloxacine	4/18
Gentamycine	4/15
Ofloxacine	3/21
Rifampicine	3/21
Lévofloxacine	3/21
Chloramphénicol	1/21
Clindamycine	2/19
Acide fusidique	3/18
Tétracycline	6/10
Teicoplanine	0/21
Vancomycine	0/20
Sulfaméthoxazole+Triméthoprim	0/20
Quinopristine-Dalfopristine	0/9

*Parmi les souches de *Staphylococcus aureus* isolées 4/21 sont résistantes à la méticilline(SARM).

VI. Discussion :

Notre étude a été effectuée au niveau du laboratoire central-unité de microbiologie- et l'unité de réanimation polyvalente au CHU Blida, c'est une étude rétrospective allant du 01/01/2018 au 31/12/2020 dont l'objectif principale était l'étude des principales étiologies bactériennes impliquées dans cette pathologie ainsi que leur sensibilité aux ATB.

-Caractéristiques des patients :

-Sexe :

Dans notre étude, le sexe masculin était prédominant **74,34%** (84/113) avec un sexe ratio **H/F** de **2,89**. Notre résultat est similaire à plusieurs études comme celle réalisée en 2014 au service de réanimation CHU HASSAN II de Fès (Maroc) qui a montré que **67%** des cas de PAVM étaient de sexe masculin [210].

La prédominance du sexe masculin dans la survenue des PAVM a été rapportée par plusieurs études, [41] [42].

-Age :

L'âge moyen retrouvé est égal à 45 ans avec des extrêmes allant de 16 mois à 87 ans.

15,93% (18/113) des patients atteints des PAVM sont âgés de plus de 60 ans,

Notre résultat concorde avec le résultat trouvé dans une étude réalisé au Maroc dont l'âge moyen était 40 ans et les patients atteints de PAVM avaient plus de 65 ans [210].

Cependant, cette proportion est largement inférieure à celle observée dans une étude réalisé en 2017 en Chine, où la moyenne d'âge trouvée était 55,47 ans [211].

Le risque des PAVM en réanimation augmente avec l'âge en raison de vieillissement du système immunitaire des sujets âgés ce qui les rend plus exposés aux risques infectieux [41] [42].

-Motif d'hospitalisation :

Le motif d'hospitalisation prédominant dans notre étude est le polytraumatisme.

38,05%(43/113), ce résultat concorde avec celui trouvé dans une étude réalisés en Cote d'ivoire [212] et au Maroc [210] avec des pourcentages respectifs de 25,8% et 37%.

Une étude réalisée aux états –unis montre que, 30% des malades atteints des PAVM ont été admis en réanimation pour un polytraumatisme [213].

Ces cas sont caractérisés par la nécessité de ventilation mécanique, durée de séjour longue et une immunodépression, ce qui rend ces patients plus vulnérables à la survenue de PAVM.

-Comorbidité :

Dans notre étude, **54.87%** (62/113) ne présentent pas d'antécédents pathologiques particuliers, **19.47%** (22/113) souffrent d'HTA et **12.39%** (14/113) d'un diabète.

Ces maladies chroniques peuvent constituer un facteur de risque de PAVM, conduisent ensemble à une immunodépression, entraînant des déficiences des organes vitaux tels que le cœur, le foie, les reins et les poumons, rendant le patient plus exposés aux infections [48].

-Infections associées:

Dans notre série, et sur les **82** patients ayant développés une PAVM, **75,6%** (62/82) n'ont pas développé d'infections associées, **14,63%** (12/82) ont développé une bactériémie. Le taux de bactériémie associée aux PAVM était de 3,73% dans une étude française [214], et de 5,6 % dans une étude algérienne [215]

Selon notre étude, **2,43%** (2/82) des PAVM ont associées à une infection urinaire, ce résultat est parfaitement identique à celui réalisé par Dali Ali A et al en 2013 [215] dont le taux des infections urinaires enregistrée a été 3%

La survenue de bactériémie et d'infections urinaires est significativement liée à l'exposition à la ventilation mécanique, du fait des caractères invasifs des procédures et la fragilité du terrain des patients [216].

-Devenir des patients :

D'après nos données, **67,26%**(76/113) des patients sont décédés **31,86 %**(36/113) se sont rétablis et **0.88%** (1/113) ont été transférés aux autres services. Nseir S et ERBAY ont également rapportés des taux élevés de mortalité des patients atteints de PAVM est : 65% et 70% respectivement [217] [218].

Le mécanisme du décès en réanimation est rarement défini avec exactitude. De nombreux événements concourant à cette mortalité interfèrent les uns avec les autres (décompensation d'une comorbidité, gravité de la pathologie responsable de l'admission en réanimation, iatrogénie et infections nosocomiales) [219] [220].

- délai d'apparition de PAVM (précoces /tardives) :

Dans notre étude, **34,15%**(28/82) des PAVM sont de caractère tardive et **65,85%** (54/82) sont de caractère précoce.

Notre résultat est différent à celui trouvé par Koffi et Ogondon en 2019 [212] et à celui trouvé par El Rhazi et al [221] en 2005 au service de réanimation polyvalente du CHU Hassan II de Fès qui ont observé la prédominance des PAVM tardives.

Le risque de contracter une infection nosocomiale, en général, et une PAVM, en particulier augmente avec la prolongation du séjour à l'hôpital. De plus, les unités de soins intensifs sont des structures closes dans lesquelles la circulation de l'air est irrégulière. Les gaz et les sécrétions exhalés par les patients contiennent un grand nombre d'agents pathogènes

contaminant l'air. L'exposition prolongée à ces derniers augmente le risque de survenue de PAVM [222].

-Microbiologie :

-Résultats de la culture bactérienne

La culture bactérienne est positive dans **64,67%** (119/184) des cas, négative dans **30,98%** (57/184) des cas et contaminée dans **4,35%**(8/184) des cas.

Parmi les **119** cultures positives on a : **54,6%** (65/119) de cultures monomicrobiennes, **37%** (44/119) de cultures bimicrobiennes et **8,4%**(10/119) de cultures trimicrobiennes.

Parmi les **113** patients, 77 ont bénéficié d'un seul prélèvement, 20 de deux, 8 de trois, 5 de quatre, 1 de cinq, 1 de six et 1 de 12 PDP.

Ces résultats sont concordants aux études effectuées en Tunisie et au Maroc : 81,5% et 77% de cultures monomicrobiennes, et 16,9% et 23% de cultures polymicrobiennes [223] [224].

-Etiologies bactériennes des PAVM :

Notre étude a montré la prédominance de l'*Acinetobacter baumannii* avec **39,51%** (44/183), suivie du *Klebsiella pneumoniae* **18,58%** (34/183), *Pseudomonas aeruginosa* **15,85%** (29/183), du *Staphylococcus aureus* **11,48%** (21/183) et *Haemophilus spp* en 5^{ème} position avec **8,74%** (16/183).

Le tableau ci-dessous compare les fréquences des étiologies bactériennes des différentes études réalisées avec notre étude.

Notre résultat concorde parfaitement avec les données rapportées par le AARN et Benmahdi [74] [225] qui a montré une nette prédominance des BGN avec en tête *Acinétobacter baumannii*.

Au niveau des services de réanimations .Ces bactéries représentent 20 % de l'écologie générale de l'hôpital où elle colonise les équipements médicaux (Appareils de ventilation, lits, matelas, chariots ...) [84] et la considérable résistance à la dessiccation et aux agents de désinfection contribue à sa persistance dans le milieu hospitalier [226].

Cependant, ce constat est différent de celui rapporté par des études menées à la Cote d'ivoire qui classe *Staphylococcus aureus* comme principale étiologie des PAVM [212].

Tableau 17 : Comparaison des fréquences des étiologies bactériennes des PAVM.

Pays	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Algérie (Lahcene Benmahdi 2017) [218]	33,8%	24,6%	10,8	10,8
AARN (2017) [74]	31,13%	25,47%	20,5%	11,14%
Maroc(Fès) 2014[210]	29%	8,6%	15%	27%
Cote Divoire 2019[212]	5%	44%	29%	57%
Notre étude	39,51%	18,58%	15,85%	11,48%

-Profil de résistance d'*Acinetobacter baumannii* :

On note une multirésistance chez les souches d'*Acinetobacter baumannii*. La résistance à la Céfotazidime est égale à **90,48%** (38/42), ce taux est supérieur à celui trouvé dans les études maghrébines ou la résistance à la céftazidime est égale à (**71%**) [227] et au (**69%**) [228]. La résistance à l'imipénème est égale à **97,06%** (33/34), ce taux est relativement élevé par rapport à celui rapportée par l'AARN (**83%**) [74]. Il est beaucoup plus important que celui rapporté par les études Tunisiennes (**37%**) [227].

La résistance aux fluoroquinolones (lévofloxacine et ciprofloxacine) est égale à **92,68%** (38/41) et **94,12%** (32/34) respectivement, Ces résultats sont similaires à ceux des études réalisées au Maroc mais avec des fréquences plus faibles (59,09%) à la ciprofloxacine. [229].

On note **76,19%** (32/42) des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées qui se distinguent par leur multirésistance.

Depuis quelques décennies, l'*Acinetobacter baumannii* pose de grands problèmes thérapeutiques partout dans le monde, principalement dans les services de réanimation. La capacité de survie dans des conditions rudimentaires, *Acinetobacter* résiste à la dessiccation pendant plusieurs semaines et sur les mains plus de 60 minutes [230] [231], la résistance naturelle et la grande diversité des plasmides confèrent à la bactérie un grand potentiel d'acquisition des résistances, par ailleurs, l'utilisation croissante d'antibiotiques à large spectre sélectionne les souches multi-résistantes.

Actuellement, l'alerte est focalisée sur la résistance aux polymyxines, traitement de dernier recours des PAVM causées par des BMR. La résistance à la colistine chez *Acinetobacter baumannii* a lieu par mutation chromosomique grâce à deux mécanismes : la modification de la membrane externe des lipopolysaccharides ou Perte de LPS [94].

- Profil de résistance de *Klebsiella pneumoniae* :

La résistance chez les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées est presque totale aux C1G (céfazoline **85,29%**(29/34)), C3G (céfotaxime 20/25), et au cotrimoxazole **81,8%**(27/33). **61,3%** (19/31) de ces souches sont résistantes aux quinolones et **73,3%** (22/30) aux aminosides.

4/19 des souches sont résistantes à l'ertapénème. Nos résultats concordent avec ceux trouvés par Zahi H en 2012 [232].

Parmi les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées **38,24%** (13/34) sont des EBLSE, Cette prévalence est proche des études nord-américaines et européennes, 29,7% aux Etats-Unis [233] et **25,5%** en Allemagne [234], et inférieure à celle enregistrée en Turquie **80%** [235], en Inde **96%** [236].

Et aussi en algerie dont Benmahdi .H a été trouvé 11/16 des souches de *Klebsiella pneumoniae* sont BLSE + [225].

Ces résultats confirment que les espèces *Klebsiella* représentent une cause majeure de PAVM en unité de réanimation. Ils sont fortement accrus chez les patients hospitalisés

pendant de longues périodes ou bénéficiant de traitements ATB au long cours. La klebsielle est une cause majeure d'infections urinaires, de pneumonies et de bactériémies [237].

Les bactéries productrices de EBLSE sont responsables de nombreuses épidémies au niveau local, régional et international, ayant fréquemment comme foyer d'origine les services de réanimation [238], cette résistance est conditionnée par la présence de plasmides (ADN extra-chromosomique) porteurs de caractères de résistances multiples et transférables à d'autres bactéries Gram négatif par conjugaison bactérienne [239]. Les entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi EBLSE sont, dans leur très grande majorité, aussi résistantes aux autres familles d'ATB, notamment aux fluoroquinolones et au cotrimoxazole [79, 102]. S'ajoute à cela l'émergence des EPC caractérisées par leur haut niveau de résistance aux ATB et leur risque accru de diffusion épidémique [104].

-Profil de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* :

Dans notre étude, les taux de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* sont relativement faibles, 8/29 des souches résistantes à la ticarcilline, 7/29 des souches résistantes à l'association ticarcilline + acide clavulanique, 4/21 à l'imipénème et 2/29 à la céftazidime. La résistance aux aminosides touche un faible nombre de souches et aucune souche n'est résistante à la colistine et ciprofloxacine

Ces taux sont très bas comparativement aux taux de l'étude de BEN HAJ KHLIFA: **45.6%**, **35.6%** et **54%** de résistance à la céftazidime, à l'imipénème et à la ciprofloxacine respectivement [227]. Par contre, il concorde parfaitement avec ceux de l'étude menée de ZAHY H qui rapporte une résistance à la ticarcilline de 37,5%, à la céftazidime de 15,4% et à l'IMP de 7,7% [232].

-Profil de résistance de *Staphylococcus aureus* :

La résistance à la pénicilline touche presque toutes les souches de *Staphylococcus aureus* (18 /20). La résistance à l'oxacilline concerne (4/21) des souches.

Sur le plan national et selon les données du dernier rapport de la résistance à la méticilline parmi les souches de *Staphylococcus aureus* isolées est de **19,86%** (29/146) [74], en concordance totale avec nos résultats.

Les données sur le SARM semblent plus hétérogènes selon les pays [240]. Au Maroc, une étude réalisée au CHU international « Cheikh Zaid » de Rabat a montré que le SARM représentait **37.5%** du total des *Staphylococcus aureus* isolés au niveau des services de réanimation [241]. Des études européennes situent toujours le SARM comme principal germe multi-résistant malgré la baisse ces dernières années de son incidence [242] [243].

Staphylococcus aureus est souvent associées aux germes multirésistants aux antibiotiques. Malheureusement, du fait de leur caractère multirésistant et de l'usage massif des antibiotiques, ces souches ont été artificiellement sélectionnées par l'homme et finissent par prédominer sur les autres. Le milieu hospitalier est l'endroit idéal pour cette sélection non désiré et *Staphylococcus aureus* est responsable de nombreuses infections nosocomiales.

Actuellement, le traitement des infections causées par les SARM est exposé au risque d'impasses thérapeutiques du à l'extension de cette résistance aux glycopeptides et l'émergence du SARV (*Staphylococcus aureus* résistante à la vancomycine) [112] [113].

CONCLUSION :

Les PAVM, responsables d'une forte mortalité et de surcout médicale, posent des problèmes diagnostiques, thérapeutiques et économiques lourds.

Notre étude nous a permis d'étudier l'implication bactérienne des PAVM qui sont représentées principalement par les bactéries à Gram négatifs suivi par les cocci à gram positif. La résistance aux antibiotiques de ces bactéries est de plus en plus élevée par différentes mécanismes et ceci est favorisé par l'utilisation préalable et non rationnelle des ATB.

La détection de la multi-résistance bactérienne par le laboratoire doit être rapide et exacte. Cette évolution implique une mise à jour régulière des connaissances des microbiologistes au sujet des mécanismes de résistance mais aussi une amélioration technologique des outils diagnostiques. A chaque fois que le laboratoire a isolé une bactérie multi-résistante, il doit la signaler.

La lutte contre les BMR est axée sur le bon usage des antibiotiques et la prévention de la transmission croisée, qui repose en premier lieu sur l'application stricte des précautions standards quels que soient le patient et le soin mis en œuvre.

La gravité des PAVM impose collaboration étroite entre cliniciens et biologistes.

Références

Bibliographiques

- 1- Nair GB, Niederman MS (2015) Ventilator-associated pneumonia: present understanding and ongoing debates. *Intensive Care Med* 41:34-48.
- 2- Kalil AC, Metersky ML, and Klompas M, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.*2016;63:e61.
- 3- F. Miller Ventilator-Associated Pneumonia. *Anesthesia tutorial of the week* 2018:382:6.
- 4- Torres A, Niederman MS, Chastre J, et al. International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J* 2017; 50: 1700582.
- 5- Management of pneumonia in intensive care Andrew Conway Morris. *J Emerg Crit Care Med* 2018; 2:101.
- 6- Charles P, Kali A, Easow JM, et al. Ventilator-associated pneumonia. *Australas Med J.* 2014; 7(8):334-344.
- 7- Alicia N. Kieninger, MDa, Pamela A. Lipsett, Hospital-Acquired Pneumonia: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment, *Surg Clin North Am.* 2009 89(2):439-461.
- 8- PCEM anatomie générale (1). (n.d.).
- 9- Appareil respiratoire –Anatomie et physiologie de boeck .3^{ème} Edition 2015.
- 10- Human microbiome project consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012 ;486:207-14.
- 11- Erb-Downward JR, Thompson DL, Han MK, et al. Analysis of the lung microbiome in the healthy smoker and in COPD. *PLoS One* 2011; 6 : e163.
- 12- Marsland BJ, Gollwitzer ES. Host-microorganism interactions in lung diseases. *Nat Rev Immunol* 2014; 14:827–35.
- 13- Voynow JA, Rubin BK, (2009) Mucins, mucus, and sputum. *Chest* 135: 505–512.
- 14- Lillehoj ER, Kim KC. Airway mucus: its components and function. *Arch Pharm Res* 2002;25(6):770–780.
- 15- Salathe M, Wanner A. Nospecific host defenses: mucociliary clearance and cough. In: Niederman M, ed. *Respiratory Infections*. Philadelphia: Saunders; 1994:17–32.
- 16- Jouan, Y., & Guillon, A. (2017). Immunité de la muqueuse respiratoire : physiologie et implications en réanimation. 11–20. <https://doi.org/10.1007/s13546-016-1245-9>.
- 17- Beatrice demore .Alexandre charmillon. Traitement des infections respiratoires basses et hautes. *Pharmacie Clinique et Thérapeutique*. 2018 : 801–814.e1. Published online 2018 oct. 5. French. DOI : 10.1016/B978-2-294-75077-9.00044-X.
- 18- Kalil AC ; et al . Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society *Clin Infect Dis.* 2016 Sep 1; 63(5): e61–e111. Published online 2016 Jul 14. doi: 10.1093/cid/ciw353.
- 19- Société de Réanimation de Langue Française. Les recommandations des experts de la SRLF. *Réanimation Urgences* 2000;9:407.
- 20- Slutsky AS, Ranieri . Ventilator-induced lung injury. *N Engl J Med* 2013; 369:2126–36.

- 21- Wunsch H, Wagner J, Herlim M, et al. ICU occupancy and mechanical ventilator use in the United States. *Crit Care Med* 2013; 41:2712–19.
- 22- Ranjan N, et al., Ventilator-associated pneumonia in a tertiary care intensive care unit: Analysis of incidence, risk factors and mortality. *Indian J Crit Care Med*, 2014. 18(4): p.2004.
- 23- Morehead RS and Pinto SJ, Ventilator-associated pneumonia. *Arch Intern Med*, 2000. 160: p. 1926-36.
- 24- Nakaviroj S, Cherdrungsi R, and O. Chaiwat, Incidence and risk factors for ventilator-associated pneumonia in the surgical intensive care unit, Siriraj Hospital. *J Med Assoc Thai*, 2014. 97 Suppl 1: p. S61-8.
- 25- RFE commune Sfar — SRLF 2017. Pneumonies associées aux soins de réanimation. Disponible à partir de l'URL : <http://sfar.org/pneumonies-associees-aux-soins-de-reanimation/> (Accès au site le 25/09/2017).
- 26- Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis* 2016;63(5):e61—111.
- 27- Nair GB, Niederman MS (2015) Ventilator-associated pneumonia: present understanding and ongoing debates. *Intensive Care Med* 41:34–48 .
- 28- Boyadjiev I, Leone M, Garnier F, Albanèse J, Martin C. Prise en charge des pneumonies acquises sous ventilation mécanique. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 2006;25:761-772.
- 29- Veyssier P, Domart Y, Liebbe AM. Abrégés de Médecine: infections nosocomiales en réanimation. *Presse Med.* 1998;27:988-90.
- 30- Recommandations des experts de la SRLF : prévention de la transmission croisée en réanimation. *Réanimation* 2002; 11:250–6.
- 31- Meduri GU, Estes RJ. The pathogenesis of ventilator-associated pneumonia: II. The lower respiratory tract. *Intensive Care Med* 1995;21(5):452–461.
- 32- Scannapieco FA, Stewart EM, Mylotte JM. Colonization of dental plaque by respiratory pathogens in medical intensive care patients. *Crit Care Med* 1992; 20(6):740–745.
- 33- Ewig S, Torres A, El-Ebiary M, Fabregas N, Hernandez C, Gonzalez J, et al. Bacterial colonization patterns in mechanically ventilated patients with traumatic and medical head injury. Incidence, risk factors, and association with ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(1):188–198.
- 34- Bonten MJ, Gaillard CA, van Tiel FH, Smeets HG, van der Geest S, Stobberingh EE. The stomach is not a source for colonization of the upper respiratory tract and pneumonia in ICU patients. *Chest* 1994; 105(3):878–884.
- 35- Niederman MS. Gram-negative colonization of the respiratory tract: pathogenesis and clinical consequences. *Semin Respir Infect* 1990; 5(3):173–184.
- 36- de la Torre FJ, Pont T, Ferrer A, Rossello J, Palomar M, Planas M. Pattern of tracheal colonization during mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152(3):1028–1033.
- 37- du Moulin GC, Paterson DG, Hedley-Whyte J, Lisbon A. Aspiration of gastric bacteria in antacid-treated patients: a frequent cause of postoperative colonisation of the airway. *Lancet* 1982;1(8266): 242–245.
- 38- Heyland D, Mandell LA. Gastric colonization by gram-negative bacilli and nosocomial pneumonia in the intensive care unit patient. Evidence for causation. *Chest* 1992;101(1):187–193.

- 39- Inglis TJ, Sherratt MJ, Sproat LJ, Gibson JS, Hawkey PM. Gastroduodenal dysfunction and bacterial colonisation of the ventilated lung. *Lancet* 1993; 341(8850):911–913.
- 40-D.CHATELIER, S.CHAUVET, R.ROBERT.pneumopathies d’inhalation.2009.
- 41-Wang R-F, Shen S-H, Yen A-F, et al. Risk factors for incidence and case-fatality rates of healthcare-associated infections: a 20-year follow-up of a hospital-based cohort. *Epidemiol Infect.* 2016;144(1):198- 206.
- 42- Packer SJ, Cairns S, Robertson C, et al. Determining the effect of social deprivation on the prevalence of healthcare-associated infections in acute hospitals: a multivariate analysis of a linked data set. *J Hosp Infect.* 2015;91(4):351-7.
- 43-Jovanovic, B., Milan, Z., Djuric, O., Markovic-Denic, L., Karamarkovic, A., Gregoric, P., et al. (2016). Twenty-eight-day mortality of blunt traumatic brain injury and co-injuries requiring mechanical ventilation. *Med. Princ. Pract.* 25, 435–441. doi: 10.1159/000447566.
- 44-Chang, L., Dong, Y., and Zhou, P. (2017). Investigation on risk factors of ventilator-associated pneumonia in acute cerebral hemorrhage patients in intensive care unit. *Can. Respir. J.* 2017:7272080. doi: 10.1155/2017/7272080.
- 45-Othman, H. A., Gamil, N. M., Elgazzar, A. E. M., and Fouad, T. A. (2017). Ventilator associated pneumonia, incidence and risk factors in emergency intensive care unit Zagazig university hospitals. *Egypt. J. Chest Dis. Tuberc.* 66, 703708.doi:10.1016/j.ejcdt.2017.08.004
- 46-But, A., Yetkin, M. A., Kanyilmaz, D., Aslaner, H., Bastug, A., Aypak, A., et al. (2017). Analysis of epidemiology and risk factors for mortality in ventilator-associated pneumonia attacks in intensive care unit patients. *Turk. J. Med. Sci.* 47, 812–816. doi: 10.3906/sag-1601-1638.
- 47-Jimenez-Trujillo, I., Jimenez-Garcia, R., de Miguel-Diez, J., de Miguel-Yanes, J. M., Hernandez-Barrera, V., Mendez-Bailon, M., et al. (2017). Incidence, characteristic and outcomes of ventilator-associated pneumonia among type 2 diabetes patients: an observational population-based study in Spain. *Eur. J. Intern. Med.* 40, 72–78. doi: 10.1016/j.ejim.2017.01.019.
- 48-Fabbri, L., Pauwels, R. A., Hurd, S. S., and Committee, G. S. (2004). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: gold executive summary updated 2003. *COPD* 1, 105–141; discussion103–104. doi: 10.1081/COPD-120030163.
- 49- du Moulin GC, Paterson DG, Hedley-Whyte J, Lisbon A. Aspiration of gastric bacteria in antacid-treated patients: a frequent cause of postoperative colonisation of the airway. *Lancet* 1982;1(8266): 242–245.
- 50- Donowitz LG, Page MC, Mileur BL, Guenther SH. Alteration of normal gastric flora in critical care patients receiving antacid and cimetidine therapy. *Infect Control* 1986;7(1):23–26.
- 51- Nakaviroj S,Cherdrungsi R, and O.Chaiwat, Incidence and risk factorsfor ventilator-associated pneumonia in the surgical intensive care unit, Siriraj Hospital. *J Med Assoc Thai*, 2014. 97 Suppl 1: p. S61-8.
- 52-Gopal Katherason S, et al.Ventilator-associated nosocomial pneumonia in intensive care units in Malaysia. *J Infect Dev Ctries*, 2009. 3(9) : p. 704-10.

- 53- Espinasse F, Page B, Cottard-Boulle B. Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires*. 2010 ;(426):51-63.
- 54- Dombert MD. Pneumopathies nosocomiales chez le patient non immunodéprimés .EMC pneumonologie 2004 : 69-86.
- 55-Lea-noval SR .Marquez-vacaro JA .Garcia –curiel A et al .Npsocomial pneumoniae in patient undergoing heart surgery .*Crit care .Med* 2000 : 28 :935 -40.
- 56- Djedaini K, Billiard M, Mier L, et al. Changing heat and moisture exchangers every 48 hours rather than 24 hours does not affect their efficacy and the incidence of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1995 ; 152 : 1562-9.
- 57-Hess D, Burns E, Romagnoli D, et al. Weekly ventilator circuit changes. *Anesthesiology* 1995; 82: 903-11.
- 58- Goularte TA, Manning M, Craven DE. Bacterial colonization in humidifying cascade reservoirs after 24 and 48 hours of continuous mechanical ventilation. *Infection Control* 1987 ; 8 : 201-3.
- 59-Roustan J, Kienlen J, Aubas P, et al. Comparison of hydrophobic heat and moisture exchangers with heated humidifier during prolonged mechanical ventilation. *Intensive Care Med* 1992; 18: 97-100.
- 60- Dreyfuss D, Djedaini K, Gros I, et al. Mechanical ventilation with heated humidifiers or heat and moisture exchangers: effects on patient colonization and incidence of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 986-92.
- 61-Thatrimontrichai, A., Rujeerapaiboon, N., Janjindamai, W., Dissaneevate, S., Maneevil, G., Kritsaneepaiboon, S., et al. (2017). Outcomes and risk factors of ventilator-associated pneumonia in neonates. *World J. Pediatr.* 13, 328–334. doi: 10.1007/s12519-017-0010-10.
- 62- Espinasse, F., Page, B., & Cottard-boulle, B. (2010). Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs Dossier scientifique. 51 63.
- 63-KollefM. Review of Recent Clinical Trials of Hospital-AcquiredPneumonia and Ventilator-Associated Pneumonia:A Perspective from Academia. *Clin Infect Dis*2010; 51(S1):S29–S35.
- 64- ReIlo J, Ollendorf DA, Oster G, Vera-Lionch M, Bellm L, Redman R. Kollef MH; VAP Outcomes Scientific Advisory Group: Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in a large US database. *Chest* 2002; 122: 2115-21.
- 65-Réseau d’Alerte, d’Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN). Enquête nationale de prévalence 2006 des infections nosocomialesRésultats préliminaires.
- 66- Deffouilly C, Gérard A, Berche P, Jambou P, Choutet P, et un groupe d’étude Français. Evaluation d’une stratégie thérapeutique utilisant l’association amoxicilline-acide clavulanique par voie veineuse avec relais oral dans les pneumopathies précoces du patient sous ventilation artificielle. *Méd Mal Infect* 2001; 31: 7-13.
- 67- El Rhazi K, Elfakir S et al. Prévalence et facteurs de Risque Des infections nosocomiales au CHU Hassan II de Fès (Maroc). *La revue de Santé de la Méditerranée orientale* 2007 ; 13, n° 1.
- 68- K. Amazian, J. Rossello, A. Castella, S. Sekkat, S. Terzaki, L. Dhidah, T. Abdelmoumene, J. Fabry et les membres du réseau NosoMed Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne volume 16 No . 10 octobre

,2010 EMJH.

- 69- Baroud, M.D. Touze, Tassou F, Derrienic M, PotelG.L' infection hospitalière à Staphylocoque en milieu chirurgical. IN : L' infection en réanimation. Edit Masson 2005;13-7.
- 70- American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. Am J Respir Crit Care Med. 2005;171:388-416.
- 71- Allouachiche B et Boseli E. Traitement des pneumopathies nosocomiales en réanimation chirurgicale : un choix raisonné. MAPAR 2005; 184-93 .
- 72- Ghita Yahyaoui, Zineb Taki, and Mustapha Mahmoud Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique : caractéristiques microbiologiques au CHU Hassan II De Fès International Journal of Innovation and Applied Studies ISSN 2028-9324 Vol. 20 No. 3 Jun. 2017, pp. 781-786.
- 73- S Elatrous, R Boujdaria, S Merghli et al. Incidence and risk factors of ventilator-associated pneumonia: a one-year prospective survey Clinical Intensive Care 1996; 7: 276-281.
- 74- Algerian Antimicrobial Resistance Network (AARN) : Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 18 ème rapport d'évaluation (de janvier à décembre 2017) édition 2018.
- 75- Ariane Biquand. Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* et leurs traitements en 2017. Sciences du Vivant [q-bio]. 2017.
- 76- Carpentier JP, Morillon M, Petrognani R et Cavallo JD. Infections à bacille pyocyanique. Encycl Méd Chir (Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Maladies infectieuses 2003; 8-025-B-50: 23.
- 77- Floret N, Bertrand X, Thouverez M, Talon D. Infections nosocomiales à *pseudomonas aeruginosa* : origine exogène ou endogène de la bactérie responsable ? Pathologie Biologie 2009; 57: 9-12.
- 78- Mesaros N, Nordmann P, Plesiat P et al. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. Clin Microbiol Infect 2007;13(6):560-578.
- 79- François Jehl Monique Chomar Jack Tankoviç Alain Gérard De l'antibiogramme à la prescription 3ème édition 2012.
- 80- François Barbier et Michel Wolff Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* Vers l'impasse thérapeutique ? Med Sci (Paris) 2010 ; 26 : 960–968.
- 81- Cuzon. G, Naas. T, Nordmann. P Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif Medecine/sciences 2010 ; 26 : 950-9
- 82- LeeC R, al. *Biology of Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. Frontiers in cellular and infection microbiology 2017; 7: 55.
- 83- Eveillard M, et al. Reservoirs of *Acinetobacter baumannii* outside the hospital and potential involvement in emerging human community-acquired infections. International Journal of Infectious Disease 2013;17(10): e802-5.
- 84- Mansour W, al. [Clinical and epidemiological characterization of infections due to imipenem resistant *Acinetobacter baumannii* at the university hospital Sahloul, Tunisia]. Ann Biol Clin (Paris) 2007;65(6): 593-9 .

- 85-Hidri, N. Identification d'*Acinetobacter spp.* au laboratoire. *Revue Francophone des Laboratoires* 2012;2012(441): 37-2.
- 86- Howard A, et al. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence* 2012;3(3): 243-50.
- 87- Harding C.M, Hennon S W, Feldman MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat Rev Microbiol* 2018;16(2): 91-2.
- 88-McConnell MJ, Actis L, Pachon J. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Rev.* 2013;37 (2):130-55.
- 89- Gentile V, Frangipani E, Bonchi C et al. Iron and *Acinetobacter baumannii* Biofilm Formation. *Pathogens.* 2014;3(3):704-19.
- 90- Patwardhan RB, Dhakephalkar PK, Niphadkar KB, et al. A study on nosocomial pathogens in ICU with special reference to multirésistant *Acinetobacter baumannii* harbouring multiple plasmids. *Indian J Med Res.* 2008; 128(2):178-87.
- 91- Edouard PF, et al. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis.* 2006 ; 42 (5) : 692-699.
- 92- Decré Dominique *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques : un modèle d'adaptation. *Revue francophone des laboratoires.* 2012: 441: 43-52.
- 93- Adams M.D, et al. Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB two-component system. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(9): 3628-34.
- 94- Deveson Lucas D, Crane B, Wright A, et al. Emergence of High-Level Colistin Resistance in an *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolate Mediated by Inactivation of the Global Regulator H-NS. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018 ; 62 (7) : e02442-17.
- 95-Garrabé E, Cavallo J.D, Brisou P et al. Sensibilité aux antibiotiques des bactéries d'infections nosocomiales : évolution dans les services de réanimation des hôpitaux des armées. *La Presse médicale,* 23 Septembre 2000; 29 ; n°27 : 1497-503.
- 96- François Denis, Marie-Cécile Ploy, Christian Martin, Vincent Cattoir. *Bactériologie médicale Techniques usuelles* 3ème édition. (2016). P : 176, 279, 335, 347.
- 97-Enterobactéries. Jean-Micheal Scheftel. 2010.
- 98-Giard M, Lepape A, Allaouchiche B et al. Comparaison des facteurs de risque et pronostic des pneumopathies nosocomiales précoces et tardives acquises en réanimation. *Hygiène* 2006; Volume XIV; n°4: 257-65.
- 99- C Jenkins, R J. Rentenaar, L Landraud, S Brisse *Enterobacteriaceae* SECTION 8 Clinical Microbiology: Bacteria Infectious Diseases (4 ème Edition), 2017.
- 100- Fagon JY, Chastre J, Hance AJ et al. Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. *Am J Med* 1993;94:281—8.
- 101- A. Philippon, G. Arlet Entérobactéries et bêta lactamines : phénotypes de résistance naturelle *Pathologie Biologie* 2016 : 60 : 112-126.
- 102- Baba Ahmed-Kazi Tani. Z, Arlet. G ;Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie News of antibiotic resistance among Gram-négative bacilli in Algeria *Pathologie Biologie* 2014 : 62 : 169– 178.
- 103-Vincent C. Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie* 52 .2004 : 607–616.
- 104- Cuzon. G, Naas. T, Nordmann. P Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram

- négatif *Medecine/sciences* 2010 ; 26 : 950-9.
- 105- Poirel L, mecanisme of colistin resistance, antimicrob agent chimother, 2017.
- 106- Asehnoune K, Seguin P, Allary J, et al. Hydrocortisone and fludrocortisone for prevention of hospital-acquired pneumonia in patients with severe brain injury (Corti-TC): a double blind multicenter phase 3, randomised placebo-controlled trial. *Lancet Respir Med* 2014; 2: 706– 716.
- 107-Zygun DA, Zuege DJ, Boiteau PJE, Laupland KB, Henderson EA, Kortbeek JB, et al. Ventilator-associated pneumonia in severe traumatic brain injury. *Neurocrit Care* 2006;5:108–14.
- 108- Klinger C, Filoux A, Lazdunski A. Les biofilms forteresses bactériennes. [en ligne] la Recherche –l’actualité des sciences.Dossier spécial .2005 ; 389 :42-46.
- 109- Goller C.C, Romeo T. (2008) Environmental influences on biofilm development. *Curr. Top.Microbiol. Immunol.* 322: 37- 66.
- 110- Management of pneumonia in intensive care Andrew Conway Morris. *J Emerg Crit Care Med* 2018;2:101.
- 111-Khalilzadeh. Pouneh. (2009) Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*: évaluation d’inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing. Thèse Doctorat discipline Microbiologie. Université Paul Sabatier Toulouse III.
- 112-ChambersHF, Deleo FR. Waves of Resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic Era. *Nat RevMicrobiol* 2009;7(9):629-41
- 113- Claire D, Leclercq R. L’antibiogramme de *Staphylococcus aureus* : Infection à pneumocoque et *Staphylococcus aureus*. *Francophone des laboratoires.* 2008 ; 407 : 81-90.
114. Lozniewski A, Rabaud C. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins. *CCLIN Sud-est.* juillet 2010 : 1-4.
- 115-Quincampoix JC, Mainardi JL. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif Service de microbiologie clinique. France. *Réanimation.* 2001; 10: 267-275.
- 116- Mourouga P, Pittet D. Staphylocoque doré résistant à la méticilline : un défi permanent. *Médecine et hygiène* ISSN 0025-6749 CODEN MEHGAB 1995;53;2090:2126–2129.
- 117- Goldstein FW, Coutrot A, Sieffer A, Acar JF. Percentages and distributions of teicoplanin- and vancomycin-resistant strains among coagulase-negative staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:899–900.
- 118-Tankovic J., Aubry-Damon H. et Leclercq R. (1997). Résistance aux antibiotiques autres que les bêtalactamines chez *Staphylococcus aureus*. *Méd MalInfect.*, 27: 207-16.
- 119-Périchon B.et Corvallis P. (2009). Van A-type vancomycine-résistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents.* 18: 25-28.
- 120-Daurel C., Leclercq R. (2008). L’antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires.* , 407 : 81-90.
- 121- Kempf M. Observatoires regionaux du pneumocoque : epidemiologie et resistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolees en France en 2007. *RFL* 2008; 407:
- 122- Chastre J. Antimicrobial treatment of hospital-acquired pneumonia. *Infect Dis Clin North Am* 2003; 17:727–37.
- 123- V.Rieux Les facteurs de virulence de *Streptococcus pneumoniae*, *Médecine et Maladies Infectieuses* Volume 32, Supplement 1, March 2002, Pages 1-12.

- 124-Ruimy R, Andreumont A. (2004) Quorum-sensing chez *Pseudomonas aeruginosa* : mécanisme moléculaire, impact clinique, et inhibition. *Réanimation*. 176–184.
- 125- Hansman D, Bullen HM. A resistant pneumococcus. *Lancet* 1967; 2: 264-5.
- 126-Appelbaum P. C. Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: Implications for Drug Selection. *Clin Infect Dis* 2002 ; 34 :1613-20.
- 127-Doit C, Bingen E. Mécanismes de la résistance aux bêta-lactamines chez le pneumocoque. *Arch Pédiatr* 1996 ; 3 : 99-100.
- 128- Sae Am Song¹ , Jeong Hwan Shin Review Microbiological Characteristics of *Corynebacterium striatum*, an Emerging Pathogen *Hanyang Med Rev*. 2018 Jun;38(2):93-98.
- 129- Mitsuru Yanaia and al. Retrospective evaluation of the clinical characteristics associated with *Corynebacterium species* bacteremia *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* Volume 22, Issue 1, 2018, Pages 24-29.
- 130- Negoită, S.; Duțu, Madalina; Manolescu, Rely; Corneci, D.; Azamfirei, *Corynebacterium striatum* - implications in the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. Local peculiarities of epidemiology and treatment. *Acta Medica Transilvanica* . 2011, Vol. 16 Issue 2, p237-238. 2p.
- 131- German GJ, Gilmour M, Tipples G, et al. Énoncé canadien définissant la multi-résistance et l’ultra-résistance chez les souches d’entérobactéries, d’*Acinetobacter* spp. et de *Pseudomonas aeruginosa* pour les laboratoires médicaux. *Relevé des maladies transmissibles au Canada*.2018;44(1):32-731.
- 132- Arsalane L, Qamouss Y, Chafik A, et al. Epidémiologie des bactéries multi résistantes dans un service de réanimation polyvalente d’un hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006 et septembre 2009. *les technologies de laboratoire - 2010*, Volume 5, N°21.
- 133-Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *The Lancet Infectious Diseases*. 2008;8: 159–166. doi:10.1016/S1473-3099(08)70041-0.
- 134-Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. WHO;2014.Available :<http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport>.
- 135-Weist K, Högberg LD. ECDC publishes 2015 surveillance data on antimicrobial resistance and antimicrobial consumption in Europe. *Euro Surveill*. 2016;21. doi:10.2807/1560-7917.ES.2016.21.46.30399.
- 136-Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016;16: 161–168. doi:10.1016/S1473-3099(15)00424-7.
- 137- Timsit JF, Réactualisation de la douzième conférence de consensus de la société de réanimation de langue française (SRLF). *Infections liées aux cathéters veineux centraux en réanimation*. *Réanimation* 2003 ; 12(3) : 258-65.
- 138-Wang G, Ji X, Xu Y, Xiang X. Lung ultrasound: a promising tool to monitor ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. *Crit Care* 2016;20.
- 139-Fagon JY, Chastre J, Hance A, Domart Y, Trouillet J, Gibert C. Evaluation of clinical judgment in the identification and treatment of nosocomial pneumonia in ventilated patients. *Chest*1993;103:547-53.

- 140- Charles P, Kali A, Easow JM, et al. Ventilator-associated pneumonia. *Australas Med J*. 2014;7(8):334-344.
- 141- Berton DC, Kalil AC, Teixeira PJ. Quantitative versus qualitative cultures of respiratory secretions for clinical outcomes in patients with ventilator-associated pneumonia. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;(10):CD006482.
- 142- American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:388-416.
- 143-Shorr AF, Sherner JH, Jackson WL, Kollef MH. Invasive approaches to the diagnosis of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis. *Crit Care Med*. 2005;33:46-53.
- 144- Maxens Decavele ; Alexandre Demoule prélèvements respiratoires société de réanimation de langue Française 2020.
- 145-Wimberley N, Faling LJ, Bartlett JG. A fiberoptic bronchoscopy technique to obtain uncontaminated lower airway secretions for bacterial culture. *Am Rev Respir Dis* 1979;119:337—43.
- 146- « Prélèvement des sécrétions bronchopulmonaires », [microbiologiemedicale.fr](https://microbiologiemedicale.fr/prelevement-secretions-bronchopulmonairescrachat-bbp-lba/). <https://microbiologiemedicale.fr/prelevement-secretions-bronchopulmonairescrachat-bbp-lba/> (consulté le oct. 26, 2020).
- 147-Mentec H, May-Michelangeli L, Rabbat A, Varon E, Le Turdu F, Bleichner G. Blind and bronchoscopic sampling methods in suspected ventilator-associated pneumonia. A multicentre prospective study. *Intensive Care Med* 2004; 30:1319-26.
- 148-Grgurich PE, Hudcova J, Lei Y, et al. Diagnosis of ventilator associated pneumonia: controversies and working toward a gold standard. *Curr Opin Infect Dis* 2013;26:140—50.
- 149- Kalanuria AA, Zai W, Mirski M. Ventilator-associated pneumonia in the ICU. *Crit Care* 2014;18:208.
- 150- Bergmans DC, Bonten MJ, De Leeuw PW, et al. Reproducibility of quantitative cultures of endotracheal aspirates from mechanically ventilated patients. *J Clin Microbiol* 1997;35:796—8.
- 151- Cook DJ, Fitzgerald JM, Guyatt GH, Walter S. Evaluation of the protected brush catheter and bronchoalveolar lavage in the diagnosis of nosocomial pneumonia. *J Intensive Care Med* 1991;6:196-205.
- 152- F. Botterel , C. Cattoen, B. Pozzetto Infections bronchopulmonaires (hors tuberculose et mucoviscidose) *REMIC Soc Fr Microbiol Eds*. 2018;1: 199–212.
- 153- F. Denis, « Chapitre 17 - Diagnostic bactériologique des infections ORL et pulmonaires, *Bactériologie médicale*, 2016, Elsevier Masson. p;171-181 », p. 12, 2016.
- 154- Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:867–903.
- 155- François Denis, Marie-Cécile Ploy, Christian Martin, Vincent Cattoir. *Bactériologie médicale Techniques usuelles 3ème édition*. (2016).P : 176, 279, 335, 347.
- 156- Pauline Floch Aspects microbiologiques des pneumopathies nosocomiales 5 ème journée d'Infectiologie en Aquitaine 6 ème journée Régionale des Référents en infectiologie 2015.
- 157- Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire), 7ème édition. 2014.
- 158- François Jehl Monique Chomarat Jack Tankoviç Alain Gérard De l'antibiogramme à la prescription 3ème édition 2012.
- 159- Netgen, « PCR en microbiologie : de l'amplification de l'ADN à l'interprétation du résultat », *Revue Médicale Suisse*. <https://www.revmed.ch/RMS/2007/RMS-106/32181> (consulté le nov. 15, 2020).
- 160- Wallihan R, Ramilo O. Community-acquired pneumonia in children: Current challenges and future directions. *J Infect* 2014; epub ahead of print.

- 161-Tajima T, et al. Etiology and clinical study of community-acquired pneumonia in 157 hospitalized children. *J Infect Chemother* 2006;12:372-9.
- 162- E. Masson, « Apport de la biologie moléculaire au diagnostic bactériologique », *EM Consulte*. <https://www.em-consulte.com/article/192820/apport-de-la-biologie-moleculaire-au-diagnostic-ba> (consulté le nov. 16, 2020).
- 163- N. Pecora et D. A. Milner, « New Technologies for the Diagnosis of Infection », in *Diagnostic Pathology of Infectious Disease*, Elsevier, 2018, p. 104- 117.
- 164- Leone M, Malavieille F, Papazian L, et al. Routine use of *Staphylococcus aureus* rapid diagnostic test in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Crit Care* 2013;17:R170.
- 165- Cercenado E, Marin M, Burillo A, et al. Rapid detection of *Staphylococcus aureus* in lower respiratory tract secretions from patients with suspected ventilator-associated pneumonia: evaluation of the Cepheid Xpert MRSA/SA SSTI assay. *J Clin Microbiol* 2012;50:4095—7.
- 166- Baudel JL, Tankovic J, Dahoumane R, et al Multiplex PCR performed of bronchoalveolar lavage fluid increases pathogen identification rate in critically ill patients with pneumonia: a pilot study. *Ann Intensive Care* 2014: 4:35.
- 167- Jaillette, E., Ledoux, G., Lawson, R. et al. Pneumonie acquise sous ventilation mécanique : quoi de neuf en 2016 ? *Réanimation* 2016 25, 83–91.
- 168- Donati S.Y., Papazian L. Pneumopathies nosocomiales acquises sous ventilation mécanique. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), AnesthésieRéanimation, 36-984-A-16, 2008.
- 169- Dutronc H, Bocquentin F, Galperine T, Lafarie-Castet S, Dupon M. Le linezolide, premier antibiotique de la famille des oxazolidinones. *Med Mal Infect* 2005;35:427-34.
- 170- Bassetti M, Vena A, Castaldo N, Righi E, Peghin M. New antibiotics for ventilator-associated pneumonia. *Curr Opin Infect Dis.* 2018;31(2):177-186.
- 171-Girault C. Nosocomial pneumopathies in mechanical ventilation. *Rev Mal Respir.* 2002;19(5 Pt 2):S121-123.
- 172- American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171(4):388416.
- 173- Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, *et al.* Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.* 2016;63(5):e61111.
- 174-Pisanu G, Fartoukh M. pneumonie associée à la ventilation mécanique. *Le Praticien en anesthésie réanimation* (2018) 22, 10—16.
- 175-Höffken G, Niederman MS: Nosocomial pneumonia. The importance of a de-escalating strategy for antibiotic treatment of pneumonia in ICU. *Chest* 2002; 122: 2183-96.
- 176- Torres A, Niederman MS, Chastre J, et al. International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J* 2017; 50: 1700582.
- 177- Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.*

2016;63:e61.

178- M Leone, L Bouadma, B Bouhemad, O Brissaud, S Dauter, S Gibo et al. Pneumonies associées aux soins de réanimation *Anesth Reanim*. 2018; 4: 421–441.

179-Solé-Lleonart C, Rouby J-J, Blot S, Poulakou G, Chastre J, Palmer LB, et al.

Nebulization of antiinfective agents in invasively mechanically ventilated adults: a systematic review and metaanalysis. *Anesthesiology* 2017;126(5):890—908 [Revue systématique de la littérature et méta-analyse sur l'administration des antibiotiques par voie nébulisée chez les patients sous ventilation mécanique, montrant que cette méthode pourrait être plus efficace notamment dans les infections à bactéries multirésistantes, et que cette approche semble diminuer la néphrotoxicité. Toutefois, cette méthode semble être associée à un taux plus élevé de complications respiratoires en particulier chez les patients les plus hypoxémiques].

180-Rodloff AC, Leclercq R, Debbia EA, Canton R, Oppenheim BA, Dowzicky MJ.

Comparative analysis of antimicrobial susceptibility among organisms from France, Germany, Italy, Spain and the UK as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:307-14.

181- Ben Redjeb S. Sensibilité aux antibiotiques des principaux bactéries isolées dans le service des brûlés. *Brulures* 2005;6.

182- Philippe Montravers, Sylvain Jean-Baptiste, Enora Thiery, Darko Arnaudovski
Prévention des pneumopathies nosocomiales MAPAR 2016 : 335-340.

183-Guérin C, Girard R, Chemorin C, De Varax R, Fournier G : Facial mask noninvasive mechanical ventilation reduces the incidence of nosocomial pneumonia. A prospective epidemiological survey from a single ICU. *Intensive Care Med* 1997; 23: 1024-32.

184- Nouridine K, Combes P, Carton MJ, Beuret P, Cannamela A, Ducreux JC : Does noninvasive ventilation reduce the ICU nosocomial infection risk ? A prospective clinical survey. *Intensive Care Med* 1999; 25: 567-73.

185- Kollef MH. The prevention of ventilator-associated pneumonia. *N Engl J Med* 1999 ; 340 : 627-34.

186-Van Saene HKF, Baines PB. The prevention of ventilator associated pneumonia (letter). *N Engl J Med* 1999; 341: 293-4.

187- Klompas M, Branson R, Eichenwald ED, et al. Strategies to prevent ventilator-associated pneumonia in acute care hospitals: 2014 update. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014;35:915.

188-Pingleton SK. Enteral nutrition and infection in the intensive care unit. *Sem Respir Infect* 1990; 5: 185-90.

189- American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:388-416.

190-XVIII Conférence de consensus en réanimation. *Réanimation. Urgences* 1998; 7:435-525.

191-Kress JP, Pohlman AS, O'connor MF, et al. Daily interruption of sedative infusions in critically ill patients undergoing mechanical ventilation. *N. Engl. J. Med*, 2000; 342:147-7.

192-Fourrier F, Dubois D, Pronnier P, et al (2005) Effect of gingival and dental plaque antiseptic decontamination on nosocomial infections acquired in the intensive care unit: a double-blind placebo-controlled multicenter study. *Crit Care Med* 33:1728–35.

- 193- Zanatta FB, Antoniazzi RP, Rösing CK (2007) The effect of 0.12% chlorhexidine gluconate rinsing on previously plaque-free and plaque-covered surfaces: a randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol* 78:2127–34.
- 194-Mathur T, Singhal S, Khan S, Upadhyay DJ, Fatma T, Rattan A. (2006) detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian journal of medical Microbiology*; 24(1):25-9.
- 195-Bo L, Li J, Tao T, Bai Y, Ye X, Hotchkiss RS, Kollef MH, Crooks NH, Deng X. Probiotics for preventing ventilator-associated pneumonia. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;10:Cd009066.
- 196- F. Miller Ventilator-Associated Pneumonia. *Anaesthesia tutorial of the week* 2018;382:6.
- 197- Alfandari S et al., infections nosocomiales. *Épidémiologie, critères du diagnostic, prévention et principe du traitement. Impact internat : maladies infectieuses ; N°4 : 161-8.*
- 198-Astragneau P et al., épidémiologie des infections nosocomiales. *Rev prat* 2001 ; 48 : 1525-9 .
- 199-JL Trouillet. Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique 5e conférence de consensus commune SFAR-SRLF). *Réanimation Médicale, Institut de Cardiologie, GH Pitié Salpêtrière PARIS 19e 2010. P 4-14.*
- 200-Fagon J, Chastre J, Vuagnat A, Trouillet J, Novara A, Gibert C. Nosocomial pneumonia and mortality among patients in intensive care units. *JAMA* 1996; 275:866–9.
- 201- Zack J. 2004. W.H.A.P. V.A.P. Ventilator-Associated Pneumonia.
- 202- Girard R, Perraud M, Pruss A, et al. Prevention of Hospital-Acquired Infections: A Practical Guide. Online [2nd]. 2002. World Health Organization.
- 203- Fekih Hassen. M, Ayed. S, Bensik Ali. H, Gharbi.R, Marghli.S, Elatrousl.S. Durée de l'antibiothérapie lors du traitement des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique : comparaison entre sept jours et dix jours .Etude pilote. *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation* 28. pages16 –23 .2009.
- 204-Berthelot P .2009. Infection respiratoire .CCLIN sud-est 1-4.
- 205- Girault C. Nosocomial pneumopathies in mechanical ventilation. *Rev Mal Respir.* 2002; 19(5 Pt 2):S121-123.
- 206-Charles MP, Kali A, Easow JM, Joseph NM, Ravishankar M, Srinivasan S, et al. Ventilator-associated pneumonia. *Australas Med J.* 2014;7(8):33444.
- 207-Wang G, Ji X, Xu Y, Xiang X. Lung ultrasound: a promising tool to monitor ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. *Crit Care [Internet]* 2016;20 [Review sur l'échographie pulmonaire dans les PAVM en réanimation. Met en évidence l'utilité de l'échographie pulmonaire, par rapport à la radiographie de thorax et au scanner, comme méthode simple, non invasive, reproductible, fiable et avec une courbe d'apprentissage rapide, pour le diagnostic et le suivi des PAVM. Décrit les principales anomalies échographiques à rechercher et propose un protocole pour le monitoring échographique des PAVM].
- 208-Fagon JY, Chastre J, Hance AJ, Montravers P, Novara A, Gibert C. Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. *Am J Med* 1993 ;94 : 281-8.
- 209- Warren DK, Shukla SJ, Olsen MA, Kollef MH, Hollenbeak CS, Cox MJ, Cohen MM,

- Fraser VJ. Outcome and attributable cost of ventilator-associated pneumonia among intensive care unit patients in a suburban medical center. *Crit Care Med* 2003 ;31 : 1312-7.
- 210- Deham S. Les pneumopathies nosocomiales en milieu de réanimation au CHU HASSAN II FÈS. 2014 mémoire ; 15-33.
- 211- Li Chang, Yun Dong, Ping Zhou Investigation on Risk Factors of Ventilator-Associated Pneumonia in Acute Cerebral Hemorrhage Patients in Intensive Care Unit *Can Respir J*. 2017; 2017: 7272080.
- 212-Gs, I. B., Pete, Y., Jon, T., Koffi, N., Oc, K., C, N., Ogondon, B., Kouadio, S., Able, E., Ke, K., & Brouh, Y. (2019). thérapeutiques et évolutives des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique en réanimation à Bouaké (RCI). *Epidemio-clinical , bacteriological , therapeutic and evolutionary characteristics of the ventilator-associated pneumonia in intensive care unit in Bouaké (Ivory Coast)*. 9–16.
- 213-Barie PS. Importance morbidity and mortality of pneumonia in the intensive surgical care unit. *Am. J. Surg* 2000; 179:2S-7S.
- 214-Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte. Réseau REA-Raisin, France, Résultats 2014. Saint Maurice: Institut de veille sanitaire ; 2016. 48 p. Disponible à partir de l'URL: <http://www.invs.sante.fr>.48.
- 215-Oran, B. P. A. M., Agag, F., Beldjilali, H., Tidjani, R., Boukhari, H., Ouhadj, S. Bettayeb, A., Meddeber, K., Zina, M., & Midoun, N. (2013). Article original Profil épidémiologique des infections associées aux dispositifs médicaux invasifs dans un service de réanimation algérien Résumé Epidemiological profil of invasive medical device-associated infections in an algerian intensive care unit Summary Matériel et Méthodes Type d ' étude Analyse statistique et Méthodes de. 6(June 2012), 879–886.
- 216-Said H, Ben Rejeb M, Khfacha S, Chebil D, Dhidah L, Naija W. Les bactériémies associées aux soins en milieu de réanimation – étude d'incidence au CHU Sahloul, Sousse, Tunisie (2010–2011). *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*. 2013;61(Supplément 4):S340.
- 217-Nseir S, Di Pompeo C, Soubrier S, et al(2005) Impact of ventilator-associated pneumonia on outcome in patients with COPD. *Chest* 128:1650–6.
- 218-Erbay RH, Yalcin AN, Zencir M, et al (2004) Costs and risk factors for ventilator-associated pneumonia in a Turkish university hospital's intensive care unit: a case-control study. *BMCPulmMed*4:3.
- 219-Garrouste-Orgeas M, Timsit JF, Soufir L, et al (2008) Impact of adverse events on outcomes in intensive care unit patients. *Crit Care Med* 36:2041–7
- 220-Lisboa T, Diaz E, Sa-Borges M, et al (2008) The ventilator-associated pneumonia PIRO score: a tool for predicting ICU mortality and health-care resources use in ventilator-associated pneumonia. *Chest* 134:1208–16.
- 221- El Rhazi K, Elfakir S, Berraho M, Tachfouti N, Serhier Z, Kanjaa C, Nejjaril C. Prévalence et facteurs de risque des infections nosocomiales au CHU Hassan II de Fès (Maroc). *La revue de santé de la Méditerranée orientale* 2007 ; 13 : 56-63.
- 222- Diling Wu, Chenfang Wu, Siye Zhang et Yanjun Zhong. Risk Factors of Ventilator Associated Pneumonia in Critically ill Patients. *Frontiers in pharmacology* 2019: 10: 482.

- 223- Ben Aljia N, Turki O, Zayani R et al. Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique Etude prospective de 65 cas. Service de Réanimation médicale CHU Habib Bourguiba Sfax. Tunisie 2012.
- 224- Ghita Yahyaoui, Zineb Taki, and Mustapha Mahmoud Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique : caractéristiques microbiologiques au CHU Hassan II De Fès International Journal of Innovation and Applied Studies ISSN 2028-9324 Vol. 20 No. 3 Jun. 2017, pp. 781-786.
- 225-De, M., Supérieur, E., & Scientifique, R. (2017). These pour l'obtention du grade de docteur les pneumopathies acquises sous ventilation mecanique : bacteriologie et biofilm les pneumopathies acquises sous ventilation mecanique : bacteriologie et biofilm thèse présentée par D r. Lahcène Benmahdi.
- 226-Norton M.D, AJ Spilkia, V.G Godoy.Antibiotic resistance acquired through a DNA damage-inducible response in *Acinetobacter baumannii*. J Bacteriol 2013;195(6): 1335-45.
- 227-Ben Haj Khalifa A: Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches d'Acinéto**ba**umannii isolées dans la région de Mahdia (Tunisie)Médecine et maladies infectieuses 2009.
- 228-El Ghazouani.G : les infections à germes multiresistants en reanimation ,pour l'obtention du doctorat en medecine, universite cadi ayyad ;marrakech,2010.
- 229-Rafiq, B., & Samkaoui, M. A. (2010). Les pneumopathies nosocomiales acquises sous ventilation mécanique -A propos de 109 cas- Matériel et méthode. 1–5.
- 230-Moland ES, Hanson ND, Black JA, Hossain A, Song W, Thomson K.S : Prevalence of newer beta-lactamases in gram-negative clinical isolates collected in the United States from 2001to2002.JClinMicrobiol2006;44:3318-3324.
- 231-Pittet D, Allegranzi B, Sax H, et al : Evidence-based model for hand transmission during patient care and the role of improved practices. Lancet Infect. Dis., 2006, 6 (10), pp.641-652.
- 232-Zahi H .Pneumopathie nosocomiale (A propos de 60 cas) .fès 2012 Thèse N°062/12 ;43-90.
- 233-Dawn M, Sievert, Philip Ricks, Jonathan R. Edwards, Amy Schneider, Jean Patel, Arjun Srinivasan, Alex Kallen, Brandi Limbago, Scott Fridkin : Antimicrobial Resistant Pathogens Associated with Healthcare Associated Infections : Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010.InfectControlHospEpidemiol2013;34(1):1-1
- 234-Meyer E. Frank Schwab. Barbara Schroen Boersch and Petra Gastmeier Research (2010) : Dramatic increase of third- generation cephalosporin-resistant E.coli in german intensive care units secular trends in antibiotic drug use and bacterial resistance (2001-2008) Rev,CriticalCare2010,14:R113.4
- 235-Akcaay S, Inan A, Cevan S, Nilufer Ozaydin A, Cobanoglu N, Celik Ozyurek S, Aksaray S : Gram-negative bacilli causing infections in an intensive care unit of a tertiary care hospital inIstanbul,Turkey,JInfectDevCtries,2014,8(5):597-604
- 236-Wattala C, Raveendrana R, Goela N, Oberoia J, Brijendra Kumar R, (2014) : Ecology of blood stream infection and antibiotic resistance in intensive care unit at a tertiary care hospital inNorthIndiabrazjinfectdis.2014;18(3):245–251.
- 237-Elouennas M et al : épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002-2005) Med Mal Infect, 2008.38 : p 18-24.
- 238-Villalobos H, Rodriguez-Struelens MJ. (2006) : Résistance bactérienne par β -lactamases

- à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation* 2006; 15:205–213.
- 239- Raimondi A., et al. Mutation in *Serratia marcescens* AmpC beta-lactamase producing high-level resistance to ceftazidime and ceftiprome. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45:2331-9.
- 240- Forestiera E, Rémya V, Mohseni-Zadeha M, Lesensb O, Jauhlacc B, Christmanna D, Hansmanna Y : Bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : aspects épidémiologiques et thérapeutiques récents. *La Revue de médecine interne* 2007 ; 28:746–755.
- 241-Elhamzaoui S, Benouda A, Allali F, Abouqual R, Elouennass M : Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans deux hôpitaux universitaires à Rabat, Maroc. *Méd Mal Infect* 2009 ; 39:891–895.
- 242-Carlet J, Benali A : Existe-t-il une alternative aux glycopeptides pour le traitement des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ? *Réanimation* 2006 ; 15:176–179.
- 243-Lepelletier.D : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : incidence, facteurs de risque de colonisation et intérêt du dépistage systématique en unité de soins intensifs et réanimation. *Ann Fr Anesth Réanim* 25 (2006) 626–632.

Listes des annexes

Annexe 1 : Classification des entérobactéries	XXXII
Annexe 2 : Caractères biochimiques des genres appartenant à la famille des entérobactéries les plus fréquemment rencontrés.....	XXXII
Annexe 3 : Classification moléculaire et fonctionnelle des bêtalactamases (classification selon Ambler et Bush).....	XXXIII
Annexe 4 : Prélèvements distaux protégés.....	XXXIV
Annexe 5 : Spectrométrie de masse MALDI-TOF en bactériologie clinique	XXXVI
Annexe 6 : Technique d'antibiogramme.....	XXXIX
Annexe 7 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI.....	XL
Annexe 8 : Technique de CMI en milieu solide.....	XLII
Annexe 9 : Techniques de screening de la résistance aux glycopeptides chez les staphylocoques.....	XLIII

ANNEXES

Annexe 1 :

Classification des entérobactéries [97].

Genre	Espèce
<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Shigella boydii</i> , <i>Shigella flexnerii</i>
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> , <i>paratyphi A, B, C</i> (2000 espèces)
<i>Klasiella</i>	<i>Klasiella pneumoniae</i> , <i>Klasiella oxytoca</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i>
<i>Providentia</i>	<i>Providentia rettgeri</i> , <i>Providentia stuartii</i>
<i>Morganella</i>	<i>Morganella morganii</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Hafnia</i>	<i>Hafnia alvei</i>
<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia pestis</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>

Annexe 2 :

Caractères biochimiques des genres appartenant à la famille des entérobactéries les plus fréquemment rencontrés [97].

	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klasiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providentia</i>	<i>Yersinia</i>
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Urée	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H ₂ S	-	+/-	-	-	-	+/-	-	+/-	-	-

Annexe 3[101]

Classification moléculaire et fonctionnelle des bêta-lactamases (classification selon Ambler et Bush)

Classe moléculaire (Ambler)	Groupes fonctionnels (Bush & al.)	Type de β-lactamase et exemples représentatifs	Bactéries impliquées	Inhibition par acide clavulanique	Inhibition par EDTA	β-lactamines hydrolysées	β-lactamines stables
β-lactamases à sérine active Classe A	2a	Pénicillines	Bactéries à Gram positif	++	-	Pénicillines sauf pénicillines M	Pénicillines M, C1G, carbapénèmes
	2b	β-lactamase à large spectre TEM-1 & 2, SHV-1 plasmidiques et chromosomiques	Bactéries à Gram négatif	++	-	Amino-, carboxy- et urédo-pénicillines, C1G, C2G	Céphamycines, C3G, moxalactam, carbapénèmes, aztreonam
	2be	β-lactamases à spectre élargi aux C3G et à l'aztreonam SHV-2 à 9, TEM-3 à 29, VEB-1, plasmidiques	Entérobactéries, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++	-	Idem 2b + C3G et aztreonam	Céphamycines, moxalactam, carbapénèmes
	2br	β-lactamases à large spectre résistant à l'ac clavulanique TR1 : dérivé TEM-30 à -41, plasmidiques	Entérobactéries	-	-	Idem 2b + associations aux inhibiteurs de β-lactamases	Idem 2b
	2c	Carbénicillases PSE-1, PSE-3, PSE-4 plasmidiques	Bactéries à Gram négatif	+	-	Idem 2b	Idem 2b
	2e	Céphalosporinases chromosomiques inhibées par l'acide clavulanique - Cefuroxime Cum A (<i>P. vulgaris</i>), - L2 (<i>S. maltophilia</i>)	Bactéries à Gram négatif (surtout entérobactéries)	++	-	Amino-, carboxy- et urédo-pénicillines, C1G, C2G, certaines C3G	Ceftazidime, céphamycines, aztreonam, carbapénèmes
	2f	Carbapénémases à site actif sérine et inhibées par l'acide clavulanique Ex : IMI-1, NMC-A, chromosomiques	Entérobactéries	+	-	Idem 2b + aztreonam, carbapénèmes et certaines C3G	Certaines C3G
Classe C	1	Céphalosporinase AmpC chromosomiques (Entérobactéries*, <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Acinetobacter</i> spp.) et plasmidiques (CMY, FOX, MOX, MIR-1...)	Bactéries à Gram négatif	-	-	Toutes les β-lactamines sauf les carbapénèmes	Carbapénèmes
Classe D	2d	Oxacillines OXA-1 à -20 plasmidiques et chromosomiques	Bacilles à Gram négatif	V	-	Idem 2b (+ parfois C3G, aztreonam ou carbapénème)	Variable
Pas de classe attribuée	4	Enzymes indéterminées Ex : enzymes chromosomiques de <i>C. jejuni</i> , <i>C. cepacia</i> ...	Espèces variées	-	-	Variable	Variable
β-lactamases Zinc-dépendances Classe B	3	Métallo-β-lactamases IMP-1/3 chromosomiques ou plasmidiques, enzymes chromosomiques de <i>Aeromonas</i> spp., <i>Flavobacterium</i> spp. <i>S. maltophilia</i> L1	Bactéries à Gram négatif	-	++	Large profil de substrats dont les carbapénèmes	Variable

Inhibition : inhibiteur fort++, inhibiteur modéré+, négligeable -, V : variable
 * *E. coli* (bas niveau), *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *M. organii*, *S. marcescens*, *H. alvei*, *P. stuartii*, *P. rettgeri*

Annexe 4 : **Prélèvements distaux protégés [147].**

Le prélèvement pulmonaire distal protégé se fait à l'aide d'un cathéter distal protégé selon la technique décrite par Brun-Buisson et Pham dans des conditions d'asepsie rigoureuses. Il est réservé aux malades intubés et ventilés avec des lésions pulmonaires bilatérales puisque l'introduction du double cathéter protégé se fait à l'aveugle. Un cathéter doublement protégé est inséré via la sonde d'intubation dans les voies aériennes. On injecte 1 ml de sérum physiologique stérile puis on aspire les sécrétions à la seringue. Après rétraction du dispositif, l'extrémité distale du cathéter interne est sectionnée (4 à 5 cm) aseptiquement et placée dans un tube stérile avec les sécrétions. Le prélèvement est acheminé immédiatement au laboratoire.

Recevabilité des prélèvements

Vérifier la conformité du prélèvement : flacons ou tubes stériles, aspect et quantité des sécrétions, présence du bout du cathéter.

Examen direct

Examen macroscopique

Noter l'aspect : clair, purulent, hématique ...

Examen microscopique

Homogénéiser le prélèvement au vortex.

Réaliser un frottis coloré au Gram sur la fraction la plus purulente.

Observer la lame à l'objectif 100 afin d'apprécier :

La présence éventuelle de germes, leurs morphologies et affinités tinctoriales.

La présence d'une flore bactérienne polymorphe peut refléter une contamination du prélèvement par la flore commensale des voies aériennes supérieures.

La réaction cellulaire : Apprécier l'intensité de la réaction cellulaire (faible, moyenne, importante) et définir son type (prédominance de lymphocytes ou de polynucléaires).

NB : La réaction cellulaire est mieux appréciée sur un frottis coloré au MGG.

Culture

-L'ensemencement des milieux de culture est réalisé avant toute autre manipulation afin d'éviter la contamination de l'échantillon.

-Homogénéiser au vortex pendant 1 à 2 minutes. Réaliser les dilutions successives à l'aide du sérum physiologique stérile: 1/10 (100 µl de l'échantillon fluidifié + 900 µl sérum physiologique stérile) 1/100 (100 µl de la dilution 1/10 + 900 µl sérum physiologique stérile)

-Déposer 10 µl du prélèvement primaire au centre des différents milieux de culture.

-Déposer 10 µl de la suspension diluée au centre de la gélose chocolat ou à défaut la gélose au sang frais en commençant par la dilution la plus faible.

-Etaler les 10 µl sur l'ensemble de la gélose à l'aide de la pipette râteau en faisant tourner la boîte.

-Milieux de culture utilisés :

Géloses enrichies (non sélectives pour les germes exigeants) : Gélose chocolat polyvitex,

Gélose au sang frais

Géloses sélectives : *Staphylocoque sp* (milieu Chapman),

Bacilles à Gram négatif (type désoxycholate citrate lactose),

Gram positif : Gélose au sang + acide nalidixique, colistine, *Pseudomonas aeruginosa* (Gélose au ceftrimide).

-Incuber les milieux de culture pendant 24 à 48 h à 37+/-2°C. Les géloses au sang et chocolat sont incubés en atmosphère enrichie en CO₂.

Interprétation des résultats

Après incubation, quantifier le nombre de colonies.

Les résultats sont exprimés en unité formant colonie (UFC)/ml en tenant compte des dilutions.

Pour le prélèvement sans dilution : 1 colonie= 10² UFC/ml,

Pour la dilution 1/100

Le seuil de positivité retenu pour ce type de prélèvements est de 10³ UFC/ml.

1 colonie= 10² UFC/ml.

Identification bactérienne

L'identification bactérienne est basée sur les caractères cultureux (aspect des colonies, pousse sur milieu sélectif ou enrichi, atmosphère et durée d'incubation), la coloration de Gram, les caractères biochimiques et enzymatiques (catalase, oxydase, galeries d'identification ...) ainsi que les caractères antigéniques.

Antibiogramme

Se référer aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie pour le choix des milieux, des antibiotiques à tester, des conditions d'incubation ainsi que pour la lecture et l'interprétation des résultats.

Annexe 5 :

Spectrométrie de masse MALDI-TOF en bactériologie clinique [156].

La spectrométrie de masse est une technique physique d'analyse extrêmement sensible, existant depuis près d'un siècle, permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt. On peut schématiser un spectromètre de masse en 4 parties : le système d'introduction de l'échantillon, la chambre d'ionisation, produisant des ions en phase gazeuse, l'analyseur, séparant les ions en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z) et le détecteur, transformant le courant ionique en courant électrique.

L'ionisation est l'étape la plus importante pour l'identification des molécules. La spectrométrie de masse MALDI-TOF repose sur une technique d'ionisation, mise au point dans les années 80, et conduisant à l'identification de biomarqueurs de poids moléculaires élevés : il s'agit d'une désorption-ionisation laser assistée par matrice (ou MALDI: Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization). L'échantillon à analyser est déposé sur une cible et est traité par une matrice appropriée. Après introduction de la cible dans le système, elle est bombardée par un laser. Les ions ainsi générés dans la chambre d'ionisation sont accélérés dans un champ électrique qui les dirige dans un tube de vol vers l'analyseur. Ce dernier permet de séparer et de classer les ions accélérés selon leur temps de vol (TOF : Time-Of-Flight) et de produire un spectre de masse. Le spectre de masse obtenu est une sorte d'empreinte digitale spécifique et unique de la composition en protéines du microorganisme analysé, qui peut être comparé à une banque de données de spectres. Notons que ce n'est que récemment que la spectrométrie de masse MALDI-TOF a été adaptée comme technique rapide, précise et peu coûteuse pour la routine des laboratoires de microbiologie.

A l'heure actuelle, deux constructeurs proposent des systèmes permettant l'identification des microorganismes par spectrométrie de masse MALDI-TOF, avec un mode de fonctionnement et une qualité assez comparables : le Biotyper MALDI-TOF MS de Bruker (Fig. 1) et le système AXIMA de Shimadzu utilisant la base de données SARAMIS d'Anagnostec.

Importance de la base de données

L'identification par MALDI-TOF est basée sur les découvertes suivantes : (i) l'empreinte spectrale varie entre les microorganismes, (ii) parmi les composés détectés dans le spectre de masse, certains pics sont spécifiques du genre, de l'espèce et même dans certains cas de la sous espèce, (iii) les spectres obtenus sont reproductibles pour autant que la croissance des bactéries se fasse dans les mêmes conditions. Cependant, même si les conditions de culture varient, de nombreux pics sont conservés (1) : ce sont ceux-ci qui sont potentiellement les plus aptes à être utilisés comme biomarqueurs spécifiques, permettant l'identification bactérienne. Cette identification est basée sur la comparaison de la position des pics du spectre de masse inconnu avec tous les spectres typiques enregistrés dans la banque de données de spectres. Un score d'appariement classe les spectres et précise la ou les identifications bactériennes les plus plausibles, dans l'ordre de probabilité. Les bibliothèques de spectres sont fournies, validées et mises à jour par les firmes commercialisant les systèmes MALDI-TOF. Actuellement, la banque de spectres de la firme Bruker permet l'identification de 3.476 organismes cellulaires: 3.216 bactéries (entérobactéries, bacilles Gram négatif non fermentants, staphylocoques, streptocoques, mycobactéries, bactéries anaérobies, ...) et 260 champignons (*Candida*, champignons filamenteux, ...). Cette banque de données, permettant l'identification de pathogènes d'intérêt clinique et de microorganismes de l'environnement, peut être enrichie par l'utilisateur : il est possible d'y introduire de nouveaux spectres qui s'ajouteront à ceux déjà configurés par le constructeur. Il est important de savoir que les espèces bactériennes dont le profil protéique est comparable, voire identique, ne pourront être discriminées par la technique MALDI-TOF. Ainsi, la technique est peu performante pour l'identification correcte des streptocoques viridans et pour leur discri

mination vis-à-vis de *Streptococcus pneumoniae* par exemple. L'identification de certaines espèces comme les streptocoques, les bactéries anaérobies ou les champignons pourrait être améliorée par une mise à jour et un enrichissement de la base de données les concernant. Il n'y a théoriquement aucune limite à la capacité d'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF pour autant que la base de données contienne suffisamment de spectres de référence adéquats.



Microflex MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics)

Analyse de culture bactérienne sur gélose

La colonie bactérienne est directement déposée sous forme d'un fin frottis à la surface d'une plaque métallique, la cible, puis recouverte par une matrice appropriée. Jusqu'à 96 souches par série peuvent être étudiées pour le système Bruker et 384 pour le système Shimadzu. La cible est ensuite introduite dans le système MALDI-TOF et, en moins de 2 minutes, le premier spectre de masse est produit et analysé. Par comparaison avec la base de données, le logiciel informatique propose l'identification la plus probable.

Plusieurs études ont été publiées sur les performances des systèmes MALDI-TOF MS pour l'identification des microorganismes dans les laboratoires de routine de microbiologie clinique (2, 3, 4). Seng et al. (2) ont notamment montré que, parmi les 1.660 isolats bactériens étudiés, représentant 109 espèces différentes, 84,1% ont été correctement identifiés jusqu'au niveau de l'espèce et 11,3% jusqu'au niveau du genre. Selon les auteurs, l'absence d'identification (46 souches soit 2,8%) ou une identification erronée (28 souches, soit 2,8%) sont dues à une utilisation incorrecte de la base de données. De plus, les auteurs n'ont pas noté de discordance entre la coloration de Gram et le MALDI-TOF, suggérant que ce dernier pourrait être utilisé en première ligne, avant même la coloration de Gram. L'ensemble des publications confirme le rôle des systèmes MALDI-TOF MS comme outil d'identification de première ligne dans un laboratoire de routine, mais insiste également sur l'importance des mises à jour de la base de données.

Analyse de microorganismes après extraction

Pour l'identification de certains microorganismes (levures, champignons filamenteux, myco bactéries), une extraction préalable des protéines est recommandée afin de produire un spectre de masse exploitable. Il en est de même pour les échantillons primaires tels que les hémocultures positives et les urines. Cette étape d'extraction allonge le temps de manipulation de 10 à 15 minutes par extrait, par rapport à la technique de dépôt direct.

Dans les laboratoires de microbiologie clinique, les hémocultures représentent toujours le prélèvement le plus significatif pour le diagnostic des infections bactériennes aiguës sévères. Des automates, tels que le BactAlert® (bioMérieux), ou le Bactec® (Becton Dickinson), réalisent un monitoring en continu de la croissance bactérienne afin de détecter celle-ci

précocement. Une fois l'hémoculture positivée, une identification présomptive rapide basée sur l'examen direct après coloration de Gram permet déjà d'adapter approximativement l'antibiothérapie. A ce stade, une identification complète, en routine, se réalise généralement en 1 à 2 jours mais peut être plus longue pour les microorganismes fastidieux ou atypiques. Les techniques de biologie moléculaire (PCR en temps réel, microarrays, FISH) sont en cours d'évaluation pour la détection rapide des bactéries et de leur mécanisme de résistance directement dans les hémocultures positives (5). Actuellement, ces systèmes fermés ne permettent la détection que d'un nombre restreint de pathogènes, ils coûtent cher et requièrent souvent des compétences techniques particulières. La spectrométrie de masse MALDI-TOF permet l'identification des microorganismes présents dans des hémocultures, en routine, le jour même de leur positivité, soit un à deux jours plus tôt que par une technique phénotypique conventionnelle. Une étape importante d'extraction est nécessaire : elle consiste à séparer les bactéries des autres composants cellulaires de l'échantillon. Plusieurs procédés d'extraction existent comme par exemple la centrifugation différentielle ou la lyse des membranes cellulaires par un détergent. D'après La Scola et Raoult (6), il y a cependant quelques limites : (i) pour les hémocultures polymicrobiennes (qui sont peu fréquentes), une seule des espèces présentes, dans le meilleur des cas, peut être identifiée, et (ii) le problème dû au manque de discrimination entre certaines espèces bactériennes. Parallèlement, en utilisant une étape de concentration, l'identification directe dans les urines est réalisable (7), sans toutefois permettre une quantification des bactéries. Une identification fiable par MALDI-TOF MS dépendra du nombre de microorganismes présent dans l'échantillon urinaire (>10⁵ CFU/ml au minimum) mais aussi de l'espèce bactérienne. Par ailleurs, cette technique ne semble pas être pratique dans un laboratoire de routine étant donné le nombre important d'échantillons urinaires et l'existence de techniques d'orientation diagnostique telles que la coloration de Gram ou la cytométrie en flux pour l'analyse des éléments figurés urinaires.

Annexe 6 :

Technique d'antibiogramme [157].

Diffusion en gélose, les techniques suivantes ont été rédigées et validées par l'AARN.

Milieu de culture :

- Gélose Mueller Hinton (MH), coulée en boîte de Pétri sur une épaisseur de 4mm.
- Les géloses sont séchées avant l'emploi.

Inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mac Farland.
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- Essorer l'écouvillon en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

Application des disques d'antibiotiques :

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm, centre à centre.
- Tester la liste des antibiotiques (Bêtalactamines utilisées dans notre panel).
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

Incubation :

- 18 heures à 35°C

Lecture :

- Mesurer avec précision, à l'aide d'un pied à coulisse métallique, les diamètres des zones d'inhibition à, à l'extérieur de la boîte fermée.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture pour entérobactéries, *Acinetobacter* spp. et *Pseudomonas aeruginosa* selon AARN.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

Annexe 7 :

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI [157]

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les *Entérobactéries* [157].

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfoxitine (2g toutes les 8h), céfotaxime (1g toutes les 8h).
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés.
Céfalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).
Céfoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Pour prédire les résultats des céphalosporines orales quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire, le test de la céfazoline est préféré à celui de la céphalotine.
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	Les résultats de la céfazoline permettent de prédire les résultats pour les céphalosporines orales : céfador, céfdinir, céfpodoxime, céfprozil, céfuroxime axétil, céphalexine et loracarbef quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire dues à <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>P. mirabilis</i> . Céfpodoxime, céfdinir et céfuroxime axétil peuvent être testés individuellement car certaines souches peuvent être sensibles à ces antibiotiques alors qu'elles sont résistantes à la céfazoline.
Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤ 14	----	≥ 15	≥ 32	----	≤ 16	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1 g toutes les 8h.
Céftazidime	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h.
Aztréonam	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	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 : Imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h.
Impipénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5	
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'acide nalidixique à l'antibiogramme.
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	Valable pour entérobactéries autres que <i>Salmonella</i> Typhi et <i>Salmonella</i> spp. extra-intestinales.
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ne pas reporter en routine pour les souches isolées d'ITU sauf pour les salmonelles. Valable pour <i>S. Typhi</i> et <i>Salmonella</i> spp. extra-intestinales.
Colistine**	CMI	-----	-----	-----	>2	-----	≤2	
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1.25/ 23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa* [157].

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcline	75 µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128	32 - 64	≤ 16	Les valeurs critiques pour la pipéracilline et la ticarcline (avec ou sans ac clavulanique), sont basées sur une posologie d'au moins 3g toutes les 6 heures.
Ticarcline + ac. clavulanique	75/10µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128/2	32/2 – 64/2	≤ 16/2	Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'ATM (voir chapitre tests complémentaires).
Pipéracilline	100 µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 128	32 - 64	≤ 16	L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises.
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Céftazidime 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	
Impipénème	10 µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2	En cas de diamètre R ou I, faire une détection de carbapénémases (voir recherches complémentaires). Valeurs critiques basées sur une posologie de 1g toutes les 8 heures ou 500mg toutes les 6 heures.
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Nétilmicine	30 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Fosfomycine**	---	---	-----	---	---	---	---	Des observations cliniques suggèrent que les infections dues à des souches pour lesquelles la CMI de la fosfomycine est ≤ 128 mg/L (ECOFF) (Epidemiological cut-off value) pourraient être traitées avec de la fosfomycine.
Colistine	10µg	≤ 10	-----	≥ 11	≥ 8	4	≤ 2	

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter* spp [157].

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarilline	75 µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128	32-64	≤ 16	Le disque de TCC doit être placé à côté du disque de CAZ. Une synergie entre les 2 disques indique la présence d'une BLSE. (voir recherches complémentaires). Les critères d'interprétation pour l'imipénème sont basés sur la posologie de 500 mg toutes les 6h.
Ticarilline + ac.clavulanique	75/10µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128/2	32/2-64/2	≤ 16/2	
Pipéracilline	100 µg	≤ 17	18 - 20	≥ 21	≥ 128	32-64	≤ 16	
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Imipénème	10 µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 2	
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Nétilmicine	CMI	---	----	-----	> 32	16	< 8	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Doxycycline	30µg	≤ 9	10 - 12	≥ 13	≥ 16	8	≤ 4	Si résistance à doxycycline, réponse valable pour tétracycline.
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	
Colistine	CMI	-----	-----	-----	≥ 4	-----	≤ 2	La colistine est testée pour usage thérapeutique. Il faut déterminer la CMI.

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus* spp [157].

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	≤ 28	---	≥ 29	≥ 0,25	-----	≤ 0,12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux (voir « Tests complémentaires »). Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamases (ampicilline, ticarilline, pipéracilline...)
Oxacilline (<i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i>)	-----	-----	-----	-----	≥ 4	-----	≤ 2	Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.
Céfoxitine (<i>S.aureus</i>)	30 µg	≤ 21	---	≥ 22	≥ 8	-----	≤ 4	La résistance à la céfoxitine signifie la résistance à toute la famille des β-lactamines.
Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i>)	-----	-----	-----	-----	≥ 0,5	-----	≤ 0,25	Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.
Céfoxitine (S.C.N.sauf <i>S.lugdunensis</i>)	30 µg	≤ 24	---	≥ 25	---	-----	---	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la
Kanamycine	30 µg	≤ 13	14 - 17	≥ 18	≥ 64	32	≤ 16	La détermination de la résistance à l'amikacine est mieux détectée avec la kanamycine. **
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14 - 22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0,5	Détecter la résistance inductible 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	2µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 4	1-2	≤ 0,5	
Vancomycine (<i>S. aureus</i>)		---	---	-----	≥ 16	4 - 8	≤ 2	Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vanco « S » et « I » de <i>Staphylococcus aureus</i> , ni de différencier les souches vanco « S », « I » et « R » de S.C.N., car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de vancomycine est obligatoire.
Vancomycine (SCN)		---	---	-----	≥ 32	8 - 16	≤ 4	
Teicoplanine	30 µg	≤ 10	11 - 13	≥ 14	≥ 32	16	≤ 8	
Ofloxacine	5µg	< 14	15 - 17	> 18	> 4	2	< 1	
Ciprofloxacine	5µg	< 15	16 - 20	> 21	> 4	2	< 1	
Lévofloxacine	5µg	< 15	16 - 20	> 21	> 4	2	< 1	
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	< 10	11 - 15	> 16	> 4/76	-----	< 2/38	
Rifamicine	5µg	< 16	17 - 19	> 20	> 4	2	< 1	
Tétracycline	30µg	< 14	15 - 18	> 19	> 16	8	< 4	Les souches sensibles à la tétracycline, sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Chloramphénicol	30µg	< 12	13 - 17	> 18	> 32	16	< 8	
Quinupristine-dalphopriline	15µg	≤ 15	16 - 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	A reporter pour les souches de <i>S. aureus</i> méthicillino-sensibles. Interprétation valable pour la pristinamycine.
Acide fusidique**	10 µg	< 24	-----	≥ 24	> 1		≤ 1	
Fosfomycine IV**		---	-----	---	> 32		≤ 32	

Annexe 8 : **Technique de CMI en milieu solide [157].**

1. Technique

a-Milieu de culture :

-Milieu Mueller-Hinton en gélose liquéfié par ébullition puis maintenu à la température de surfusion (45°C) jusqu'au moment de l'emploi.

b-Préparation des boîtes de dilutions d'antibiotique :

_ Peser 51,20 mg de poudre titrée d'antibiotique. Diluer dans le volume de solvant approprié pour obtenir une concentration stock de 5120 µg/ml (solution-mère).

_ Procéder aux dilutions semi-logarithmiques de raison 2 (de demi en demi), dans le solvant approprié, jusqu'à la concentration finale de 1,25 µg/ml.

_ Repartir 2 ml de chaque dilution d'antibiotique, dans la boîte correspondante en procédant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée. Ne pas changer de pipette.

_ Compléter chaque boîte avec 18 ml de milieu Mueller-Hinton liquéfié et homogénéiser délicatement, sans faire de bulle, le contenu des boîtes par des mouvements circulaires.

La dilution obtenue (1/10ème) dans chaque boîte aboutit à une concentration finale allant de 512 µg/ml à 0,125 µg/ml. La gamme de dilution peut être étendue selon les valeurs souhaitées.

_ Préparer une boîte témoin sans antibiotique en remplaçant le volume d'antibiotique par le même volume d'eau physiologique stérile.

_ Après solidification, sécher les boîtes, couvercle en place, pendant 30 mn.

c-Préparation de l'inoculum bactérien :

_ Préparer un inoculum standard à une turbidité de 0,5 MF, ce qui correspond à 1- 2.108 CFU/ ml en moyenne. Utiliser l'eau physiologique à 0,9% pour la préparation de la suspension directe à partir d'une culture jeune.

_ Déposer sous forme de spots à la surface de la gélose, 104 CFU/ml par spots de 5 à 8 mm.

_ Si on utilise un applicateur de 2µl par spot, diluer l'inoculum au 1/10ème en eau physiologique.

_ Si on utilise un applicateur de 0,1 à 0,2µl par spot, ne pas diluer l'inoculum de départ (0,5 MF).

d-Dépôt des spots bactériens :

_ Déposer les spots dans les 15 mn suivant la préparation de l'inoculum.

_ Marquer la boîte de dilution d'antibiotique pour localiser et identifier chaque spot
Appliquer chaque spot sur la gélose, en utilisant un appareil de Stères, une anse calibrée ou une pipette automatique à cône stérile.

_ Commencer par la boîte témoin, puis déposer les spots sur les différentes boîtes en allant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée. Terminer en appliquant les spots sur une 2ème boîte témoin.

_ Etaler une goutte de chaque souche testée, sur une gélose non sélective et incuber une nuit (détection des cultures mixtes, obtention d'une culture jeune).

e- Incubation :

_ Laisser les boîtes à température ambiante, couvercle vers le haut, jusqu'à absorption de l'humidité (séchage des spots, pas plus de 30 mn).

_ Renverser les boîtes et incuber à 35°C pendant 18 heures.

2. Lecture des CMI :

_ Placer les boîtes sur une surface sombre, non réfléchive

_ Noter la CMI.

- _ Ne pas prendre en considération 2 colonies ou un léger film
- _ Si on note plus de 2 colonies persistantes ou si l'on constate une réapparition de la culture au -delà de la CMI, vérifier la pureté de l'inoculum et refaire le test.
- _ Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- _ Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I [157].

Annexe 9 :

Techniques de screening de la résistance aux glycopeptides chez les staphylocoques [157].

Milieu	Technique	Interprétation (+)	Témoin (-)	Témoin (+)
BHI agar + 6µg/ml vancomycine	Spot de 10µl d'une suspension 0.5MF/ 24h à 35°C± 2°C	≥ 2 colonies	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 Sensible	<i>E. faecalis</i> ATCC 51299 Résistant
MH agar + 5µg/ml teicoplanine	Spot de 10µl d'une suspension 2MF / 24h à 35°C± 2°C	≥ 4 colonies	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 Sensible	<i>E. faecalis</i> ATCC 51299 Résistant
BHI agar	E-test modifié Ecouvillonnage avec 200µl d'une suspension à 2MF/ 24 à 48 h 35°C± 2°C	VAN et TEC ≥8µg/ml Ou TEC seule ≥12µg/ml	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 Sensible	<i>E. faecalis</i> ATCC 51299 Résistant

Résumé

Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) sont les infections nosocomiales les plus fréquentes et les plus graves en réanimation. Elles représentent environ 15 % des infections nosocomiales

Le diagnostic bactériologique est basé en routine sur les cultures quantitatives et qualitatives des prélèvements respiratoires distaux protégés (PDP).

Dans le but d'étudier les étiologies bactériennes des PAVM ainsi que le profil de résistance des germes isolés, on a réalisé une étude rétrospective sur 03 ans allant du 01/01/2018 au 31/12/2020 au niveau de l'unité de microbiologie du CHU Blida qui a porté sur 113 patients qui ont été hospitalisés dans l'unité de réanimation polyvalente subissant une ventilation mécanique sur sonde endotrachéale ou canule de trachéotomie et ont bénéficiés de 184 PDP dans le cadre du diagnostic d'une PAVM.

Notre population d'étude est principalement masculine avec un sex-ratio H/F de **2,89** (84/29). L'âge moyen des patients est de 48 ans avec des extrêmes d'âge allant de 16 mois à 87 ans. La tranche d'âge des plus de 60 ans est prédominante.

La PAVM est confirmée bactériologiquement dans **75,56%** (82/113) des cas.

Sur les 184 PDP analysés : **64,67%** (119/184) sont revenues positifs, **30,98%** (57/184) négatifs, et **4,35%** (8/184) contaminés.

On note une nette prédominance des cultures mono microbiennes **54,6%** (65/119) contre **37%** (44/119) de cultures bi microbiennes.

183 bactéries ont été isolées, les bacilles à gram négatif prédominent avec en tête *Acinetobacter baumannii* **39,51%** (44/183) suivi par *Klebsiella pneumoniae* **18,58%** (34/183) et *Pseudomonas aeruginosa* **15,85%** (29/183), *Haemophilus influenzae* **8,74%** (16/183). Les Cocci à gram positives sont dominés par *Staphylococcus aureus* à **11,48%** (21/183).

On note une multirésistance chez les souches d'*Acinetobacter baumannii*. La résistance à la céftazidime est égale à **90,48%** (38/42), à l'imipénème est égale à **97,06%** (33/34) La résistance aux fluoroquinolones (lévofloxacine et ciprofloxacine) est égale à **92,68%** (38/41) et **94,12%** (32/34) respectivement.

Le diagnostic des PAVM nécessite une confirmation microbiologique pour la prescription d'un traitement adéquat. Les mesures préventives sont toujours requises à la diminution de la fréquence de ces infections.

Mot clés : Pneumopathies, ventilation mécanique, réanimation, bactéries multi résistantes.. *Acinetobacter baumannii*.

ABSTRACT

Pneumopathies acquired under mechanical ventilation (PAVM) are the most common and serious nosocomial infections in resuscitation. They represent about 15% of nosocomial infections.

The bacteriological diagnosis is based routinely on quantitative and qualitative cultures of protected distal respiratory samples (PDP).

In order to study the bacterial etiologies of VAP and the resistance profile of isolated germs, A retrospective study was carried out over 03 years ranging from 01/01/2018 to 31/12/2020 at the level of the microbiology unit of the CHU Blida which involved 113 patients who were hospitalized in the multipurpose resuscitation unit undergoing mechanical ventilation on probe endotracheal or tracheotomy cannula and received 184 PDPs as part of the diagnosis of VAP.

Our study population is predominantly male with an H/F sex ratio of **2.89** (84/29). The average age of patients is 48 years with age extremes ranging from 16 months to 87 years. The age range over 60 is predominant.

VAP is confirmed bacteriologically in **75.56%** (82/113) of cases.

Of the 184 PDPs analyzed: **64.67%** (119/184) returned positive, **30.98%** (57/184) negative, and **4.35%** (8/184) contaminated.

There is a clear predominance of mono-microbial cultures **54.6%** (65/119), **37%** (44/119) of bi-microbial cultures.

183 bacteria have been isolated, gram-negative bacilli predominant with *Acinetobacter baumannii* **39.51%** (44/183) followed by *Klebsiella pneumoniae* **18.58%** (34/183) and *Pseudomonas aeruginosa* **15.85%** (29/183), *Haemophilus influenzae* **8.74%** (16/183). Gram-positive cocci are dominated by *staphylococcus aureus* at **11.48%** (21/183).

There is multiresistance in *Acinetobacter baumannii* strains. Resistance to ceftazidim is **90.48%** (38/42), imipenem is **97.06%** (33/34). Resistance to fluoroquinolones (levofloxacin and ciprofloxacin) is **92.68%** (38/41) and **94.12%** (32/34) respectively.

The diagnosis of VAP requires microbiological confirmation for the prescription of adequate treatment. Preventive measures are always required to reduce the frequency of these infections.

Keywords: Pneumopathies, mechanical ventilation, resuscitation, multi-resistant bacteria.. *Acinetobacter baumannii*.

